

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Salmonella* E  
*Mycoplasma* EM AVES DE CRIATÓRIOS DE  
“FUNDO DE QUINTAL” PRÓXIMOS A EXPLORAÇÕES  
TECNIFICADAS DO ESTADO DE SÃO PAULO**

**Fernando Gomes Buchala**  
Médico Veterinário

Jaboticabal – São Paulo – Brasil  
2003

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Salmonella* E  
*Mycoplasma* EM AVES DE CRIATÓRIOS DE  
“FUNDO DE QUINTAL” PRÓXIMOS A EXPLORAÇÕES  
TECNIFICADAS DO ESTADO DE SÃO PAULO**

**Fernando Gomes Buchala**

**Orientador: Prof. Dr. Luis Antonio Mathias**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Medicina Veterinária Preventiva, para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal – SP  
Junho de 2003

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**FERNANDO GOMES BUCHALA** – Nascido em 28 de fevereiro de 1965, natural de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, é formado em Medicina Veterinária no ano de 1989, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Inscrito no Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo sob o nº 6148. Proprietário e Médico Veterinário de clínica veterinária entre os anos de 1990 e 1993 em São José do Rio Preto – SP. Ingressou por concurso público na Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo em fevereiro de 1993, respondendo pela área de Defesa Sanitária Animal nos municípios de São José do Rio Preto, Onda Verde, Nova Granada, Palestina e Icém. Em 1999 foi nomeado assistente regional de Defesa Sanitária Animal do Escritório de Defesa Agropecuária de São José do Rio Preto, permanecendo no cargo até maio de 2000, quando foi nomeado Assistente Estadual de Defesa Sanitária Animal e Gerente do Programa Estadual de Sanidade Avícola, do Centro de Defesa Sanitária Animal, da Coordenadoria de Defesa Agropecuária, com sede em Campinas. É presidente da Comissão Técnica de Avicultura e membro da Câmara Setorial de Aves e Ovos da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, membro do Comitê Estadual de Sanidade Avícola, responsável pelas disciplinas de Manejo e Patologia Avícola I e II do Centro Universitário de Rio Preto – Unirp e professor colaborador da disciplina de Defesa Sanitária Animal da FCAV- Unesp – Jaboticabal.

## EPÍGRAFE

O ser humano é capaz de superar as dificuldades, criando condições para se adaptar, se desenvolver e obter o melhor aproveitamento daquilo que lhe é oferecido.

autoria desconhecida

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pelos esforços e abdições para me trilhar pelo caminho do conhecimento.

A minha esposa e companheira, por compartilhar os momentos de dificuldades e realizações, e reconhecer que o ser humano só evolui com o saber.

Aos meus filhos, para que valorizem os ensinamentos e visualizem que o conhecimento é a principal herança deixada entre as gerações.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis Antônio Mathias, pela transferência de cultura e informações, revisando, acompanhando e apoiando todos os momentos de minha pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Ângelo Berchieri Júnior, por proporcionar a realização deste objetivo.

À Profa. Dra. Masaio Mizuno Ishizuka, por me reconhecer como sendo o seu pupilo e me guiar por caminhos desconhecidos.

Ao Prof. Dr. Raul da Silva Gírio, pela amizade e disponibilidade, agindo como um verdadeiro agente facilitador.

Aos Senhores Devanir de Freitas, José Roberto Caseri, Luiz Tadeu Ribeiro, Rubens Correia da Silva e Takashi Mario Okada, que, de parceiros, tornaram-se amigos e companheiros.

Ao pesquisador científico do Instituto Biológico do Estado de São Paulo, Antônio Guilherme Machado de Castro, por idealizar e proporcionar a base laboratorial para a execução deste trabalho.

Aos meus grandes colegas e amigos de todas as horas, Luis Klinger Pereira dos Santos, Luiz Antônio de Abreu e Souza e Ramiro José Sales.

Ao incansável colega de trabalho Egon Vieira, por assumir os compromissos nos momentos de minha ausência.

Aos diretores da Coordenadoria de Defesa Agropecuária, pelo entendimento da necessidade de capacitação contínua da equipe técnica, proporcionando o meu afastamento parcial das atividades de trabalho.

Aos funcionários do Escritório de Defesa Agropecuária de São José do Rio Preto, pelo empenho na execução das tarefas de campo.

Aos colegas da Unirp Prof. Dr. Alan Peres Ferraz de Melo, Profa. Alessandra Cristina Francischini de Carvalho, Profa. Flávia Bechelli Tonin, Profa. Dra. Débora Ap. P. de Campos Zuccari, Prof. Halim Atique Netto e Prof. João Morelli Junior, pelo incentivo, apoio e compartilhamento destes momentos.

Aos alunos do curso de Medicina Veterinária da Unirp e hoje colegas Veterinários, Antonio Reis Guimarães Junior, Dênis Rui Costa Junior, Gustavo Silva de Rezende, Irineu Gonçalves Filho, Maurício Leandro Rodrigues e Sergio Brandolezi Scarpelli, pelos trabalhos de captura das aves e colheita dos materiais.

Ao colega e amigo Mário F. Pérez de Lima pela colaboração.

## SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT.....	x
I – INTRODUÇÃO .....	1
II – REVISÃO DA LITERATURA .....	3
1 - Geral.....	3
2 - Salmoneloses .....	7
2.1 - <i>Salmonella Pullorum</i> .....	9
2.2 - <i>Salmonella Gallinarum</i> .....	14
2.3 - Salmonelas paratíficas ( <i>S. Typhimurium</i> e <i>S. Enteritidis</i> ) .....	16
3 - Micoplasmoses.....	21
3.1 - <i>Mycoplasma gallisepticum</i> .....	21
3.2 - <i>Mycoplasma synoviae</i> .....	27
III – MATERIAL E MÉTODOS .....	35
1 - Granjas matrizeiras.....	35
2 - Criações de subsistência (aves caipiras).....	35
3 - Tamanho da amostra (número de aves caipiras selecionadas).....	35
4 - Amostras de sangue.....	36
5 - Métodos de diagnóstico.....	37
5.1 - Para detecção de anticorpos contra <i>Salmonella</i> sp (teste de pulrose).....	37
5.2 - Para detecção de anticorpos contra <i>M. gallisepticum</i> e <i>M. synoviae</i> .....	37
5.3 - Interpretação dos resultados das provas sorológicas utilizadas .....	38
6 - Método Estatístico .....	38
IV – RESULTADOS.....	39
1 - Frequência de criatórios de aves de “fundo de quintal” sororreagentes a um antígeno testado .....	39
2 - Frequência de criatórios que possuem “aves de fundo de quintal” sororreagentes a mais de um antígeno testado .....	40
3 - Frequência de aves sororreagentes.....	40
3.1 - Frequência de aves sororreagentes ao antígeno de <i>S. Pullorum</i> .....	40
3.2 - Frequência de aves sororreagentes ao antígeno de <i>M. gallisepticum</i> .....	42
3.3 - Frequência de aves sororreagentes ao antígeno de <i>M. synoviae</i> .....	43
V – DISCUSSÃO .....	44
VI – CONCLUSÕES.....	47
VII – REFERÊNCIAS.....	49

**LISTA DE TABELAS:**

- Tabela 1 – Matrizeiro e respectivas criações vizinhas, segundo o tamanho da população de aves e o tamanho da amostra de aves de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000.....36
- Tabela 2 – Resultados positivos de sorologia para *S. Pullorum*, segundo o matrizeiro e respectivas criações de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000. ....41
- Tabela 3 – Resultados positivos de sorologia para *M. gallisepticum*, segundo o matrizeiro e as respectivas criações de aves de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000. ....42
- Tabela 4 – Resultados positivos de sorologia para *M. synoviae*, segundo o matrizeiro e as respectivas criações de aves de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000. ....43

## OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Salmonella* E *Mycoplasma* EM AVES DE CRIATÓRIOS DE “FUNDO DE QUINTAL” PRÓXIMOS A EXPLORAÇÕES TECNIFICADAS DO ESTADO DE SÃO PAULO

**RESUMO** - Esta pesquisa objetivou demonstrar a ocorrência de reações sorológicas para *Salmonella* sp, *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* nas populações de aves de explorações não tecnificadas e com finalidade de subsistência, em propriedades rurais localizadas em áreas geográficas próximas a granjas de reprodutoras (matrizeiros) do Estado de São Paulo. Foram selecionadas três granjas de matrizes, oficialmente reconhecidas como sendo livres de *S. Pullorum* (SP), *S. Gallinarum* (SG), *S. Enteritidis* (SE), *S. Typhimurium* (ST), *M. gallisepticum* (MG) e *M. synoviae* (MS), e quinze criações vizinhas, onde a população de aves existente foi amostrada, com colheita e processamento de 406 soros sanguíneos. O diagnóstico foi realizado pela técnica de soroaglutinação rápida em placa. As frequências encontradas foram 73%, 73% e 100% de propriedades com aves sororreagentes aos antígenos testados de SP (teste da pulorose), MG e MS, respectivamente. As ocorrências observadas de aves sororreagentes foram de 16,5%, 30,3% e 40,6% para os antígenos de SP, MG e MS, respectivamente. Os dados obtidos indicam que os agentes estudados estão amplamente difundidos nas criações informais de aves de “fundo de quintal”, colocando em risco constante os criatórios de exploração industrial, os quais necessitam adotar e manter boas práticas de biossegurança para preservar a integridade sanitária dos plantéis.

**Palavras-chave:** biossegurança, doenças, epidemiologia, infecções, saúde, sororreagentes

**OCCURRENCE OF ANTIBODIES TO *Salmonella* AND *Mycoplasma* IN DOMESTIC BACKYARD POULTRY AROUND COMERCIAL POULTRY FLOCKS IN THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL**

**ABSTRACT** - This investigation aimed to demonstrate the occurrence of serological reactions to *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in backyard domestic poultry for own consume located next to parent flocks in the State of São Paulo. Three parent flocks officially recognised as free from *S. Pullorum* (SP), *S. Gallinarum* (SG), *S. Enteritidis* (SE), *S. Typhimurium* (ST), *M. gallisepticum* (MG) and *M. synoviae* (MS) and 15 neighbour backyard flocks were selected. A sample of 406 chickens from the backyard flocks was bled, and the diagnostic was carried out by the plate agglutination test. The frequencies found were 73%, 73% and 100% of flocks with chickens reacting to the antigens of SP, MG and MS, respectively. The frequencies of reacting chickens were 16.5%, 30.3% and 40.6% for the antigens of SP, MG and MS, respectively. The results show that the aetiological agents studied are widespread among the backyard flocks, posing a constant risk for the commercial poultry flocks, that need to adopt and keep good biosecurity practices to preserve their sanitary status.

**Key-words:** biosecurity, diseases, epidemiology, infections, health, serological reactors

## I – INTRODUÇÃO

A conquista e o reconhecimento de *status* sanitário de estabelecimento livre de doenças contempladas pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1994) envolvem elevados investimentos em aspectos relativos aos recursos físicos, humanos e de monitoramento laboratorial representado por uma sistemática colheita, análise e interpretação de resultados de provas diagnósticas. A manutenção dessa condição deve ser conduzida por ações de profilaxia que visam impedir a entrada de agentes etiológicos de doenças e, no caso de ocorrência, que essas medidas sejam capazes de detectar precocemente, para que medidas de combate sejam tomadas imediatamente. Essas medidas, aplicadas de forma planejada, organizada e devidamente supervisionada, permitem manter a situação sanitária arduamente conquistada por cada estabelecimento avícola para que possa contribuir para o desenvolvimento da economia nacional.

As principais infecções que comprometem a avicultura comercial são as salmoneloses (*Salmonella Pullorum*, *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*) e as micoplasmoses (*Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*), razão pela qual são contempladas pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola, e a respectiva legislação estabelece que empresas avícolas, matrizeiras e avozeiras (multiplicadoras genéticas) devem estar obrigatoriamente livres dessas enfermidades. Ressalte-se que esses agentes perpetuam-se na natureza infectando grande variedade de aves, domésticas e de vida livre, notadamente na ausência de manifestação clínica, e disseminam-se, na população de aves, por mecanismo de transmissão horizontal e vertical (BERCHIERI JÚNIOR, 1997), e a respectiva profilaxia é diretamente dependente de medidas de biossegurança (NASCIMENTO, E.R., 1995). A adoção dessas medidas em granjas são importantes em face da omissão da legislação no que diz respeito ao controle sanitário em aves comerciais (frango de corte e galinha de postura) e em aves domésticas de vida livre. Assim, a estratégia governamental e empresarial adotada para reduzir a ocorrência dessas infecções nos produtos comerciais é a manutenção dos plantéis reprodutores livres desses patógenos (NASCIMENTO *et al.*, 1997), responsáveis por elevado impacto econômico e danos à

saúde dos consumidores (PANNETA, 1999) quando estiverem envolvidas principalmente a *Salmonella* Enteritidis e a *Salmonella* Typhimurium.

O objetivo desta pesquisa é demonstrar a ocorrência de respostas sorológicas aos antígenos de *Salmonella* Pullorum, *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* em populações de aves domésticas de “fundo de quintal”, de propriedades rurais vizinhas de granjas de multiplicação genética, e o risco de introdução em plantéis de reprodução, de agentes de doenças transmissíveis que se encontram distribuídos na natureza.

## II – REVISÃO DA LITERATURA

### 1 - Geral

Salmoneloses e micoplasmoses de aves constituem um conjunto de enfermidades contempladas pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola e são objeto de controle em plantéis de aves comerciais e de material de multiplicação genética (reprodutoras) com vistas a aumentar a produtividade e conquistar mercados internacionais (BRASIL, 1994). Referem-se a um amplo grupo de doenças causadas por agentes pertencentes aos gêneros *Salmonella* e *Mycoplasma*, que, por seu turno, possuem inúmeras espécies patogênicas para aves.

As salmoneloses são distinguidas em pulorose (*S. Pullorum*), tifo aviário (*S. Gallinarum*) e paratifo aviário (*S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*, principalmente), e as micoplasmoses importantes para a avicultura brasileira são causadas por *M. synoviae* e *M. gallisepticum*.

A avicultura no Estado de São Paulo detém o segundo lugar na escala de importância do agronegócio, com geração de cerca de 400.000 empregos diretos; ocupa o quarto lugar na criação de frangos de corte, produzindo ao redor de 1,1 milhão de toneladas de carne de frango e representando 12,4% do abate de frangos do Brasil; e é líder na produção de ovos comerciais do país, com 7,3 bilhões de ovos/ano. No cenário das exportações, em 2001, o Estado de São Paulo participou com 2% do volume exportado. O parque industrial paulista é constituído por uma granja comercial de melhoramento genético de corte, duas granjas de bisavós de corte (material genético de 90% dos frangos de corte do Brasil), nove granjas de avós de corte, três granjas de avós de postura, 11 granjas de matrizes de postura, 120 granjas de matrizes de corte, 2.962 granjas de frangos de corte e 511 granjas de poedeiras comerciais (SESTI, 2001). A proteção desse potencial produtor é um aspecto incontestável, não apenas no que diz respeito aos aspectos de produção, como também àqueles relacionados com a saúde; portanto, aves de criação informal e de fundo de quintal podem ser potenciais fontes de infecção para aves comerciais e poderão comprometer sobremaneira a produtividade.

As salmoneloses são importantes não apenas no que diz respeito ao comprometimento da produtividade dos plantéis avícolas de determinada área geográfica como também estão diretamente comprometidas com a saúde pública face aos agravos que ocasionam em seres humanos, por serem, algumas delas, como *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, agentes etiológicos de zoonoses, que são aquelas enfermidades naturalmente transmitidas entre o homem e os animais e que estão diretamente envolvidos em episódios de toxinfecções de origem alimentar (ACHA; SZYFRES, 1992). Foram estudados, entre 1973 e 1997, nos EUA, em escolas primárias, secundárias e em universidades, 604 surtos comprovadamente de origem alimentar, com confirmação etiológica em apenas 40% dos casos; a *Salmonella spp* foi a mais freqüente, e entre os alimentos mais envolvidos estavam carne de ave, saladas, carne bovina e produtos lácteos, nessa seqüência (DANIELS *et al.*, 2002). Na Rússia, antes de 1980, o sorotipo mais freqüente era *S. Typhimurium*, e entre 1980 e 1993 passou a ser *S. Enteritidis*, revelando mudanças importantes no cenário das doenças veiculadas por alimentos (HASENSEN *et al.*, 1995). No País de Gales foram estudados, entre 1986 e 1998, aspectos de segurança alimentar, identificação sistemática dos agentes etiológicos envolvidos e investigação epidemiológica dos 87 surtos ocorridos. Os resultados revelaram o envolvimento de alimentos adquiridos em pequenos estabelecimentos comerciais tais como padarias e bares, e em 50 surtos entre os estudados, a confirmação etiológica demonstrou predomínio de *S. Enteritidis*, e na sua maioria houve indicação de que o alimento consumido teve contato com casca de ovo (PALMER *et al.*, 2000). Em pesquisa conduzida em 104 dos 191 países membros da Organização Mundial Saúde, 76 (73%) informaram realizar investigação de surtos com realização de sorotipagem bacteriana, e os restantes informaram apenas os sorotipos mais freqüentes; globalmente, os sorotipos mais comuns foram *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Typhi*, com indicação de aumento gradativo na freqüência de ocorrência de *S. Enteritidis* (HERIKSTAD *et al.*, 2002). A epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos está se modificando, pois nos países desenvolvidos, a despeito de avançados recursos terapêuticos para o tratamento de diarréias humanas, a incidência de doenças veiculadas por alimentos e pela água está aumentando, e

existem indicações de que novos patógenos estão emergindo e conferindo importância em saúde pública, haja vista que nas últimas duas décadas surgiram microrganismos como *Campilobacter* e *Escherichia* entero-hemorrágica, e outros bem conhecidos, como *S. Enteritidis*, cuja incidência está aumentando, e simultaneamente está aumentando a resistência frente aos antibióticos.

Estratégias futuras para a prevenção de doenças transmitidas por alimentos deverão se fundamentar em avaliações científicas de toda a cadeia de produção - do campo à mesa – incluindo a descrição dos mais relevantes fatores de risco (SCHLUNDT, 2001).

Pelo exposto, pode-se inferir sobre a implicação da presença de certos agentes infecciosos em aves de vida livre, se introduzidos na avicultura industrial e seu impacto econômico (SILVA, 2001). De um lado tem-se o elevado grau de aprimoramento genético para a conquista de altos índices de desempenho zootécnico, que conduz a um considerável aumento da susceptibilidade a doenças, e de outro lado, a alta densidade dos sistemas confinados de criação, que representa fator de estresse e de favorecimento da disseminação de agentes infecciosos, de transmissão oro-fecal ou aerógena, que podem determinar elevadas taxas de morbidade e mortalidade, ou inviabilizar o produto para o consumo humano (BERCHIERI JÚNIOR, 1997). Esses conhecimentos conduziram a uma mudança no comportamento da própria indústria avícola na razão direta do despertar de uma percepção sobre a infecção por salmonela como um desafio para a indústria avícola (NASCIMENTO, V.P., 1995).

Tem também colaborado com o desenvolvimento da avicultura a crescente conscientização da população relativamente à saúde humana relacionada com a qualidade dos alimentos, e, para tanto, se faz imperioso aumentar os conhecimentos científicos sobre a microbiologia da salmonela e a epidemiologia da infecção nas aves, na tentativa de eliminar a salmonela das aves e da cadeia alimentar (HOCHACHKA; DHONDT, 2000).

O controle das doenças causadas por *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, principais patógenos de interesse para a indústria avícola, foi alcançado em muitos países pela introdução de medidas de profilaxia seguida de ações de vigilância epidemiológica

representadas por exames sorológicos e sacrifício compulsório de plantéis infectados (WRAY; DAVIES, 1994). Apesar desses esforços, o tifo aviário e a pulrose persistem entre os principais problemas econômicos em muitos países, significando que os esforços merecem continuidade associados ao aprimoramento dos meios e métodos para seu controle (ROSS; YOUNG, 1993).

Um recente desafio tem sido a necessidade de identificar, em plantéis do país, os sorotipos de importância em saúde pública, tais como *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*, cujo controle está bastante dificultado em decorrência da complexidade da cadeia epidemiológica relacionada ao hospedeiro, ao ambiente e ao agente etiológico (DÁVILA DE ICAZA *et al.*, 1996). Entre os fatores relacionados com o hospedeiro tem-se a resistência das aves de vida livre, em contraposição à susceptibilidade das aves de elite, diretamente relacionada com o sistema de exploração econômica e a multiplicidade de espécies de mamíferos e aves (reservatórios para aves de elite e para o homem) que albergam essas bactérias no trato gastrointestinal, na condição epidemiológica de portadores, e as eliminam pelas fezes, propiciando intensa contaminação dos diferentes componentes ambientais. A resistência do agente etiológico no ambiente, implica na necessidade de distanciamento dos plantéis daquelas espécies de reservatórios e de medidas de saneamento. Entre os fatores relacionados ao ambiente tem-se a proximidade das criações industriais com as aves de vida livre representando um perigo sempre iminente na introdução de agentes de doenças para o interior dos matrizeiros e avozeiros por contágio indireto (aerógeno e fômites), principalmente.

Países que têm conseguido êxito reduzindo a incidência da infecção, em aves e no homem, para taxas muito baixas, valem-se de medidas rigorosas de vigilância epidemiológica, ou seja, de biossegurança, para prevenir a introdução de agentes de doenças, realizar monitoria sistemática para diagnosticar precocemente a presença de patógenos e sacrificar os lotes infectados, para limitar a propagação da doença (GARCIA *et al.*, 1995).

## 2 - Salmoneloses

Salmoneloses aviárias são um conjunto de doenças infecciosas, agudas ou crônicas, causadas por um ou mais membros do gênero bacteriano *Salmonella*, pertencente à grande família *Enterobacteriaceae*, que acomete aves causando diferentes doenças como pulorose (*Salmonella enterica* Pullorum), tifo aviário (*Salmonella enterica* Gallinarum) e paratifo aviário (*Salmonella enterica* Typhimurium, *Salmonella enterica* Enteritidis, etc). Entre os mais de 2.500 sorotipos conhecidos, alguns são capazes de infectar e causar doença em aves, principalmente galinhas e perus (BERCHIERI JUNIOR, 2000).

Frente à possibilidade de identificação de plantéis e lotes de aves infectadas com salmonela, provas sorológicas têm sido desenvolvidas. O teste de soroaglutinação que utiliza antígeno corado e sangue total tem sido empregado com sucesso, por mais de meio século, na identificação de lotes de aves infectadas por *S. Pullorum* (SP) ou *S. Gallinarum* (SG). Face ao compartilhamento do antígeno somático do grupo D entre *S. Enteritidis* (SE), *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, é possível o emprego do teste de aglutinação para o diagnóstico das salmoneloses mencionadas. Mais recentemente foi preconizada a prova de ELISA para SE (WRAY; DAVIES, 1994). Alguns aspectos devem ser considerados quando se preconiza o emprego de sorologia para detecção de plantéis infectados por salmonelas, tais como: (i) a sorologia é empregada mais comumente para a identificação de lotes infectados do que aves infectadas; (ii) aves sororreagentes podem não estar infectadas por *Salmonella*, (iii) aves que estão eliminando a bactéria pelas fezes podem ser não reagentes à sorologia, (iv) resultado negativo de cultivo fecal não significa necessariamente ausência de infecção, (v) aves reagentes podem não estar eliminando o agente etiológico, (vi) aves negativas podem estar na fase inicial de infecção e, portanto, anticorpos podem não estar sendo detectadas naquele momento; (vii) pintinhos com menos de três semanas de idade, não sendo capazes de responder aos antígenos somáticos e lipopolissacarídicos, podem apresentar resultados negativos, a despeito de já estarem produzindo anticorpos contra antígenos flagelares, ou os anticorpos detectados podem ter sido adquiridos

passivamente pela gema; (viii) altos títulos de anticorpos da classe IgM, que persistem por 2-3 meses, são indicativos de infecção recentemente adquirida; (ix) se a imunização for um recurso profilático empregado, há que se diferenciar os anticorpos da infecção natural; (x) a interferência da antibioticoterapia na resposta sorológica é um aspecto ainda por esclarecer, mas, em situações em que se empregam antibióticos para controlar a salmoneloses, a sorologia é mais recomendada que o cultivo de fezes; (xi) existem mais de 2.000 sorotipos de *Salmonella*, e muitos deles conferem reações cruzadas com *S. Typhimurium* (ST) e *S. Enteritidis* (SE); (xii) a gema do ovo pode ser utilizada para a detecção de imunoglobulinas contra salmonela em testes de triagem; (xiii) o emprego de discos de filtro de papel para a colheita de amostras de sangue pode ser um recurso para facilitar o transporte de amostras e dispensar centrifugação; e (xiv) existem inúmeras técnicas de ELISA disponíveis no mercado, e a dificuldade reside na impossibilidade de comparar os resultados (WRAY; DAVIES, 1994).

As características do teste que emprega sangue são: (i) é uma prova rápida e que pode ser aplicada no campo, é pouco dispendiosa, requer pouco equipamento e só exige separação do soro se for realizada em laboratório; (ii) a especificidade é baixa quando a prova é realizada com sangue total e requer habilidade para não registrar resultados falsos (WRAY; DAVIES, 1994).

As características do teste de soroaglutinação rápida (teste da pulrose) são: (i) sensibilidade alta em aves jovens, diminuindo entre aves velhas, que, além de terem baixos títulos de anticorpos, estes podem ter sido decorrentes de estímulo de outras salmonelas; (ii) amostras simples podem não ser muito úteis nesses casos e, portanto, recomendam-se amostras pareadas; (iii) antígenos são facilmente preparados, equipamentos sofisticados são dispensados e a prova pode ser adaptada em formato de microtitulação; e (iv) é desejável que se disponha de soro padrão para cada teste (WRAY; DAVIES, 1994).

A prova de ELISA para SE pode ser realizada em dois sistemas básicos que objetivam detectar IgG: ELISA indireto e ELISA de competição/sanduiche (WRAY; DAVIES, 1994).

## 2.1 - *Salmonella Pullorum*

A pulorose, que acomete preferencialmente aves jovens, de transmissão vertical e horizontal, foi responsável por elevados prejuízos econômicos, em decorrência da mortalidade e da refugagem de pintos. O diagnóstico indireto de aglutinação que pode ser realizado com sangue total tem permitido a identificação de aves portadoras. No Brasil, o controle, desde os primórdios do respectivo programa, baseado na aplicação da prova de aglutinação de todas as aves reprodutoras de um plantel, permitiu atingir a situação de controlada para pulorose, a despeito de alguns focos diagnosticados nas décadas de 80 e 90, indicando a persistência da bactéria, eventualmente em criações não submetidas a controle (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

Apresenta distribuição geográfica cosmopolita e encontra-se descrita nas principais áreas de produção de aves comerciais, e as informações estão diretamente relacionadas com as áreas que apresentam esforços de controle, com indicação de algumas regiões que alcançaram êxito erradicando essa doença (SNOEYENBOS, 1997).

Os hospedeiros naturais da pulorose são galinhas, perus, patos, galinhas-de-angola, faisões, codornas, pardais, canários, papagaios e urus (SHIVAPRASAD, 2000). A persistência da SP na natureza tem sido favorecida em face do elevado número de espécies de aves hospedeiras, o que dificulta sobretudo a erradicação, embora seja possível conseguir plantéis industriais livres da mesma (SNOEYENBOS, 1997).

A *S. Pullorum* é sensível ao calor e aos desinfetantes usuais. Aves são infectadas facilmente, e uma vez a ave infectada, a infecção é de longa duração, podendo permanecer por toda a vida da ave. A freqüência de casos de doença é elevada para pintinhos e perus, que adoecem com elevada freqüência, sendo a patogenicidade limitada em outras espécies de aves. (SNOEYENBOS, 1997).

A suscetibilidade das aves às salmonelas é mais acentuada em determinadas linhagens de pintinhos e menor em aves leves, como Leghorn, comparativamente às pesadas (HUTT; CRAWFORD, 1960); os mecanismos de seleção genética para explicar a susceptibilidade ou a resistência de linhagens como Rhode Island Reds, New

Hampshires e seus cruzamentos foram estudados (HUTT; CRAWFORD, 1960). Os sinais clínicos manifestam-se mais freqüentemente em aves entre duas e três semanas de idade, quando avaliada pela mortalidade (SEVERENS *et al.*, 1944).

A imunogenicidade pode ser avaliada pela maior ocorrência de aves reagentes entre fêmeas, o que poderia estar relacionado com seqüestro de infecção localizada em folículos ovarianos (HUTT; CRAWFORD, 1960; PEVZNER *et al.*, 1975; PEVZNER *et al.*, 1981); infecções experimentais conduzidas com pintinhos infectados por via oral, aos quatro dias de idade, revelaram aparecimento de aglutininas por volta de 16 a 36 dias depois, e aves infectadas na idade adulta desenvolveram anticorpos em três a dez dias os quais persistiram por longo tempo em presença de infecção, desconhecendo-se a interferência das aglutininas no curso da infecção (BUXTON, 1954). A detecção de aglutininas no sangue é ainda o melhor e mais utilizado recurso diagnóstico para identificação e sacrifício de aves.

A persistência, que é um recurso favorável para *Salmonella Pullorum*, foi estudada em 1990 durante uma epidemia de pulorose em uma integração envolvendo cinco estados norte-americanos e 150 granjas. O estudo revelou presença da infecção em 22 lotes de matrizeiros (linha de machos), tendo se propagado por transmissão vertical a partir de algumas matrizes adquiridas já infectadas (JOHNSON *et al.*, 1992).

A eficiência de medidas de profilaxia depende do conhecimento dos mecanismos de disseminação de doenças transmissíveis em populações, considerando animais infectados/doentes (fontes de infecção), não infectados/não doentes (susceptíveis) e os diferentes componentes do ambiente (vias de transmissão). Nesse processo, ocorre uma sucessão de eventos que implica na entrada de um microrganismo no corpo do hospedeiro, sua instalação com lesões e sinais e eliminação para o meio exterior, onde pode sobreviver mais ou menos tempo, na dependência de sua resistência em ausência de parasitismo. No caso da pulorose, há que se mencionar a relevância de aves que não são atingidas por programas de saúde, como as de criação informal e de fundo de quintal, que podem albergar microrganismos e disseminá-los para criações industriais e que não são atingidas pelas ações de biossegurança, e reconhecer que a *Salmonella Pullorum*, uma vez introduzida em um plantel de fêmeas, instala-se nos ovários, que

transmitem a infecção para a respectiva progênie via ovo, acarretando eclosão de pintinhos já infectados (WILLIAMS *et al.*, 1968); raramente a contaminação ocorre através da casca após a postura, por canibalismo, ingestão de ovo ou por ferimentos da pele, e comparativamente às salmonelas paratíficas, a *Salmonella Pullorum* é raramente detectada em rações ou alimentos (WATANABE *et al.*, 1960). Estudos em 62 criações (56 com galinhas e sete com perus) da Califórnia/EUA, de fundo de quintal, localizadas em um raio de uma milha (1,6 km) ao redor de 22 granjas comerciais de perus, detectaram, em 32, anticorpos contra SP, e a maioria das granjas comerciais indicou a necessidade de intensificar e onerar a criação com medidas de higiene pessoal, higiene operacional e outras medidas de biosseguridade representadas por limitação na entrada de visitantes e uso de botas de borracha imersas em solução de desinfetante, quando permitida a visita (MC BRIDE *et al.*, 1991). Na Inglaterra, investigação conduzida com aves de 15 pequenas criações de galinhas indicou a existência de anticorpos circulantes contra doença de Newcastle e teste de pulorose positivo, bem como ectoparasitos, como piolhos e carrapatos (CURTIS; BOACHIE, 1982).

As modalidades de fontes de infecção de importância epidemiológica são os portadores e os reservatórios, visto que doentes são rapidamente detectados, permitindo pronta atuação profilática. Entretanto, portadores eliminam agentes de doenças por longo tempo na ausência de sinais e, portanto, são identificados apenas por recursos laboratoriais ou pela análise criteriosa dos indicadores de saúde. Esses recursos para fins de pronta adoção de medidas de profilaxia visam reduzir o potencial do agente na população, limitando a disseminação e reduzindo os prejuízos econômicos, sendo passível de ser aplicado em plantéis comerciais monitorados (SNOEYENBOS, 1997). Reservatórios participam diretamente na introdução ou reintrodução de um agente de doença erradicado ou controlado em um plantel ou área geográfica e são geralmente representados por animais de vida livre, sinantrópicos, selvagens ou de criação informal, que oferecem perigo sempre iminente e devem ser objeto de criteriosas ações profiláticas; sua identificação poderia ser realizada com base em provas laboratoriais indiretas, como sorologia. Aves portadoras são importantes

fontes de infecção (BERCHIERI JÚNIOR, 2000) o que foi também comprovado na Eslováquia, com isolamento de 19 diferentes sorotipos de salmonelas em aves domésticas sem sintomas de doença, totalizando 2.724 amostras, o que resultou em 65% de isolados do grupo SP – SG (SIMKO, 1984).

Entre as modalidades de vias de transmissão, apresentam importância epidemiológica os objetos inanimados/fômites (contágio indireto), os alimentos e a transmissão transovariana, cujo conhecimento norteia as medidas de saneamento, sanitização e biossegurança (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

A susceptibilidade e a resistência natural ou adquirida (imunidade) podem atuar como fatores de propagação ou de limitação de agentes de doenças ou de maior ou menor frequência de ocorrência e de severidade da manifestação clínica, e seu conhecimento orienta a seleção de medidas de prevenção, que vão desde a seleção de animais a serem adquiridos até as medidas de imunoprofilaxia (THRUSFIELD, 1986). É preciso considerar a suscetibilidade das aves comerciais, incluindo o material genético e a resistência ou refratariedade das aves de criação de vida livre.

O diagnóstico definitivo da pulrose é o isolamento e a identificação da SP. Sinais apresentam valor limitado, por não serem patognômicos, lesões são apenas sugestivas, e a sorologia, embora não tenha valor diagnóstico definitivo, é o instrumento mais utilizado nos programas sanitários, valendo considerar que muitas aves, em determinado momento, podem não ter desenvolvido anticorpos detectáveis, e nem todas se infectam (SNOEYENBOS, 1997). A pulrose pode ser facilmente diagnosticada por provas como a de soroaglutinação macroscópica pelo emprego de antígeno corado ou pela microaglutinação (HUMBERT; SALVAT, 1997; SHIVAPRASAD, 2000). Realmente, o diagnóstico de salmonelose pode ser conduzido por isolamento bacteriano e/ou sorologia (Diretiva da UE 92/117/EC e modificada pela 97/22/EC).

A Instrução Normativa nº 03, de 09/01/02 (BRASIL, 2002), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil, em seu artigo 1º determina que núcleos e estabelecimentos avícolas de controle permanente devam estar livres de pulrose e tifo aviário. A IN nº 04 de 30/12/98 (BRASIL, 1998), que estabelece os

critérios para fins de registro de estabelecimentos avícolas com finalidade de reprodução e produção comercial, determina, em seu capítulo IV, as exigências a serem cumpridas visando a biossegurança do sistema de exploração avícola e que se referem a distâncias a serem mantidas entre os diferentes sistemas de criação comercial e abatedouro. Esse instrumento legal não faz referência a distâncias a serem mantidas entre sistemas de criação comercial e criações informais ou de fundo de quintal e que representam potencial de infecção muito maior que outras criações comerciais, que seguramente praticam medidas de biossegurança e medidas sanitárias referentes à aquisição de aves de procedência conhecida e reconhecida, monitorização periódica para comprovar ausência de pulrose no plantel e demais medidas profiláticas relativas aos diferentes elos da cadeia de transmissão, incluindo o homem, que pode carrear agentes de doenças em seu corpo ou em seu vestuário.

Convém salientar o objetivo da instituição e manutenção de medidas de biossegurança em um estabelecimento avícola, qual seja o de impedir e monitorar a entrada de patógenos, a fim de que eventual introdução possa ser rapidamente detectada para o pronto atendimento profilático. Neste sentido, a carência ou ausência de medidas de profilaxia relativamente a aves de criação informal poderá comprometer ou invalidar medidas rigorosas como o controle de origem de aves ou ovos para reposição do plantel (SIMON; ISHIZUKA, 2000). A erradicação da pulrose dos plantéis de reprodutores, pode ser conduzida pelo sacrifício de aves sorologicamente positivas. Antibióticos apresentam limitações na prevenção das salmoneloses, pois o estudo de 326 amostras de salmonelas aviárias revelou tendência a resistência crescente frente a cloranfenicol, estreptomicina, kanamicina, gentamicina, carbenicilina e furazolidona (GIUROV, 1980).

## 2.2 - *Salmonella Gallinarum*

Esse agente causa doença septicêmica em aves domésticas de evolução aguda ou crônica (POMEROY; NAGARAJA, 1997; BERCHIERI JÚNIOR, 2000; SHIVAPRASAD, 2000). É doença de ocorrência nos países considerados “em desenvolvimento”, nos quais ainda se criam aves livremente, e considerada doença sob controle nos países desenvolvidos, como EUA, que alcançaram essa posição graças a um programa nacional de prevenção de doenças avícolas destacando o controle de salmoneloses baseado na identificação por procedimentos laboratoriais indiretos e diretos e posterior sacrifício associado a rigorosas medidas de saneamento do ambiente. No Brasil, foi problema sanitário nas décadas de 1980 e 1990, e mais freqüentemente em aves de postura comercial (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

Apresenta distribuição cosmopolita, embora existam áreas de baixa incidência ou indenés nos EUA, no Canadá e na Europa. Na África, nas Américas Central e do Sul e no México há relatos de aumento da freqüência de ocorrência (BOUZOUBAA; NAGARAJA, 1984; LUCIO *et al.*, 1984; SILVA, 1984; FAO, 1987; BOUZOUBAA, 1988). Juntamente com SP, a SG representou a maior freqüência de isolamento a partir de aves domésticas da Eslováquia (SIMKO, 1984).

É economicamente importante, em decorrência não apenas da mortalidade de aves acometidas, como também pela alta morbidade, com evidências de produção de ovos inférteis por aves cronicamente infectadas (NOBREGA; BUENO, 1942). A morbidade e a letalidade entre as sororreagentes são, respectivamente, de 10-50% e mais de 90% (HALL *et al.*, 1949).

O agente etiológico, SG, é sorologicamente indistinguível da SP, porém são distintas quanto às características culturais e bioquímicas que distinguem biotipos (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). É resistente às condições do ambiente, semelhantemente às demais salmonelas do grupo tifóide e paratifóide, e, portanto, com capacidade de permanecer viável quando protegido em água e protegido da ação da luz solar (20 dias); a luz solar direta o destrói em 24 horas, e dessecado sobrevive por cerca de 90 horas. Em roupas contaminadas e mantidas em ambiente escuro, sobrevive por mais

de 228 dias e em fezes mantém-se viável por dez dias; a dessecação favorece a sobrevivência, quando comparada às condições de umidade (ORR; MOORE, 1953).

A capacidade de despertar uma resposta imune foi estudada e comprovada em diferentes circunstâncias de infecção natural e experimental com diferentes doses, vias de inoculação e idade das aves, que revelaram resposta consistente e de longa duração em todos os casos (BUXTON; ALLAN, 1963). SG desperta imunidade humoral e celular; a primeira é importante para fins de diagnóstico, e a segunda é importante para limitar a infecção no organismo da ave infectada. Hospedeiros naturais são as aves domésticas, e surtos tem sido relatados em galinha, peru, galinha-de-angola, pato, codorna e galo selvagem (KLEIN, 1889); palmípedes e pombos parecem ser resistentes.

Na cadeia de transmissão, as fontes de infecção são as aves doentes e portadoras, que se incumbem não apenas de disseminar, como também participam na persistência do agente na natureza (SNOEYENBOS, 1997). Aves que não galinhas, perus e pássaros parecem não representar importantes reservatórios (SILVA *et al.*, 1981). Salmonelas são eliminadas pelas fezes e transmitidas pelo contágio indireto por meio de cama, alimentos contaminados, fômites, equipamentos, vetores mecânicos (moscas), vestuário, material de transporte de ovos e pintos. Canibalismo ou ingestão de partes de aves mortas e pessoas que trabalham nas granjas podem ser meios de disseminação (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). Disseminação horizontal de ave a ave foi evidenciada, e a mortalidade foi da ordem de 60% (GOURDEUK JR *et al.*, 1949; RAO *et al.*, 1952).

Aspecto importante na patogenia é a septicemia, que nos casos graves leva as aves ao óbito; nos casos mais moderados instalam-se lesões focais de natureza necrótica na mucosa intestinal; cecos com redução de volume, espessamento de paredes e conteúdo líquido que progride para aspecto caseoso de coloração branca ou enegrecida; baço e fígado congestos, edemaciados, hemorrágicos e com pontos necróticos; rins aumentados de volume; pintinhos com gema não absorvida, coagulada ou necrótica (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

Para o diagnóstico sorológico, inúmeros testes têm sido estudados em condições de campo e em laboratório, como aglutinação, hemaglutinação, hemaglutinação-antiglobulina e hemaglutinação indireto, para a detecção de anticorpos contra SG com emprego de antígeno padronizado de SP, seja em lâmina e/ou em tubo, que detectam aves infectadas por SP e SG (BEAUDETTE, 1925; ALLAN; DUFFUS, 1971; BARROW *et al.*, 1987). Prova de soroaglutinação em placa ou em tubo e prova de ELISA não diferenciam pulorose e tifo aviário ou outra salmonela do grupo D. O diagnóstico definitivo deve ser conduzido por isolamento e posterior identificação da salmonela (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). No diagnóstico clínico do tifo aviário e da pulorose de galinhas e perus jovens, a manifestação clínica inclui anorexia, diarreia, desidratação, debilidade e alta mortalidade, enquanto em aves adultas a doença determina redução na produção e eclosão de ovos, anorexia e aumento da mortalidade. A identificação de aves sororreagentes pode ser conduzida pela prova de soroaglutinação macroscópica, face à facilidade de execução, e a erradicação pode ser conduzida pelo sacrifício de aves sorologicamente positivas, que passaram pela doença e tornaram-se resistentes, e que clinicamente podem ser confundidas com colibacilose, marek, pasteurelose e micoplasmoses (NASCIMENTO, 2000).

A prevenção pode ser também realizada pela vacinação. O tratamento medicamentoso pode ser realizado com o uso de antimicrobianos, porém sem resultados satisfatórios. Para fins de controle em plantéis infectados, as medidas são aquelas voltadas para as fontes de infecção e consistem na identificação e no sacrifício; para as vias de transmissão, baseiam-se na adoção de medidas de limpeza e desinfecção do ambiente, das instalações, dos fômites e dos equipamentos, como também em ações de educação sanitária voltadas para a higiene pessoal e operacional.

### **2.3 - Salmonelas paratíficas (*S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*)**

É um complexo de doenças descrito pioneiramente em 1895 como o primeiro caso autêntico de infecção paratífica em pombos (MOORE, 1895). É uma doença que merece a atenção nacional em face de sua importância em saúde pública com envolvimento de alimentos de origem animal como via de transmissão do agente da

doença ao homem (NAGARAJA *et al.*, 1997). Nos últimos anos tem ocorrido um aumento de casos humanos por *Salmonella* Enteritidis (SE) nos EUA, na Europa e no Canadá, e as observações epidemiológicas têm revelado uma relação direta com consumo de alimentos contendo ovo ou seu derivado (ST LOUIS *et al.*, 1988). Juntamente com a SE, tem sido incriminada por episódios de toxinfecções de origem alimentar em humanos a *S. Typhimurium* (ST), sendo os alimentos de origem animal, carne bovina, aves e ovos, os mais envolvidos (TODD, 1997). A importância econômica das salmoneloses paratíficas está relacionada com a indústria de incubatórios, pelos elevados prejuízos que determinam em decorrência da elevada mortalidade de pintinhos, embora possam acometer e matar aves jovens (JACKSON *et al.*, 1971).

A *Salmonella* Enteritidis tem sido uma das principais causas de pandemias em todo o mundo devido a sua capacidade ímpar de ganhar os ovos a partir de galinhas portadoras. A bactéria tem a habilidade de multiplicar-se fora do organismo da ave infectada, aumentando as possibilidades de infecção humana (GUARD-PETTER, 2001).

A história natural das doenças veiculadas por alimentos está se modificando, de sorte que as estratégias futuras para a sua prevenção deverão se fundamentar rigorosamente em avaliações científicas de toda a cadeia de produção - do campo à mesa – incluindo a descrição dos mais relevantes fatores de risco (SCHLUNDT, 2001).

Cepas de *Salmonella* spp. com resistência a drogas antimicrobianas estão atualmente distribuídas em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Naqueles desenvolvidos, aceita-se cada vez mais que a maioria das cepas é zoonótica na sua origem e adquire resistência no hospedeiro animal produtor de alimentos antes de alcançar o hospedeiro humano através da cadeia alimentar. Particularmente importante, desde 1990, tem sido o aparecimento de cepas de *S. Typhimurium* fagotipo DT 104 resistente a mais de seis antibióticos de uso freqüente, com mais de 15% de isolados revelando diminuição de sensibilidade a ciprofloxacina. Mutações no gen *gyrA* de tais isolados tem sido caracterizada por PCR, revelando mutação em pelo menos quatro diferentes mutantes. Resistência múltipla (a quatro ou mais antimicrobianos) tem sido comum em *Salmonella* Virchow e *Salmonella* Hadar associadas a aves, revelada pelo

aumento do número de cepas desses sorotipos que tem mostrado redução na sensibilidade à ciprofloxacina. Resistência múltipla tem sido descrita em outros sorotipos em muitos países europeus, e relacionada com falhas nos tratamentos. Para *Salmonella* Typhi, múltipla resistência à droga tem sido norma em se tratando de cepas originárias da Índia e do Sudeste asiático. Tais cepas resistentes têm sido responsáveis por inúmeras epidemias e algumas associadas a água de abastecimento público contaminada. Nos países desenvolvidos, a resistência de salmonelas zoonóticas tem sido atribuída ao uso indiscriminado de antimicrobianos em animais de produção. Espera-se que a aplicação do código de práticas para o emprego de tais agentes, que está sendo elaborado pelas indústrias farmacêuticas em resposta às exigências internacionais, resulte em uma redução acentuada na incidência de salmonelas resistentes que ocorrem na cadeia alimentar e que atingem a população humana pelo consumo de produtos de origem animal (THRELFALL, 2002).

Estudos realizados de 1993 a 2000 identificaram 37 diferentes sorotipos, sendo os mais freqüentes SE e ST (RODRIGUEZ FDE *et al.*, 2002). Investigações epidemiológicas têm demonstrado elevada freqüência de alimentos contaminados por salmonelas paratíficas com indicação de origem em infecções em animais (CRUMP *et al.*, 2002). No período entre 1999 e 2000 foi identificada uma relação positiva entre a presença dos sorotipos paratíficos isolados de pintinhos de incubatórios e casos humanos, incluindo-se recomendação de adoção de rigorosas medidas de limpeza e desinfecção associada ao vazio sanitário em incubatórios de aves comerciais (MARSH, 1976; WILKINS *et al.*, 2002). A patogenicidade e a virulência da SE foram demonstradas por diferentes taxas de morbidade e de mortalidade em pintos de um dia de corte, inoculados experimentalmente com diferentes doses de diferentes fagotipos. Todos os pintinhos do experimento manifestaram lesões e sinais clínicos (DHILLON *et al.*, 1999). As aves recém-nascidas são mais susceptíveis que as adultas, cuja resistência se dá à medida que a flora bacteriana intestinal se instala e está associada à maturação do sistema imune (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

A imunogenicidade da SE foi estudada em aves de postura experimentalmente infectadas, que desenvolveram anticorpos (IgG) contra lipopolissacarídeos detectados

por técnicas como ELISA e *imunoblotting* (CHART *et al.*, 1990). No soro sanguíneo são detectadas, por volta de uma semana decorrido da infecção, imunoglobulinas das classes IgM, IgA e IgG dirigidas para lipopolisacárides, flagelo e membrana externa; o pico de anticorpos é observado na 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> semanas, respectivamente para IgM, IgG e IgA. Nas infecções mais antigas está presente apenas IgG, que pode ser detectada por até nove meses da primoinfecção (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

As salmonelas têm a capacidade de sobreviver e multiplicar-se fora do organismo de seu hospedeiro, e essas características devem nortear as medidas de profilaxia. São bastante sensíveis ao calor e frente aos desinfetantes usuais, pois em cinco minutos são destruídas a temperatura de 60°C (HENNING, 1939). A resistência de ST em condições naturais é favorecida pelas condições de temperatura ambiente, conteúdo em matéria seca, pH e microflora dos dejetos; os ambientes mais secos são mais favoráveis para a sobrevivência de salmonelas (ROESICKE; GREUEL, 1992). Em Chiba/Japão, amostras do ambiente, de aves e de roedores de 15 granjas abertas e fechadas de galinhas foram examinadas para *Salmonella* sp. Os resultados revelaram isolamento de SE em 91% das amostras do ambiente, em 94% das galinhas examinadas e em 87% de ratos do telhado (*Rattus rattus*) capturados nas granjas abertas; conclui-se pela presença de salmonelas tanto em granjas abertas como nas fechadas, e foi também observada concordância entre os fagotipos (MATSUMOTO *et al.*, 2001).

A presença de salmonelas em todas as fases de crescimento de frangos de corte (EUA) foi constatada, bem como o movimento dos sorotipos nas diferentes fases em sistemas de integração, indicando que o mesmo sorotipo estava presente desde a fase de incubação até a de processamento de carcaças e apontando para a necessidade de introduzir medidas profiláticas também nos incubatórios, representadas por desinfecção (BAILEY *et al.*, 2002).

Na epidemiologia das salmoneloses paratíficas, as fontes de infecção mais importantes são as aves (doentes e portadoras) e os reservatórios (roedores), que eliminam as bactérias pelas fezes (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). Colheita de amostras de fezes, poeira, piso, equipamentos de coleta de empacotamento de ovos permitiu o

isolamento de SE, cuja freqüência de isolamento diferiu entre os lotes: vacinado e não vacinado. Esse procedimento é considerado recomendável para fins de monitoramento de granjas (DAVIES; BRESLIN, 2001).

O isolamento e a identificação bacteriana são fundamentais para o diagnóstico da doença, mas a detecção de anticorpos, pela sorologia, empregando antígeno de SE ou ST, é um valioso instrumento de identificação de aves que tiveram contacto com bactérias paratíficas. A interpretação da prova, associada ao conhecimento do tempo de permanência nos órgãos e de eliminação pelas fezes, torna seu uso importante na detecção de aves fontes de infecção (doente ou portadora). Ressalte-se que os antígenos específicos podem resultar em reações cruzadas com outros sorotipos.

A prevenção de salmoneloses paratíficas, à semelhança das demais, baseia-se em medidas que impeçam a transmissão vertical e horizontal. A transmissão vertical pode ser prevenida com medidas relativas à aquisição de ovos e pintinhos originários de plantéis livres de salmonelas. A transmissão horizontal é prevenida com cuidados relativos a proteção de ração; controle de roedores; higiene pessoal dos trabalhadores das granjas; limpeza e desinfecção das instalações incluindo objetos, veículos, material de acondicionamento de ovos e pintinhos, e equipamentos; destino adequado de excretas, lixos e resíduos; e controle de insetos, principalmente.

O programa sanitário da Dinamarca alcançou os resultados propostos e segue a Diretiva da UE (92/117/EEC) que estabelece que granjas de frangos de corte e de postura comercial devem ser livres de SE e de ST, para a conveniente proteção da saúde humana e valoriza as medidas relativas às vias de transmissão, que são o ovo e a carne de frango (FLENSBURG, 1999).

### 3 - Micoplasmoses

#### 3.1 - *Mycoplasma gallisepticum*

Esse agente causa uma doença infecciosa denominada de doença respiratória crônica (DCR), com manifestação de tosse e descargas nasais nas galinhas e sinusite em perus. A evolução da doença é geralmente lenta e de decurso longo. Infecções secundárias por *E. coli*, principalmente, determinam um quadro de aerossaculite em galinhas e aerossaculite-sinusite em perus (YODER JR, 1997).

Muitas doenças têm emergido nas últimas duas décadas e estavam relacionadas a um pequeno elenco de espécies animais hospedeiras. Estudos ecológicos têm revelado que *Mycoplasma gallisepticum* (MG) é capaz de infectar aves de vida livre, como o tentilhão; nos EUA, há relação direta entre o tamanho da população dessas aves e valores de prevalência em aves domésticas (HOCHACHKA; DHONDT, 2000).

A distribuição geográfica é cosmopolita e representa um das mais importantes desafios para a avicultura moderna. Apresenta alta endemicidade em áreas de criação de galinhas e perus.

É economicamente relevante porque a aerossaculite das galinhas e a aerossaculite-sinusite dos perus são causas de desqualificação ou condenação no abatedouro; nas criações, comprometem a conversão alimentar, reduzem a produção de ovos e aumentam o custo com medicamentos (YODER JR, 1997).

Os hospedeiros naturais são as galinhas e os perus, embora outras espécies de aves, como faisão, pato, perdiz, papagaio-do-Amazonas, perus selvagens e aves voadoras de vida livre também possam ser infectadas; até o momento não foi comprovada a importância dessas espécies como reservatórios (YODER JR, 1997).

Quando o MG é introduzido em um plantel, é rapidamente disseminado para quase todas as aves, com diferentes graus de severidade e duração. Nos meses frios a doença respiratória é mais freqüente e mais severa em aves jovens, e nas adultas a manifestação está mais relacionada com a queda da postura. Juntamente com *Mycoplasma sinoviae* (MS), o MG é um dos agentes mais disseminados em aves domésticas (YODER JR, 1997). Em todas as 15 pequenas criações estudadas na

Inglaterra foi detectada a presença de MG e MS quando avaliada por provas laboratoriais fundamentadas em isolamento bacteriano (CURTIS; BOACHIE, 1982). A letalidade total por MG e MS em estudos conduzidos na Califórnia/USA e em perus entre 1988 e 1989 foi da ordem de 9,0 %, tendo sido para machos e fêmeas iguais a, respectivamente, 10,9% e 6,6 % (CHRISTIANSEN *et al.*, 1996). Anticorpos contra MG foram observados em 58% das galinhas de criação informal (MUSHI *et al.*, 1999). Em galinhas de postura comercial de duas áreas (central e sul) da Califórnia/EUA e de manejos diferentes, as prevalências de sororreagentes foram iguais a 73% e 3% (MOHAMMED *et al.*, 1986). Em galinhas do prado americano, foram detectadas 2,7% de aves sororreagentes para MG, examinadas de março a abril de 2001 por prova de soroaglutinação em placa, apontando para o perigo potencial dessas aves como carreadoras de MG para aves comerciais (HAGEN *et al.*, 2002).

O MG pertence ao gênero *Mycoplasma* e à família *Mycoplasmataceae* (TAJIMA *et al.*, 1979). Possui dimensões diminutas, com um mínimo de informação genética e com ausência de parede celular, o que se reflete em um alto grau de interdependência entre esse microrganismo e seu hospedeiro. Infecções por MG podem ser precipitadas por doença de Newcastle, bronquite infecciosa e *E. coli*, e em perus a prevalência em um plantel é geralmente elevada, embora não se observe sinusite porque a manifestação mais freqüente envolve comprometimento do trato respiratório inferior. A disseminação em um plantel é lenta, e muitas vezes a doença é detectada no abatedouro, com observação de aerossaculite (YODER JR, 1997).

O MG é sensível à maioria dos desinfetantes utilizados na avicultura e é facilmente destruído por formalina, fenol,  $\beta$ -propiolactona e mertiolate. No ambiente, permanece viável por um a três dias quando contido em fezes a temperatura de 20° C, em vestuário (musselina) por três dias a 20°C ou um dia a 37°C, na gema do ovo por 18 semanas a 37°C ou seis semanas a 20°C; quando contidos em ovos embrionados, são destruídos quando a temperatura de incubação atinge 45,6°C durante o período de aquecimento que dura de 12 a 14 horas (CHANDIRAMANI *et al.*, 1966); no líquido alantóico de ovos em incubação permanece viável por quatro dias, seis dias à

temperatura ambiente e 32 a 36 dias em refrigerador (OLESIUK; VAN ROEKEL, 1952); é destruído após 12 a 14 horas de incubação a 45,6°C (YODER JR, 1970).

A infectividade é bastante elevada, pois após a introdução do MG em uma criação, praticamente todas as aves são infectadas na presença e as observações revelam diferentes proporções de aves doentes em função de fatores predisponentes (YODER JR, 1997). Existem isolados de galinhas e de perus que têm sido considerados variantes ou cepas, por serem menos patogênicos, transmissíveis e imunogênicos que as estirpes de campo (VAN ROEKEL *et al.*, 1957; BRADBURY; JORDAN, 1972; IMADA *et al.*, 1979).

As cepas têm sido identificadas pelas designações de isolamento, e assim, a cepa S6 de Zander (ADLER *et al.*, 1957; FABRICANT, 1958; ZANDER, 1961) foi a primeira cepa patogênica isolada a partir de cérebro de perus acometidos de sinusite. A A5969 isolada por Jungherr *et al.* (1955) é considerada a cepa padrão para a produção de vários antígenos. A cepa F patogênica foi isolada e descrita em 1956 por Yamamoto e Adler (1956) e foi usada por Luginbuhl *et al.* (1967) para preparo de vacinas destinadas a reprodutoras de corte de reposição para reduzir a transmissão pelo ovo, e isolados dessa cepa com patogenicidade moderada são empregados rotineiramente na produção de vacinas vivas (RODRIGUES; KLEVEN, 1980; CARPENTER *et al.*, 1981; GLISSON; KLEVEN, 1984). A cepa R foi isolada em 1963 por Yoder e utilizada para preparo de vacinas inativadas e também empregada em desafios na avaliação de eficácia de vacinas (RIMLER *et al.*, 1978; YODER JR, 1979; GLISSON; KLEVEN, 1984; YODER JR; HOPKINS, 1985).

A virulência é variável de acordo com as circunstâncias (YODER JR, 1997), bem como é variável a duração da doença. A mortalidade é baixa em aves adultas. Em experimentos, a manifestação da virulência está relacionada com a porta de entrada do MG, pois a inoculação intra-sinusal ou diretamente nos sacos aéreos redundam em graves sintomas e lesões, e a inoculação na cavidade tendovaginal das garras ou do coxim plantar nem sempre resulta em sinais, que, quando presentes, são de moderada intensidade na presença de anticorpos. A micoplasmose é uma doença multifatorial,

dependendo de fatores externos e doenças intercorrentes presentes (YODER JR, 1997).

A maior susceptibilidade é observada em perus, comparativamente a galinhas, quando avaliada por provas de inoculação experimental e avaliada pela maior gravidade do quadro de sinusite, aerossaculite e tendovaginite, e essa evidência é mais consistente com a cepa F (LIN; KLEVEN, 1982).

Aves doentes e portadores são as modalidades mais importantes de fontes de infecção. Foi demonstrada, desde 1994, epidemia de micoplasmose por MG em uma pequena ave (tentilhão – *Carpodacus mexicanus*), e a importância de aves voadoras de vida livre como importantes fontes de infecção para aves domésticas comerciais. Para avaliar o potencial infectante de tentilhão e passarinhos na transmissão do agente, uma investigação foi conduzida entre 1997 e 1999, examinando 1.058 aves de 17 criações e em 10 locais de alimentação de aves e passarinhos. As aves foram examinadas pela soroaglutinação em placa, e as com alto título de anticorpos foram submetidas à necropsia; materiais foram examinados por PCR, cultura, HI e histopatologia, e os resultados foram positivos em 19,1% dos 671 tentilhões capturados e 11,6% das 387 aves capturadas junto a alimentadores, 40% dos *Baeolophus bicolor* foram positivos para MG por PCR e cultura, revelando a existência de reservatórios de vida livre (LUTRELL *et al.*, 2001). Surtos de MG foram estudados em granjas comerciais de galinhas e perus, e a investigação permitiu inferir que a doença foi originária de criações informais existentes na vizinhança (LEY *et al.*, 1993). Anticorpos MG foram detectados em 32 de 56 criações de fundo de quintal distantes uma milha de granjas comerciais (MC BRIDE *et al.*, 1991). Estudo de galinhas de fundo de quintal destinadas à subsistência familiar revelou ocorrência de 33% de aves positivas para MG e MS, indicando risco iminente para criações comerciais próximas (KELLY *et al.*, 1994).

A eliminação do MG pelas fontes de infecção ocorre pelo ovo, com evidências da presença do agente no oviduto das galinhas e no sêmen de galos infectados (YODER JR; HOFSTAD, 1964), o que foi comprovado experimentalmente (FABRICANT; LEVINE, 1962; YODER JR; HOFSTAD, 1965; BENTON *et al.*, 1967; GLISSON; KLEVE, 1984; YODER JR; HOPKINS, 1985).

A via de transmissão mais importante é aquela efetuada pelo ovo, o que torna a doença um fator de limitação do comércio internacional (CULLEN; TIMMS, 1972; LEVISOHN *et al.*, 1985; KLEVEN *et al.*, 1988b), além de contágio direto de ave a ave, contágio indireto (aerógena e fômites), alimentos e água contendo fezes e penas contaminadas (YODER JR, 1997). Na transmissão aerógena estão envolvidas poeiras infecciosas e gotículas, fômites são representados por objetos e equipamentos que carregam o agente para outras aves ou plantéis, ocasionando surtos. A transmissão via ovo é o mecanismo mais importante na disseminação da doença em peruas e galinhas.

Experimentalmente o período de incubação varia de seis a 21 dias (YODER JR, 1997) em galinhas e de seis a dez dias em perus, e é difícil de ser estimado em condições naturais. A doença está diretamente relacionada com fatores externos, mas na maioria das aves domésticas susceptíveis a doença manifesta-se próximo da idade de postura, devido ao estresse e, relacionada com a condição de portador são (latência), freqüentemente observada em aves oriundas de progênes infectadas, representando uma nova modalidade de doença (aparecimento tardio), diagnosticada pelo aparecimento de anticorpos por volta da 26<sup>a</sup> a 38<sup>a</sup> semanas de vida, na ausência de sintomas.

Os sintomas da micoplasmose causada pelo MG manifestam-se com uma ampla variedade, e a forma mais dramática é a doença respiratória que ocorre em aves de corte, sendo esse agente um dos responsáveis por essa doença de etiologia multifatorial (LEVISOHN; KLEVEN, 2000). Nas galinhas e em casos de doença natural, há comprometimento traqueal com descarga nasal e tosse, redução do consumo de alimentos e perda de peso. Nas poedeiras há queda de postura a qual se mantém baixa. Ocorrem casos de evidências sorológicas na ausência de sintomas, principalmente entre aquelas que se infectaram na idade jovem e se tornaram portadoras convalescentes. Machos geralmente apresentam sinais mais evidentes e severos no inverno. Em frangos de corte, a doença começa a se manifestar entre a quarta e a oitava semanas de idade e, portanto, é mais característica na idade adulta, quando as epidemias são mais freqüentes, em decorrência de complicações (YODER JR, 1997). Os principais sintomas causados pelo MG nas galinhas são fluxo nasal e

sinusite e que caracterizam a denominada “cabeça inchada”, e o sintoma provocado pelo MS é a sinovite (BLAHA, 1995). Nos perus, observa-se descarga nasal acompanhada de secreção ocular espumosa que precede a sinusite, i.é., o edema dos sínus paranasais, causando ou não oclusão total ou parcial dos olhos; o apetite permanece normal enquanto a ave não apresenta comprometimento da visão. Com a evolução da doença, as aves emagrecem e apresentam traqueíte e aerossaculite, que causam tosse e respiração laboriosa. Nas linhagens de elite observa-se intensa queda na postura e conseqüente redução da produtividade (YODER JR, 1997).

A profilaxia baseia-se precisamente em medidas que visam manter plantéis livres de MG tomando as devidas precauções na reposição de aves e mantendo os plantéis em isolamento estrito, para evitar a introdução da infecção. Um recurso diagnóstico moderno é o procedimento molecular de PCR, que detecta seqüência ribossomal 16S de RNA e pode ser valioso meio, pela facilidade de execução (GARCIA *et al.*, 1995). A sorologia é um valioso instrumento de diagnóstico quando associada ao histórico e aos sintomas. No campo é utilizada a prova de soroaglutinação em lâmina (SAR) conduzida pela mistura de uma gota de sangue total com uma gota de antígeno comercial corado e leitura realizada em dois minutos. Material positivo pode ser confirmado por prova de inibição da hemaglutinação (HITCHNER *et al.*, 1980) ou ELISA. O ELISA tem se revelado mais sensível e mais específico do que a soroaglutinação rápida e a inibição da hemaglutinação, e em algumas circunstâncias, menos sensível, porém mais específico (TALKINGTON *et al.*, 1985). Os últimos anos têm sido marcados por avanços em métodos de diagnóstico da infecção por MG para dar suporte aos programas de saúde, que dependem de métodos sorológicos de triagem como soroaglutinação rápida em placa ou ELISA e que devem ser complementados, em caso de resultados positivos, por métodos de isolamento bacteriano ou de PCR (LEVISOHN; KLEVEN, 2000). A prova de soroaglutinação em placa revelou ser mais sensível quando comparativamente avaliada com as provas de ELISA e HI, mas mostrou-se menos eficaz em detectar infecções recentes (EWING *et al.*, 1996). Em alguns países asiáticos (Japão, China Popular, Indonésia, Coréia, Malásia, Filipinas, Tailândia e China Nacionalista), o estudo de ocorrência de micoplasmoses por MG e MS para apoiar

programas de controle tem se baseado em levantamentos sorológicos e aponta para a dificuldade de obter erradicação das doenças, a despeito do emprego de vacinas, antibioticoterapia e seleção de progênie (SATO, 1996). Também nos USA, programas de controle e/ou erradicação têm-se valido de provas sorológicas (soroaglutinação rápida ou ELISA) para identificação de plantéis positivos e para orientar na seleção de medidas de profilaxia.

A avicultura comercial tem utilizado intensivamente antibióticos no controle de micoplasmoses em aves, como fluoroquinolona e tilosina (TANNER *et al.*, 1993), e resistência tem sido detectada em MG frente a tartarato de tilosina e espiramicina, causando uma pressão seletiva quando avaliada pelo aumento da freqüência de casos de micoplasmoses em plantéis rotineiramente tratados com esses produtos (LEVISOHN, 1981).

O controle de MG só pode ser conduzido por meio de programas especialmente delineados (YODER JR, 1997). Em países onde existe um programa de controle voltado para MG, a estratégia consiste em manter plantéis de reprodutoras livres desse agente. Quando da impossibilidade dessa prática, a vacinação, principalmente com vacina viva modificada, tem sido um instrumento valioso (LEVISOHN; KLEVEN, 2000). Há indicação da importância precípua das condições de manejo sanitário e criação de aves em múltiplos sítios (MOHAMMED *et al.*, 1987).

A vacinação tem sido um recurso profilático recomendado em situações de impossibilidade de adotar medidas de biossegurança ou outro equivalente meio de manejo de aves (JORDAN, 1975; JORDAN, 1985; WHITHEAR, 1996; LEVISOHN; KLEVEN, 2000).

### **3.2 - *Mycoplasma synoviae***

A enfermidade causada por esse agente apresenta-se sob a forma subclínica que acomete preferencialmente sacos aéreos e usualmente associados a doença de Newcastle, bronquite infecciosa, ou ambas. Raramente apresenta-se sob forma sistêmica, que resulta em sinovite, doença de galinhas e perus que pode evoluir de um

quadro agudo para crônico, comprometendo inicialmente as membranas sinoviais das articulações e as bainhas de tendões, causando sinovite exsudativa, tendinite ou bursite.

A sinovite infecciosa foi inicialmente observada em aves em crescimento de quatro a 12 semanas de idade das regiões de alta densidade de aves de corte no período de 1950 a 1960, nos USA. Nas duas décadas que se sucederam, a forma de sinovite foi diminuindo, dando lugar à crescente incidência de doença respiratória, a qual é mais freqüentemente observada em criações de postura comercial de múltiplas idades (YODER JR, 1997).

Estudo epidemiológico realizado em criações de fundo de quintal de subsistência revelou mortalidade de galinhas em decorrência de doença respiratória, e estudo sorológico em 420 aves de 52 criações revelou 33% de animais com micoplasmoses por MS e MG (KELLY *et al.*, 1994).

Em galinhas de fundo de quintal e em aves ornamentais da Califórnia/USA tem sido revelada a presença de infecção por MS (MC BRIDE *et al.*, 1991). Foi observada prevalência de 10% de galinhas do prado de Kansas/EUA, de março-abril de 2000, caracterizando potenciais reservatórios para criações comerciais (HAGEN *et al.*, 2002); em 85 criações de fundo de quintal de Zimbabwe/África, MS e MG foram detectados em 33% das aves examinadas (KELLY *et al.*, 1994); em granjas de criação livre de Botswana, a ocorrência de sororreagentes para MS foi igual a 67,33% (MUSHI *et al.*, 1999); em pequenas criações informais, na Inglaterra, foi revelada a presença de vários agentes de doenças transmissíveis, incluindo MS (CURTIS; BOACHIE, 1982).

Em granjas comerciais de postura da Califórnia/EUA, a prevalência média foi igual a 62% (MOHAMMED *et al.*, 1986); ocorrência de MS em aves comerciais de todos os nove países asiáticos estudados e que condicionou a introdução de vacina contra MS e MG foi constatada por Sato (1996).

Em galinhas com sinais de sinovite, a morbidade varia de 2 a 75%, sendo mais freqüente de 5 a 15%, e mesmo com a totalidade de aves infectadas a morbidade com sinais respiratórios é baixa; a letalidade não ultrapassa 1% (YODER JR, 1997). Em perus, a morbidade oscila entre 1 e 20%, e a letalidade é alta e acompanhada de

canibalismo (YODER JR, 1997). Em granjas de perus da Califórnia/EUA, MS foi detectado, entre 1888-1989, com letalidade igual a 9% (CHRISTIANSEN *et al.*, 1996).

Galinha, peru, galinha-de-angola, pato, ganso, pombo e marreco japonês são os hospedeiros naturais (PASCUCCI *et al.*, 1976; REECE *et al.*, 1986; BENCINA *et al.*, 1987; BENCINA *et al.*, 1988a; BENCINA *et al.*, 1988b).

Estudos do agente etiológico por técnicas de hibridização DNA-DNA revelam pouca variação entre diferentes isolados, o que permite inferir acerca da existência de um único sorotipo (OLSON *et al.*, 1964b; DIERKS *et al.*, 1967; KLEVEN *et al.*, 1988a; YOGEV *et al.*, 1988; YOGEV *et al.*, 1989).

A infectividade pode ser avaliada pela facilidade com que o agente se dissemina em um plantel (YODER JR, 1997) e experimentalmente comprovada pela exposição de pintinhos sem infecção a outros com três estirpes de MS e infecção comprovada pela prova de PCR e isolamento obtido três dias após a inoculação experimental e sete a 14 dias nos contactos e presença de anticorpos pela soroaglutinação em placa foi observada três a quatro semanas decorridos do PCR positivo (EWING *et al.*, 1998).

A patogenicidade é elevada face à facilidade com que a manifestação clínica ocorre, porque são raros os casos de infecção apenas, mas varia de acordo com os isolados, pois alguns não são capazes de provocar doença, e passagens sucessivas em ovos embrionados, cultivos celulares e meios de cultura reduzem paulatinamente a patogenicidade, sendo a intensidade menor em ovo (YODER JR, 1997). Isolados a partir de determinado tecido reproduzem com mais precisão sinais no tecido homólogo, isto é, isolados de sacos aéreos causam aerossaculite, e de sinóvia causam mais freqüentemente sinovite (KLEVEN *et al.*, 1975). Condições predisponentes, como vacinação contra doença de Newcastle ou bronquite infecciosa ou infecção por Gumboro, são importantes e podem exacerbar o quadro (KLEVEN *et al.*, 1972; SPRINGER *et al.*, 1974; GIAMBRONE *et al.*, 1977). No inverno a doença é mais freqüente e mais grave (YODER JR *et al.*, 1977). São descritos resultados de observação de pintos de corte, de um dia de vida, inoculados com seis diferentes cepas de MS por via intraocular e inoculação no coxim plantar e examinados à necropsia. As estirpes foram agrupadas segundo a patogenicidade avaliada pelos diferentes graus de

lesões desenvolvidas e pela distribuição em tecidos do aparelho respiratório, outras vísceras e tecido esquelético. A estirpe K1968 (patogênica) induziu lesões em todos os sítios examinados, tanto em pintos inoculados por via intraocular como no coxim plantar. As estirpes WVU 1853, K 1858 e 92G8034 (moderadamente patogênicas) induziram lesões e foram detectadas em todos os sítios após inoculação no coxim plantar. A estirpe F10-2AS (moderadamente patogênica) apresentou comportamento semelhante, mas após inoculação no coxim plantar não houve lesão em vísceras e nem foi possível o isolamento a partir de nenhum tecido; após inoculação por via intraocular, foi detectada nos aparelhos respiratório superior e inferior. A estirpe FMT (moderadamente patogênica) induziu apenas lesões no aparelho respiratório superior, após inoculação por ambas as vias, e o isolamento foi obtido apenas a partir de lesões do aparelho respiratório superior após inoculação ocular (LOCKABY *et al.* 1999). Foi verificada a existência de estirpes de MS de diferentes patogenicidade para ovos embrionados de galinhas Leghorn brancas SPF na seguinte seqüência: WVU 1853, K1968, K1858, 02D8034 e F10-2AS (LOCKABY *et al.* 1999). Em perus, as estirpes de MS também evidenciaram diferentes graus de patogenicidade, na seqüência K4822D, K47774J e K4463B (KANG *et al.*, 2002).

Embora não determinada, admite-se que a resistência do MS seja semelhante à de outros micoplasmas. Ambientes que foram povoados por pintinhos infectados, esvaziados, lavados, desinfetados e mantidos desocupados por uma semana podem ser repovoados sem que ocorra manifestação de infecção (FURUTA *et al.*, 1985). É instável em pH inferior a 6,8, sensível a temperatura superior a 39°C e estável quando congelado (YODER JR, 1997).

Relativamente à imunogenicidade, verifica-se que pintinhos respondem bem ao estímulo imunogênico, mas perus respondem pobremente, principalmente em decorrência de uma infecção respiratória, e, portanto, a soroaglutinação nem sempre é um valioso recurso para identificar fontes de infecção (GHAZIKHANIAN *et al.*, 1973; RHOADES, 1975).

A susceptibilidade frente a infecções naturais em pintinhos é observada naqueles com uma semana de vida, embora a forma aguda seja mais comum entre quatro e 16 semanas de idade em galinhas e entre 10 e 24 em perus, e ocasionalmente em adultos. Infecção crônica sucede à aguda e persiste por toda a vida da ave (YODER JR, 1997). Aerossaculite é observada em perus de um dia de vida (GHAZIKHANIAN *et al.*, 1973; RHOADES, 1981).

Na cadeia de transmissão, as fontes de infecção são aves doentes, principalmente, seguidos de portadores e reservatórios (NASCIMENTO, 2000). A transmissão é por contágio indireto, por meio de aerossóis, o que é facilmente demonstrado em lotes onde são colocados alguns pintinhos jovens artificialmente infectados (OLSON *et al.*, 1964a). A disseminação, via de regra, é bastante rápida, atingindo todas as aves alojadas em um galpão, e raramente é observado comprometimento articular (WEINACK *et al.*, 1983). Transmissão vertical ocorre em infecções naturais e experimentais (CARNAGHAN, 1961).

Em condições de infecção natural e experimental em galinhas e perus MS, foram examinadas amostras de alimento, água de bebida, penas, fezes e poeira pela prova de PCR. Os resultados obtidos por infecção experimental foram iguais a 10/96 para galinhas e 46/96 para perus. Para condições de campo os resultados foram iguais a 7/28 para galinhas e 17/28 para perus. Esses dados revelam a alta capacidade de disseminação do agente no ambiente e a utilidade da prova de PCR (MAROIS *et al.*, 2000).

As manifestações clínicas em galinhas afetadas com sinovite iniciam-se com palidez da crista, dificuldade locomotora e retardo no crescimento; com o progredir da doença, observa-se crista caída, com eventual alteração de coloração, tendendo a cianótica, penas arrepiadas, inflamação das articulações e edema de peito; a articulação do esporão e o coxim plantar são as primeiras porções afetadas, e em algumas aves outras articulações podem estar comprometidas; nem todas as aves com afecção generalizada têm as articulações comprometidas; mesmo as severamente afetadas mantêm o apetite; as fezes ficam acinzentadas, pela grande quantidade de uratos ou ácido úrico. Desse quadro agudo, as aves se recuperam lentamente, mas a

sinovite persiste por toda a vida. Os sinais respiratórios não são graves (YODER JR, 1997). A aerossaculite é observada em qualquer idade e é causa de condenação de carcaças de frango de corte no matadouro (KING *et al.*, 1973). Frangos que adquiriram MS por via vertical parecem apresentar lesões de aerossaculite mais graves, e com maior freqüência ocorrem condenações. Em perus a manifestação clínica respiratória é muito semelhante à das galinhas, embora sinais de comprometimentos articulares sejam mais freqüentes em uma ou mais articulações, e somente nas severamente afetadas há comprometimento do consumo de ração e do ganho de peso (YODER JR, 1997).

O controle das micoplamoses (MS e MG) é a chave da avicultura industrial moderna. O monitoramento periódico assegura a manutenção da condição de granjas livres da infecção, evitando a transmissão para a progênie.

Para o diagnóstico sorológico existem antígenos comerciais disponíveis para o teste de soroaglutinação em placa, podendo-se obter reações cruzadas com *Mycoplasma gallisepticum*, mas os títulos são mais baixos, e a reação, tardia (OLSON *et al.*, 1965) a confirmação pode ser conseguida pelo teste de inibição da hemaglutinação (VARDAMAN; YODER JR, 1969).

Antígenos comercialmente disponíveis são específicos, requerendo cuidado especial no armazenamento. Aves vacinadas com vacina inativada podem reagir à prova de SAR. Freqüentemente são observadas reações cruzadas entre MS e MG. A maioria das reações cruzadas inespecíficas tende a desaparecer nas amostragens sucessivas. A soroaglutinação rápida é prova de triagem, e a confirmação pode ser realizada pela prova de ELISA. A prova de HI é indicada também para confirmação da infecção, face à alta especificidade, e algumas estirpes de MS e MG podem não provocar uma resposta imune suficiente para serem detectadas. Provas de DNA (PCR) já estão disponíveis para fins de diagnóstico laboratorial direto, haja vista a dificuldade de realizar isolamento bacteriano, e já estão validadas para diagnóstico de campo (LEVISOHN, 1999).

Sorologia por SAR, HI e ELISA tem sido empregada para monitoria de granjas submetidas a programas de controle de MS em granjas comerciais de multiplicadoras e incubatórios (EWING *et al.*, 1996).

Na prevenção, em se tratando de MS transmitido pelo ovo, o primeiro recurso profilático consiste em selecionar corretamente as aves de reposição, isto é, de plantéis livres da mesma, e associar as medidas de biossegurança, para a manutenção da condição sanitária pretendida. Profilaxia medicamentosa com antibióticos não apresenta eficácia na prevenção da infecção por MS, e diante de matrizes infectadas a medida recomendada é o sacrifício sumário e a reposição com material genético indene. Existem disponíveis vacinas inativadas em emulsão oleosa, mas sua eficácia não está comprovada no controle da infecção por MS (YODER JR, 1997).

As infecções de aves por micoplasmas permanecem sendo as causas mais comuns de perdas na produção avícola (NASCIMENTO, E.R., 1995). Das muitas espécies de micoplasmas, somente duas são patogênicas para galinha, MG e MS cujo *habitat* é o trato respiratório superior (JORDAN, 1981a) e causam aerossaculite, com possibilidade de colonizar o trato reprodutivo de fêmeas e de machos, comprometendo a fertilidade e a produção de ovos (JORDAN, 1975). Podem também afetar as membranas sinoviais, os revestimentos dos tendões e das articulações, interferindo no andar (JORDAN, 1981a). O micoplasma pode aumentar a susceptibilidade das aves a infecções virais e até interferir na imunização quando se empregam vacinas com agentes vivos (JORDAN, 1981b). A infecção por esses microorganismos favorece a entrada e instalação de infecções por bactérias, especialmente *Escherichia coli*, conduzindo à colibacilose (uma das maiores causas de mortalidade), à coriza infecciosa (*Haemophilus paragallinarum*) e a possíveis infecções por pasteurela (FIORENTIN; JAENISCH, 1994).

A persistência de micoplasma na natureza é bastante elevada, pois uma vez introduzida em um plantel, ali permanece por longo tempo se não indefinidamente.

A gravidade da doença depende da virulência da estirpe e de vários fatores intercorrentes, que afetam a susceptibilidade do lote.

A introdução de micoplasmas em plantéis comerciais é favorecida pela transmissão vertical, enquanto a horizontal propicia a disseminação (WHITHEAR, 1996).

A biossegurança é a alternativa preferida para impedir a introdução dos micoplasmas nos plantéis (NASCIMENTO, E.R., 1995). O tratamento de aves comerciais com antibióticos conduz a uma resistência bacteriana progressiva, e, de acordo com Levisohn (1981), a exigência do consumidor está restringindo o uso de antibióticos em alimentos destinados aos animais; regulamentações referentes a resíduos de antibióticos em alimentos humanos vêm sendo implementadas de forma universal. Assim sendo, o uso de antibióticos no controle de MG e MS em plantéis comerciais se torna cada vez menos viável. A vacinação com bacterinas oferece proteção limitada e não elimina o agente etiológico do organismo das aves vacinadas, que permanecem como portadoras. As vacinas com bactérias vivas oferecem melhor proteção, mas não eliminam também a infecção, o que inviabiliza o monitoramento do plantel de aves (WHITHEAR, 1996). Ambas as vacinas, mortas e atenuadas são proibidas em reprodutoras (BRASIL, 1994)

### **III – MATERIAL E MÉTODOS**

#### **1 - Granjas matrizeiras**

Foram selecionadas três granjas de matrizes (Filial 1, Filial 2 e Filial 3), localizadas no Estado de São Paulo, pertencentes a uma mesma empresa, integrantes do Programa Nacional de Sanidade Avícola, com *status* sanitário oficialmente reconhecido como sendo livres de salmoneloses e micoplasmoses, conforme demonstraram as colheitas de amostras seqüenciais durante os anos de 1998, 1999 e 2000.

#### **2 - Criações de subsistência (aves caipiras)**

Foram examinadas 15 criações vizinhas, sendo sete, cinco e três, respectivamente, localizadas ao redor dos matrizeiros: Filial 1, Filial 2 e Filial 3.

#### **3 - Tamanho da amostra (número de aves caipiras selecionadas)**

Para a determinação do tamanho da amostra, face à ausência de informações acerca da prevalência de pelo menos uma das infecções em estudo, foi realizado um experimento para essa finalidade. Assim, foram examinados 104 soros provenientes de aves caipiras de seis criações existentes nas vizinhanças de matrizeiros e foram observados 61%, 57% e 10% de aves positivas frente ao antígeno testado, para *S. Pullorum*, *M. gallisepticum* e *M. synoviae*, respectivamente. Optou-se por utilizar o valor da prevalência estimada da pulorose (menor valor), que permitiu calcular o tamanho da amostra para uma precisão da estimativa igual a 10%, erro de primeira espécie ( $\alpha$ ) igual a 5% e com a devida correção para população de tamanho conhecido (JENICEK; CLÉROUX, 1987). Na Tabela 1 estão apresentados os tamanhos das amostras obtidas de cada criação e a respectiva população no momento da amostragem em relação a cada matrizeiro.

**Tabela 1** – Matrizeiro e respectivas criações vizinhas, segundo o tamanho da população de aves e o tamanho da amostra de aves de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000.

Matrizeiro	Criação	Nº aves existentes	Nº aves na amostra
Filial 1 (360.000 aves)	1 A	38	28
	1 B	60	39
	1 C	47	33
	1 D	48	34
	1 E	34	26
	1 F	16	14
	1 G	41	30
	Subtotal	284	204
Filial 2 (7.000 aves)	2 A	15	13
	2 B	37	29
	2 C	24	20
	2 D	62	40
	2 E	30	24
	Subtotal	168	126
Filial 3 (13.000 aves)	3 A	30	24
	3 B	100	53
	3 C	25	20
	Subtotal	155	97
	Total	607	427

#### 4 - Amostras de sangue

Amostras de sangue foram colhidas através de punção na veia cutânea ulnar, com seringa estéril, acondicionadas em tubos de centrifuga também estéreis e centrifugadas. O soro foi separado e devidamente acondicionado em tubo de ensaio e enviado para a realização das provas. Esta colheita foi executada diante do Médico Veterinário oficial, em atendimento à Instrução Normativa nº 44, de 23/08/2001 (BRASIL, 2001) e da Instrução Normativa nº 03, de 09/01/02 (BRASIL, 2002) por tratarem-se de doenças do Programa Nacional de Sanidade Avícola.

## 5 - Métodos de diagnóstico

Para o processamento das amostras de soro sanguíneo foram utilizados o Laboratório de Patologia Aviária do Instituto Biológico do Estado de São Paulo, credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para a realização de diagnóstico oficial de salmonelas e micoplasmas, que processou a primeira etapa do trabalho, e o laboratório da empresa, o qual utilizou como referência a mesma metodologia adotada pelo laboratório credenciado, processando o restante do material colhido durante a execução do experimento.

### 5.1 - Para detecção de anticorpos contra *Salmonella* sp (teste de pulorose)

Prova de soroaglutinação em placa, segundo Brasil (1994):

- Uma gota de soro sanguíneo foi dispensada em uma placa;
- Uma gota de antígeno corado Nobilis<sup>®</sup> foi adicionada ao soro;
- Antígeno e soro foram misturados, com o auxílio de bastão de vidro com movimentos circulares, até a formação de um círculo de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, por dois minutos, a temperatura ambiente superior a 20°C.
- Diluições do soro em PBS foram preparadas a 1:5 e 1:10;
- Uma gota de soro sanguíneo 1:5 e a 1:10 foi adicionada a cada gota de antígeno;
- Antígeno e soro foram misturados, com o auxílio de bastão de vidro, com movimentos circulares, até a formação de um círculo de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, por dois minutos.

### 5.2 - Para detecção de anticorpos contra *M. gallisepticum* e *M. synoviae*

Prova de soroaglutinação em placa (SAR) segundo Brasil (1994):

- Uma gota de soro sanguíneo foi dispensada em uma placa;
- Uma gota de antígeno específico corado Nobilis<sup>®</sup> foi adicionada ao soro;

- Antígeno específico e soro foram misturados, com o auxílio de bastão de vidro, com movimentos circulares, até a formação de um círculo de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, por dois minutos, a temperatura ambiente superior a 20° C.
- Diluições do soro em PBS foram preparadas a 1:5 e 1:10;
- Uma gota de soro sanguíneo 1:5 e a 1:10 foi adicionada a cada gota de antígeno específico;
- Antígeno específico e soro foram misturados, com auxílio de bastão de vidro, com movimentos circulares, até a formação de um círculo de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, por dois minutos.

### **5.3 - Interpretação dos resultados das provas sorológicas utilizadas**

Para fins de classificação inequívoca dos soros das aves pela prova de soroaglutinação rápida, foram considerados positivos, segundo Brasil (1994), para *S. Pullorum*, *M. gallisepticum* e *M. synoviae*, aqueles que apresentaram título igual a 10, isto é, aglutinação na diluição 1:10 na soroaglutinação rápida.

Para fins de classificação de criatórios com aves de “fundo de quintal” sororreagentes ou não, considerou-se todo criatório que tivesse apresentado pelo menos uma ave da amostra positiva no exame sorológico ao antígeno correspondente.

## **6 - Método Estatístico**

Estimou-se a frequência de ocorrência (proporção) por intervalo de confiança, com 95% de probabilidade (LESER *et al.*, 1973).

Utilizou-se o teste da diferença entre duas proporções com aproximação normal (LESER *et al.*, 1973).

## IV – RESULTADOS

### 1 - Frequência de criatórios de aves de “fundo de quintal” sororreagentes a um antígeno testado

Entre os 15 criatórios estudados que possuem aves de “fundo de quintal”, 11 apresentaram pelo menos uma ave sororreagente para o antígeno de *S. Pullorum*, resultando em frequência igual a 73% dos criatórios com aves sororreagentes; a inferência por intervalo para 95% de confiança foi igual a LC (50,5% I----I 95,5%).

Dos 15 criatórios de aves de “fundo de quintal” estudados, 11 apresentaram pelo menos uma ave sororreagente para o antígeno de *M. gallisepticum*, resultando em frequência igual 73% dos criatórios com aves sororreagentes; a inferência por intervalo para 95% de confiança foi igual a LC (50,5% I----I 95,5%).

Todos os 15 criatórios de aves de “fundo de quintal” estudados apresentaram pelo menos uma ave sororreagente para o antígeno de *M. synoviae*, resultando em frequência igual a 100% dos criatórios com aves sororreagentes.

A frequência de criatórios com aves sororreagentes para o antígeno de *M. synoviae* foi estatisticamente superior à frequência de criatórios com aves sororreagentes para os antígenos de *M. gallisepticum* e *S. Pullorum*, quando avaliadas pelo teste estatístico da diferença entre duas proporções, com aproximação normal.

A frequência de criatórios que possuem aves de “fundo de quintal” sororreagentes ao antígeno de *M. gallisepticum* foi estatisticamente igual à frequência de criatórios com aves sororreagentes ao antígeno de *S. Pullorum*, quando avaliadas pelo teste estatístico da diferença entre duas proporções, com aproximação normal.

## **2 - Freqüência de criatórios que possuem “aves de fundo de quintal” sororreagentes a mais de um antígeno testado**

A freqüência de criatórios com aves de “fundo de quintal” sororreagentes a apenas um antígeno testado foi igual a 0%.

A freqüência de criatórios com aves de “fundo de quintal” sororreagentes a dois antígenos testados foi igual a 53,3% e a respectiva inferência por intervalo para 95% de confiança foi igual a LC (28,9% |----| 78,6%).

A freqüência de criatórios com aves de “fundo de quintal” sororreagentes a três antígenos testados foi igual a 46,7%, e a respectiva inferência por intervalo para 95% de confiança foi igual a LC (21,4% |----| 72,0).

As freqüências de propriedades com aves de “fundo de quintal” sororreagentes a dois ou três antígenos testados foram estatisticamente iguais quando avaliadas pelo teste estatístico da diferença entre duas proporções com aproximação normal.

## **3 - Freqüência de aves sororreagentes**

### **3.1 - Freqüência de aves sororreagentes ao antígeno de *S. Pullorum***

Das 406 aves examinadas, 67 foram positivas à sorologia para *S. Pullorum* (teste de pulorose), representando 16,5% de aves sororreagentes e um intervalo de confiança para a inferência com 95% de confiança igual a LC(12,9% |----| 20,1%). Os resultados observados, segundo a empresa de multiplicação genética (matrizeiro) e as propriedades com aves de “fundo de quintal” circunvizinhas, encontram-se reunidos na Tabela 2.

**Tabela 2** – Resultados positivos de sorologia para *S. Pullorum*, segundo o matrizeiro e as respectivas criações de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000.

<b>Matrizeiro</b>	<b>Criação “fundo de quintal”</b>	<b>Nº total Aves examinadas</b>	<b>Nº de aves positivas</b>	<b>% de aves positivas</b>
FILIAL 1	1 A	16	5	31,2
	1 B	39	6	15,4
	1 C	33	0	0,0
	1 D	34	10	29,4
	1 E	26	3	10,3
	1 F	14	4	28,6
	1 G	30	2	6,7
	Subtotal	204	30	14,7
FILIAL 2	2 A	13	0	0,0
	2 B	29	0	0,0
	2 C	20	4	20,0
	2 D	20	0	0,0
	2 E	24	5	20,8
	Subtotal	105	9	8,6
FILIAL 3	3 A	24	14	58,3
	3 B	53	8	15,1
	3 C	20	6	30,0
	Subtotal	97	28	28,0
Total		406	67	16,5

### 3.2 - Frequência de aves sororreagentes ao antígeno de *M. gallisepticum*

Entre as 406 aves examinadas, 123 foram positivas à sorologia para *M. gallisepticum*, representando 30,3% de aves sororreagentes e um intervalo de confiança para a inferência com 95% de confiança igual a LC (25,5% I---I 35,1%). Os resultados observados, segundo a empresa de multiplicação genética (matrizeiro) e as propriedades com aves de “fundo de quintal” circunvizinhas, encontram-se reunidos na Tabela 3.

**Tabela 3** – Resultados positivos de sorologia para *M. gallisepticum*, segundo o matrizeiro e as respectivas criações de aves de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000.

Matrizeiro	Criação “fundo de quintal”	Nº total Aves examinadas	Nº de aves positivas	% de aves positivas
FILIAL 1	1 A	28	0	0,0
	1 B	39	0	0,0
	1 C	33	7	21,2
	1 D	34	30	88,2
	1 E	26	11	42,3
	1 F	14	0	0,0
	1 G	30	0	0,0
	Subtotal	204	48	23,5
FILIAL 2	2 A	13	7	53,8
	2 B	29	10	34,5
	2 C	20	1	5,0
	2 D	20	7	35,0
	2 E	24	15	62,5
	Subtotal	105	40	38,1
FILIAL 3	3 A	24	1	4,2
	3 B	53	33	62,3
	3 C	20	1	5,0
	Subtotal	97	35	36,1
Total	406	123	30,3	

### 3.3 - Frequência de aves sororreagentes ao antígeno de *M. synoviae*

Entre as 406 aves examinadas, 165 foram positivas à sorologia para *M. synoviae*, representando 40,6% de aves sororreagentes, o que resultou em intervalo de confiança para a inferência com 95% de confiança igual a LC (35,9% |---| 45,3%).

Os resultados observados, segundo a empresa de multiplicação genética (matrizeiro) e as propriedades com aves de “fundo de quintal” circunvizinhas, encontram-se reunidos na Tabela 4.

**Tabela 4** – Resultados positivos de sorologia para *M. synoviae*, segundo o matrizeiro e as respectivas criações de aves de “fundo de quintal”. Estado de São Paulo, 2000.

Matrizeiro	Criação “fundo de quintal”	Nº total Aves examinadas	Nº de aves positivas	% de aves positivas
FILIAL 1	1 A	28	2	7,1
	1 B	39	22	56,4
	1 C	33	16	48,5
	1 D	34	8	23,5
	1 E	26	7	26,9
	1 F	14	1	7,1
	1 G	30	11	36,7
	Subtotal	204	67	32,8
FILIAL 2	2 A	12	8	66,7
	2 B	29	12	41,4
	2 C	20	11	55,0
	2 D	20	18	90,0
	2 E	24	17	85,0
	Subtotal	105	66	62,9
FILIAL 3	3 A	24	4	16,7
	3 B	53	25	47,2
	3 C	20	3	15,0
	Subtotal	97	32	33,0
Total		406	165	40,6

## V – DISCUSSÃO

O conhecimento da epidemiologia de doenças transmissíveis é de fundamental importância para fins de delineamento de programas de saúde, possibilitando a implementação de novas abordagens ao longo do processo de avaliação (SIMON; ISHIZUKA, 2000). Em qualquer estágio de evolução de um programa, as fontes de infecção, representadas por animais de vida livre e de criações informais, são preocupações permanentes para as empresas avícolas. Aves de vida livre e de criações informais são potenciais reservatórios de doenças e têm sido objeto de atenção sob a ótica epidemiológica (THRUSFIELD, 1986; BERCHIERI JÚNIOR, 1997), sendo necessária a realização de avaliações periódicas de toda a cadeia produtiva, com inclusão do estudo de fatores de risco, para o contínuo aprimoramento dos programas de saúde animal (SCHLUNDT, 2001). Outro elo importante da cadeia epidemiológica é a via de transmissão, sendo que a elevada resistência dos agentes dessas doenças às condições do ambiente possibilita, a qualquer fômite, carregá-los para o interior dos estabelecimentos de criação comercial, ultrapassando as barreiras da biossegurança instituídas (MATSUMOTO *et al.*, 2001).

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1994) tem como objetivo diminuir a ocorrência de doenças como as micoplasmoses (MG e MS), importantes pelos elevados prejuízos que podem acarretar à exploração avícola (YODER, Jr., 1997), e as salmoneloses, que são relevantes economicamente (SP e SG) e preocupantes para a saúde pública, em decorrência de surtos de doenças veiculadas por alimentos contaminados com SE e ST (ACHA; SZYFRES, 1992; NAGARAJA *et al.*, 1997; HOCHACHKA; DHONDT, 2000 e HERIKSTAD *et al.*, 2002).

A avaliação da presença de fontes de infecção pela detecção de anticorpos representa um rápido e prático instrumento de importância epidemiológica, por revelar contacto das aves com os respectivos agentes, demonstrando a presença ou a circulação de agentes etiológicos na população (WRAY; DAVIES, 1994). Os levantamentos sorológicos têm sido empregados para amparar programas de controle de micoplasmoses (SATO, 1996).

No estudo global de freqüências de ocorrência de criatórios com aves infectadas e considerando que *Salmonella* e *Mycoplasma* apresentam distribuição geográfica cosmopolita (BOUZOUBAA; LUCIO et al., 1984; NAGARAJA, 1984; SILVA, 1984; FAO, 1987; NOEYENBOS, 1997; YODER JR, 1997; BOUZOUBAA, 1988) a sua ocorrência no Estado de São Paulo não representaria exceção. Este estudo, conduzido em 15 criatórios de aves de “fundo de quintal” existentes em estreita proximidade com três granjas de reprodutoras certificadas como sendo livres de *Salmonella* e *Mycoplasma* pelo PNSA (BRASIL, 1994), revelou inexistir criatório com aves sororreagentes a apenas um dos agentes estudados. A freqüência de criatórios com aves sororreagentes a dois antígenos testados foi igual a 53,3%, valor esse que permite inferir que criatórios com aves sororreagentes a dois agentes podem variar entre os valores de intervalo [IC (28,9% --- 78,6%)], para uma confiança pré-estabelecida de 95%. A freqüência de criatórios com aves sororreagentes a três antígenos testados foi de 46,7%, valor esse que permite inferir que criatórios sororreagentes a três agentes podem variar entre os valores de intervalo [IC (21,4% --- 72,0%)], para a mesma confiança. O teste estatístico da diferença entre duas proporções revelou que criatórios com aves sororreagentes frente a dois ou três antígenos testados ocorrem com igual freqüência, e ambas com freqüência estatisticamente superior a criatórios com aves sororreagentes a apenas um antígeno testado, para o nível de rejeição estabelecido de 5%. Esta análise aponta para o fato das aves estarem infectadas com mais de um agente etiológico, fato esse que também foi demonstrado na Califórnia/EUA, onde foi encontrada a presença de anticorpos contra SP, MG e MS em 367 amostras de soros sanguíneos provenientes de 32 (61,5%) dos 56 criatórios de aves de “fundo de quintal” avaliados (MC BRIDE et al., 1991).

O estudo da ocorrência de criatórios com aves de “fundo de quintal” sororreagentes, discriminado por agente etiológico, revelou que a totalidade dos 15 criatórios apresentou pelo menos uma ave sororreagente ao antígeno de *M. synoviae*, permitindo inferir sobre a ampla disseminação desse agente em aves nesses criatórios, o qual foi o mais freqüente entre os agentes estudados. Anticorpos contra *M. gallisepticum* e contra *S. Pullorum* estavam igualmente presentes em 73,0% dos

criatórios, e a inferência com 95% de confiança para a população-alvo variou entre os valores de intervalo [IC (50,5% --- 95,5%)]. A literatura consultada é escassa em referir a frequência de criatórios “de fundo de quintal” com aves infectadas segundo a natureza do agente etiológico. Na Inglaterra foi observado que 100% dos criatórios estudados possuíam aves infectadas por MG e MS, infecção essa caracterizada por prova de isolamento bacteriano (CURTIS; BOACHIE, 1982).

O estudo da ocorrência de aves sororreagentes para cada agente estudado, entre as 406 aves pertencentes à amostra, revelou respectivamente para SP, MG e MS os valores e seus intervalos de confiança iguais a 16,5% [IC (12,9 %--- 20,1%) = 95%], 30,3% [IC (25,5% --- 35,1%) = 95%] e 40,4% [IC (35,9% --- 45,3) = 95%]. O teste estatístico da diferença entre duas proporções demonstrou que a frequência de aves sororreagentes foi maior para MS, seguindo-se MG e por fim SP. Resultados obtidos em Zimbabwe mostraram que MS e MG estavam igualmente presentes em 33% das aves de criatórios de fundo quintal (KELLY et al., 1994); na Geórgia/EUA, o MG estava presente em 19,1% e 40,0% em duas espécies de aves de vida livre (LUTRELL et al., 2001), aproximando-se dos valores obtidos neste experimento.

Estudos ecológicos com MG realizados nos EUA revelaram não somente a infectividade desse agente para aves de vida livre bem como a relação direta entre o tamanho da população dessas aves e os valores de prevalência da micoplasmose em aves domésticas (HOCHACHKA; DHONT, 2000), e na Carolina do Norte/EUA, surtos de MG em galinhas e perus de granjas comerciais foram originários de criações de “fundo de quintal” existentes na circunvizinhança (LEY et al., 1993). Essas observações, associadas às frequências de criatórios com aves sororeagentes encontradas no presente trabalho, indicam o risco de introdução, em aves de exploração comercial, de agentes de doenças transmissíveis que se encontram distribuídos na natureza, infectando grande variedade de aves domésticas, disseminando-se nas aves de “fundo de quintal” na ausência de manifestação clínica, e que, pela multiplicidade de fatores de transmissão horizontal, podem romper as barreiras da biossegurança e infectar os lotes de aves de multiplicação genética (NASCIMENTO, E. R., 1995; BERCHIERI JÚNIOR, 1997).

## VI – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

1. a freqüência de criatórios com aves sororreagentes a apenas um dos antígenos testados foi igual a 0%;
2. a freqüência de criatórios com aves sororreagentes a dois dos antígenos testados foi igual a 53,3%;
3. a freqüência de criatórios com aves sororreagentes a três dos antígenos testados foi igual a 46,7%;
4. a freqüência de criatórios com aves sororreagentes ao antígeno de *S. Pullorum* foi igual a 73%;
5. a freqüência de criatórios com aves sororreagentes ao antígeno de *M. gallisepticum* foi igual a 73%;
6. a freqüência de criatórios com aves sororreagentes ao antígeno de *M. synoviae* foi igual a 100,0%;
7. a freqüência de aves sororreagentes ao antígeno de *S. Pullorum* foi igual a 16,5%;
8. a freqüência de aves sororreagentes ao antígeno de *M. gallisepticum* foi igual a 30,3%;
9. a freqüência de aves sororreagentes ao antígeno de *M. synoviae* foi igual a 40,6%;
10. a elevada freqüência de criatórios com aves sororreagentes aos antígenos testados e a elevada prevalência de aves sororreagentes aos antígenos testados nos criatórios estudados indicam que agentes de doenças transmissíveis se encontram distribuídos na natureza, infectam e disseminam-se nas aves de “fundo de quintal” e, pela multiplicidade dos fatores de transmissão, podem romper as barreiras de biossegurança e infectar os lotes de aves de reprodução, sendo um risco constante para a avicultura comercial;

11. A atual legislação, omissa no controle sanitário em aves domésticas de “fundo de quintal”, deve ser revisada pelos órgãos competentes de Defesa Sanitária Animal e contemplar um programa de saúde animal mais amplo, capaz de garantir e assegurar a exploração avícola em escala industrial, preservando os plantéis de multiplicação genética como sendo livres dos patógenos responsáveis por enfermidades que representam elevado impacto econômico e possíveis danos à saúde dos consumidores.

## VII – REFERÊNCIAS

ACHA, P.N; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. Washington: OPAS, 1992. 989p.

ADLER, H.E.; YAMAMOTO, R.; BERG, J. Strain differences of pleuropneumonia-like organisms of avian origin. **Avian Diseases**, v.1, p.19-27, 1957.

ALLAN, D.; DUFFUS, W.P. The immunopathology in fowls (*Gallus domesticus*) of acute and subacute *Salmonella gallinarum* infection. **Research in Veterinary Science**, v.12, p.140-151, 1971.

BAILEY, J.S.; COX, N.A.; CRAVEN, S.E.; COSBY, D.E. Serotype tracking of *Salmonella* through integrated broiler chicken operations. **Food Protection**, v.65, n.5, p.742-745, 2002.

BARROW, P.A.; SIMPSON, J.M.; LOVELL, M.A.; BINNS, M.M. Contribution of *Salmonella gallinarum* large plasmid toward virulence in fowl typhoid. **Infection and Immunity**, v.55, p.388-392, 1987.

BEAUDETTE, F.R. The possible transmission of fowl typhoid through the egg. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 67, p.741-745, 1925.

BEAUDETTE, F.R. Fowl typhoid and bacillary white diarrhea. In: 11<sup>TH</sup> INTERNATIONAL VETERINARY CONGRESS, 1930. **Proceedings...** 1930, v.3, p.705-723.

BENCINA, D; TADINA, T.; DORRER, D. *Mycoplasma* species isolated from six avian species . **Avian Pathology**, v.16, p. 653-664, 1987.

BENCINA, D; TADINA, T.; DORRER, D. Natural infection of ducks with *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma* egg transmission. **Avian Pathology**, v.17, p.441-449, 1988a.

BENCINA, D; TADINA, T.; DORRER, D. Natural infection of geese with *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* and egg transmission of the mycoplasmas. **Avian Pathology**, v.17, p.925-928, 1988b.

BENTON, W.J.; COVER, M.S.; MELCHIOR, F.W. *Mycoplasma gallisepticum* in a commercial laryngotracheitis vaccine. **Avian Diseases**, v.11, p.426-429, 1967.

BERCHIERI JUNIOR, A. Doenças de transmissão vertical. In: VII SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 1997, Campinas. **Anais...** São Paulo: APA, 1997. p.133-142.

BERCHIERI JUNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: Facta, 2000. p.185-196.

BLAHA, T. **Epidemiologia especial veterinária**. Zaragoza: Acribia, 1995. 529p.

BOUZOUBAA, K. **Membrane proteins from *Salmonella gallinarum* for protection against fowl typhoid**. 1988. Phd Tesis – Institute of Agronomy and Veterinary Medicine, Hassan, Rabat, Morocco, 1988.

BOUZOUBAA, K; NAGARAJA, K.V. Epidemiological studies on the incidence of salmonellosis in chicken breeder/hatchery operations in Morocco. In: SNOYENBOS, G.H. **Proceedings of the International Symposium of Salmonella**. New Orleans: American Association Avian Pathologists, Kennett Square, PA, 1984. p.337.

BRADBURY, J.M.; JORDAN, F.T.W. Studies on the absorption of certain medium proteins to *Mycoplasma gallisepticum* and their influence on agglutination and haemagglutination reactions. **Cambridge Journal in the Hygiene.**, v.70, p.267-278, 1972.

BRADLEY, L.D.; SNYDER, D.B.; VAN DEUSEN, R.A. Identification of species-specific and interspecies-specific polypeptides of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, p.511-515, 1988.

BRASIL. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Atos legais. Portaria 193. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília – DF, 19 de setembro de 1994.

BRASIL. Normas para Registro e Fiscalização de Estabelecimentos Avícolas. Atos legais. Instrução Normativa nº 04. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília – DF, 30 de dezembro de 1998.

BRASIL. Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas para Micoplasmose Aviária. Atos legais. Instrução Normativa nº 44. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília – DF, 23 de agosto de 2001.

BRASIL. Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum* e livres ou controladas para *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium*. Atos legais. Instrução Normativa nº 03. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília – DF, 09 de janeiro de 2002.

BUXTON, A. Antibody production in a avian embryos and young chicks. **Journal of General Microbiology**, v.10, p.398-410, 1954.

BUXTON, A.; ALLAN, D. Studies on immunity and pathogenesis of salmonellosis. I. Antigen-antibody reactions on circulating leucocytes of chickens infected with *Salmonella gallinarum*. **Immunology**, v.6, p.520-529, 1963.

CARNAGHAN, R.B.A. Egg transmission of infectious synovitis. **Journal of Comparative Pathology**, v.71, p.279-285, 1961.

CARPENTER, T.E.; MALLINSON, E.T.; MILLER, K.F.; GENTRY, R.F.; SCWARTZ, L.D. Vaccination with F-strain *Mycoplasma gallisepticum* to reduce production losses in layer chickens. **Avian Diseases**, v.25, p.404-409, 1981.

CHANDIRAMANI, N.K.; VAN ROEKEL, H.; OLESIUK, O.M. Viability studies with *Mycoplasma gallisepticum* under different environmental conditions. **Poultry Science**, v.45, p.1029-1044, 1966.

CHART, H.; ROWE, B.; BASKERVILLE, A.; HUMPHREY, T.J. Serological response of chickens to *Salmonella enteritidis* infection. **Epidemiology and Infection**, v.140, n.1, p.63-71, 1990.

CHRISTIANSEN, K.H.; HIRD, D.W.; SNIPES, K.P.; DANAYE-ELMI, C.; PALMER, C.W.; MC BRIDE, M.D.; UTTERBACK, W.W. California National Animal Health Monitoring System for meat turkey flocks 1988-89 pilot study: management practices, flock health, and production. **Avian Diseases**. V.40, n.2, p.278-284, 1996.

CRUMP, J.A.; GRIFFIN, P.M.; ANGULO, F.J. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human food borne illness. **Clinical Infectious Diseases**, v.35, n.7, p.859-865, 2002.

CULLEN, G.A.; TIMMS, L.M. Diagnosis of *Mycoplasma* infection in poultry previously vaccinated with killed adjuvant vaccines, **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v.128, p.94-100, 1972.

CURTIS, P.E.; BOACHIE, F. Survey of the health and husbandry of small poultry flocks in Great Britain. **The Veterinary Record**, v. 111, n.11, p.216-219, 1982.

DANIELS, N.A.; MACKINNON, L.; ROWE, S.M.; BEAN, N.H.; GRIFFIN, P.M.; MEAD, P.S. Food borne disease outbreaks in United State schools. **Pediatric Infectious Diseases Journal**, v.21, n.7, p.623-628, 2002.

DAVIES, R.; BRESLIN, M. Environmental contamination and detection of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* in laying flocks. **The Veterinary Record**, v.149, n.23, p.699-704, 2001.

DÁVILA DE ICAZA, M.; TÉLLEZ ISAIAS, G.; GARCIA E.G.; HARGIS, B.M. Exclusion competitiva entre *Salmonella enteritidis* y *Salmonella gallinarum* en pollito de 1 día de edad infectados simultáneamente o consecutivamente. **Veterinária (Mexico City)**, v.27, p.295-298, 1996.

DHILLON, A.S.; ALISANTOSA, B.; SHIVAPRASAD, H.L.; JACK, O.; SCHABERG, D.; BANDLI, D. Pathogenicity of *Salmonella enteritidis* phage types 4, 8 and 23 in broiler chickens. **Avian Diseases**, v.43, n.3, p.506-515, 1999.

DIERKS, R.E.; NEWMAN, J.A.; POMEROY, B.S. Characterization of avian mycoplasma. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.143, p.170-189, 1967.

EWING, M.L.; LAUERMAN, L.H.; KLEVEN, S.H.; BROWN, M.B. Evaluation of diagnostic procedures to detect *Mycoplasma synoviae* in commercial multiplier-breeder farms and commercial hatcheries in Florida. **Avian Diseases**, v. 40, n.4, p.798-806, 1996.

EWING, M.L.; COOKSON, K.C.; PHILLIPS, R.A.; TURNER, K.R.; KLEVEN, S.H. Experimental infection and transmissibility of *Mycoplasma synoviae* with delayed serologic response in chickens. **Avian Diseases**, v.42, n.2, p.230-238, 1998.

FABRICANT, J. A re-evaluation of the use of media for the isolation of pleuropneumonia-like organisms of avian origin. **Avian Diseases**, v. 2, p.409-417, 1958.

FABRICANT, J.; LEVINE, P.P. Infection in young chickens for the prevention of egg transmission of *Mycoplasma gallisepticum* in breeders. In; 17<sup>th</sup> WORLD VETERINARY CONGRESS, 1962, p.1469-1474.

FAO. **Animal Health Year Book**, Rome, 1987.

FIORENTIN, L.; JAENISCH, F.R. Tentativa de infecção experimental da pomba-rola (*Columbina picui*) com *Mycoplasma synoviae*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.46, n.5, p.573-575, 1994.

FLENSBURG, J. Programmes to control or eradicate *Salmonella* in animal production in Denmark. **Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum**, v.91, p.51-58, 1999.

FURUTA, K.; MAKINO, Y.; KOMI, K.; NAKAMURA, Y.; ODA, S. Sanitization of a chicken house contaminated with mycoplasmas. **Japanese Poultry Science**, v.22, p.126-133, 1985.

GARCIA, M.; JACKWOOD, M.W.; LEVISOHN, S.; KLEVEN, S.H. Detection of *Mycoplasma gallisepticum*, *M. Synoviae*, and *M. iowae* by multi-species polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. **Avian Diseases**, v.39, n.3, p.606-616, 1995.

GHAZIKHANIAN, G.R.; YAMAMOTO, R.; CORDY, D.R. Response of turkeys to experimental infection with *Mycoplasma synoviae*. **Avian Diseases**, v.17, p.122-136, 1973.

GIAMBRONE, J.J.; EIDSON, C.S.; KLEVEN, S.H. Effect of infectious bursal disease on the response of chickens to *Mycoplasma synoviae*, Newcastle disease virus, and infectious bronchitis virus. **American Journal of Veterinary Research**, v.38, p.251-253, 1977.

GIUROV, B. Drug resistance of *Salmonella* strains isolated from poultry. **Veterinarno Meditsinsknauki Nauki**, v.17, n.6-7, p.38-43, 1980.

GLISSON, J.R.; KLEVEN, S.H. *Mycoplasma gallisepticum* vaccination: Effects on egg transmission and egg production. **Avian Diseases**, v.28, p.406-415, 1984.

GOURDEUK JR, S.; GLANTZ, PJ; CALLENBACH, E.W.; THORP, W.T.S. Transmission of fowl typhoid. **Poultry Science**, v.28, p.385-391, 1949.

GUARD-PETTER, J. The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*. **Environmental Microbiology**, v.3, n.7, p.421-430, 2001.

HAGEN, C.A.; CRUPPER, S.S.; APPLGATE, R.D.; ROBEL, R.J. Prevalence of mycoplasma antibodies in lesser prairie-chicken sera. **Avian Diseases**, v.46, n.3, p.708-712, 2002.

HALL, W.J.; LEGENHAUSEN, D.H.; MACDONAULD, A.D. Studies on fowl typhoid. II. Control of the disease. **Poultry Science**, v.28, p.344-362, 1949.

HASENSEN, L.; GERICKE, B.; LIESEGANG, A.; CLAUS, H.; POPLAWSKAJA, J.; TSCHERKESS, N.; RABSCH, W. Epidemiological and microbiological studies on salmonellosis in Russia. **Zentralblatt fuer Hygiene und Umweltmedizin**, v.198, n.2, p.97-116, 1995.

HENNING, M.W. The antigenic structure of salmonellas obtained from domestic animals and birds in South Africa. **Onderstepoort Journal Veterinary Science and Animal Industry**, v.13, p.79-189, 1939.

HERIKSTAD, H.; MOTARJEMI, Y.; TAUXE, R.V. *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping. **Epidemiology and Infection**, v.129, n.1, p.1-8, 2002.

HITCHNER, S.B.; DOMERMUTH, C.H.; PURCHASE, G.; WILLIAMS, J.E. **Isolation and Identification of Avian Pathogens**. Kennett Square: American Association of Avian Pathologists, 1980, 381p.

HOCHACHKA, W.M.; DHONDT, A.A. Density-dependent decline of host abundance resulting from a new infectious disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.97, n.10, p.5303-5306, 2000.

HUMBERT, F.; SALVAT, G. The risk of transmission of salmonellae in poultry farming: detection and prevention in Europe. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.16, n.1, p.83-90, 1997.

HUTT, F.B.; CRAWFORD, R.D. On breeding chicks resistant to pullorum disease without exposure thereto. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v.2, p.357-370, 1960.

IMADA, Y; NONOMURA, S.; HAYASHI, S.; TSURUBUCHI, S. Immunoperoxidase technique for identification of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae*. **National Institute Animal Health**, v.19, p.40-46, 1979.

JACKSON, C.A.W.; LINDSAY, M.J.; SHIEL, F. A study of the epizootiology and control of *Salmonella typhimurium* infection in a commercial poultry organization. **Australian Veterinary Journal**, v.47, p.485-491, 1971.

JENICEK, M.; CLÉROUX, R. **Épidémiologie: principes, techniques, applications**. Quebec: Edisem, 1987, 454p.

JOHNSON, D.C.; DAVID, M.; GOLDSMITH, S. Epizootiological investigation of an outbreak of pullorum disease in an integrated broiler operation. **Avian Diseases**, v.36, n.3, p.770-775, 1992.

JORDAN, F.T. Immunity to mycoplasma infections of the respiratory system in the domestic fowl and turkey. **Developments in Biological Standardization**, v.28, p.590-596, 1975.

JORDAN, F.T. Mycoplasmosis in poultry. **Israel Journal of Medical Sciences**, v.17, n.7, p.540-547, 1981a.

JORDAN, F.T. Mycoplasma-induced arthritis in poultry. **Israel Journal of Medical Sciences**, v.17, n.7, p.622-625, 1981b.

JORDAN, F.T. Gordon memorial lecture: people poultry and pathogenic mycoplasmas. **British Poultry Science**, v.26, n.1, p.1-15, 1985.

JUNGHERR, E.L.; LUGINBUHL, R.E.; TOURTELLOTE, M.; BURR, W.E. Significance of serological testing for chronic respiratory disease. In: 92<sup>nd</sup> ANNUAL MEET AMERICAN VETETERINARY MEDICINE ASSOCIATION. **Proceedings...** 1955. p.315-321.

KANG, M.S.; GAZDIZINSKI, P.; KLEVEN, S.H. Virulence of recent isolates of *Mycoplasma synoviae* in turkeys. **Avian Diseases**, v.46, n.1, p.102-110, 2002.

KELLY, P.J.; CHITAURO, D.; ROHDE, C.; RUKWAVA, J.; MAJOK, A.; DAVELAAR, F; MASON, P.R. Diseases and management of backyard chicken flocks in Chitungwiza, Zimbabwe. **Avian Diseases**, v.38, n.2, p.626-629, 1994.

KING, D.D.; KLEVEN, S.H.; WENGER, D.M.; ANDERSON, D.P. Field studies with *Mycoplasma synoviae*. **Avian Diseases**, v.17, p.722-726, 1973.

KLEIN, E. Über eine epidemische Krankheit der Hühner, verusacht durch einer. Bacillu- Bacillus gallinarum. **Zentralblatt fuer Bakteriologie Parasitenkunde Infertionskrankheitn und Hygiene Abteilung I Originale**, v.5, p.689-693, 1889.

KLEVEN, S.H., FLETCHER, O.J.; DAVIS, R.B. Influence of strain of *Mycoplasma synoviae* and route of infection on development of synovitis or airsacculitis in broilers. **Avian Diseases**, v.19, p.126-135, 1975.

KLEVEN, S.H.; BROWNING, G.F.; BULACH, D.M.; GHIOCAS, E.; MORROW, C.J.; WHITHEAR, K.G. Examination of *Mycoplasma gallisepticum* strains using restriction endonuclease DNA analysis and DNA-DNA hybridization. **Avian Pathology**, v. 17, p.559-570, 1988a.

KLEVEN, S.H.; KING, D.D.; ANDERSON, D.P. Airsacculitis in broilers from *Mycoplasma synoviae*: Effect on air-sac lesions of vaccinating with infectious bronchitis and Newcastle virus. **Avian Diseases**, v.16, p.915-924, 1972.

KLEVEN, S.H.; MORROW, C.J.; WITHEAR, K.G. Comparison of *Mycoplasma gallisepticum* strains by hemagglutination-inhibition and restriction endonuclease analysis. **Avian Diseases**, v.32, p.731-741, 1988b.

LESER, W., RIBEIRO NETTO, A.; GERMEK, O. A.; MARLET, J.M. **Elementos de Estatística para a Área de Ciências da Saúde**. São Paulo: Escola Paulista de Medicina da UFESP, 1973. 180p.

LEVISOHN, S. Antibiotic sensitivity patterns in field isolates of *Mycoplasma gallisepticum* as a guide to chemotherapy. **Israel Journal of Medical Sciences**, v.17, n.7, p.661-661, 1981.

LEVISOHN, S. Diagnostico serológico y molecular de mycoplasma aviaries. In: XVI CONGRESO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA, 1999, Lima – Peru. **Anales...** 1999. p.53-54.

LEVISOHN, S.; GLISSON, J.R.; KLEVEN, S.H. In: Ovo pathogenicity of *Mycoplasma gallisepticum* strains in the presence and absence of maternal antibody. **Avian Diseases**, v.29, p. 188-197, 1985.

LEVISOHN, S.; KLEVEN, S.H. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.19, n.2, p.425-442, 2000.

LEY, D.H.; AVAKIAN, A.P.; BERKHOF, J.E. Clinical *Mycoplasma gallisepticum* infection in multiplier breeder and meat turkeys caused by F. strain: identification by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, restriction endonuclease analysis, and the polymerase chain reaction. **Avian Diseases**, v.37, n.3, p.854-862, 1993.

LIN, M.Y.; KLEVEN, S.H. Pathogenicity of two strains of *Mycoplasma gallisepticum* in turkeys. **Avian Diseases**, v.26, p.360-364, 1982.

LOCKABY, S.B.; HOERR, F.J.; KLEVEN, S.H.; LAUERMAN, L.H. Pathogenicity of *Mycoplasma synoviae* in chicken embryos. **Avian Diseases**, v.43, n.2, p.331-337, 1999.

LUCIO, B; PADRON, M.; MOSQUEDA, A. Fowl thyphoid in Mexico. In: SNOEYENBOS, G.H. **Proceedings of the Intertional Symposium of Salmonella**. New Orleans: American Association Avian. Pathology, Kennett Square, PA, 1984. p.382-383.

LUGINBUHL, R.E.; TOURTELLOTTE, M.E.; FRAZIER, M.N. *Mycoplasma gallisepticum* control by immunization. **Annual New York Academic Science**, v.143, p.234-238, 1967.

LUTRELL, M.P.; STALLKNETCHT, D.E.; KLEVEN, S.H.; KAVANAUGH, D.M.; CORN, J.L.; FISCHER, J.R. *Mycoplasma gallisepticum* in house finches (*Carpodacus mexicanus*) and other wild birds associated with poultry production facilities. **Avian Diseases**. V.45, n.2, p.321-329, 2001.

MAROIS, C; OUFOR-GESBERT, F.; KEMPF, I. Detection of *Mycoplasma synoviae* in poultry environment samples by culture and polymerase chain reaction. **Veterinary Microbiology**, v.73, n.4, p.311-318, 2000.

MARSH, G.A. The salmonella problem. **Poultry Digest**, v.35, p.417-418, 1976.

MATSUMOTO, A.; MIYAMA, M.; MURAKAMI, S. Comparison of *Salmonella* isolation rates in different types of egg-layer hen houses in Chiba, Japan. **Avian Diseases**, v.45, n.1, p.195-200, 2001.

MC BRIDE, M.D.; HIRD, D.W.; CARPENTER, T.E.; SNIPES, K.P.; DANAYE-ELMI, C.; UTTERBACK, W.W. Health survey of backyard poultry and other avian species located within one mile of commercial California meat-turkey flocks. **Avian Diseases**, v.35, n.2, p.403-407, 1991.

MOHAMMED, H.O.; CARPENTER, T.E.; YAMAMOTO, R.; MC MARTIN, D.A. Prevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* in commercial layers in southern and central California. **Avian Diseases**, v.30, n.3, p.519-526, 1986.

MOHAMMED, H.O.; CARPENTER, T.E.; YAMAMOTO, R. Evaluation of factors associated with infection of commercial layers with *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae*. **Avian Diseases**, v.31, n.3, p.470-476, 1987.

MOORE, E.N. Fowl typhoid transmission. **Delaware Agricultural Experiment Station Bulletin**, v.22, p.21, 1946.

MOORE, V.A. On a pathogenic bacillus of the hog-cholera group associated with a fatal disease in pigeons. In: USDA BAI, Bull, 8, 1895, p.71-76.

MUSHI, E.Z.; BINTA, M.G.; CHABO, R.G.; MATHAIO, M.; NDEBELE, R.T. Detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* antibodies in the sea of indigenous chickens by rapid serum agglutination test at Mopane, Gaborone, Botswana. **Onderstepoort Journal of Veterinary Reserch**, v.66, n.4, p.333-334, 1999.

NAGARAJA, K.V; POMEROY, B.S.; WILLIAMS, J.E. Paratyphoid infections. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER JR., H.W. **Diseases of Poultry**. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, 1997. p.99-130.

NASCIMENTO, E.R. Epidemiologia com ênfase no diagnóstico epidemiológico em avicultura. **Curso para médicos veterinários oficiais em Sanidade Avícola**. Cuiabá, 1995.

NASCIMENTO, E.R. Micoplasmoses. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: Facta, 2000. p.217-224.

NASCIMENTO, V.P. Programas de monitorização em salmonelas: uma garantia na preservação da imagem dos produtos avícolas junto ao consumidor. In: VI SIMPÓSIO

TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 1995, Campinas. **Anais...** São Paulo: APA, 1995. p.95-108.

NASCIMENTO, V.P.; MORAES, H.L.S.; RIBEIRO, A.R.; SANTOS, L.R.; CARDOSO, M.O.; PONTES, A.P.; OLIVEIRA, S.D. Aspectos favoráveis e desfavoráveis dos programas de vacinação no controle sanitário da salmonelose. In: VII SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 1997, Campinas. **Anais...** São Paulo: APA, 1997. p.143-152.

NOBREGA, P.; BUENO, R.C. Sobre a presença da *Salmonella gallinarum* nos ovos de galinhas portadoras de tifo aviário. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v.13, p.17-20, 1942.

OLESIUK, O.M.; VAN ROEKEL, H. Cultural attributes of the chronic respiratory disease agent. In: 24<sup>TH</sup> ANNUAL CONFERENCE NORTHEAST LAB WORKERS IN PULLORUM DISEASES CONTROL, **Proceedings...** 1952.

OLSON, N.O.; ADLER, H.E.; DAMASSA, A.J.; CORSTVET, R.E. The effect of intranasal exposure to *Mycoplasma synoviae* and infectious bronchitis on development of lesions and agglutinins. **Avian Diseases**, v.8, p.623-631, 1964a.

OLSON, N.O.; KERR, K.M.; CAMPBELL, A. Control of infectious synovitis. 13. The antigen study of three strains. **Avian diseases**, v.8, p.209-214, 1964b.

OLSON, N.O.; YAMAMOTO, R.; ORTMAYER, H. Antigenic relationship between *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 26, p.195-198, 1965.

ORR, B.B.; MOORE, E.N. Longevity of *Salmonella gallinarum*. **Poultry Science**, v.32, p.800-805, 1953.

PALMER, S.; PARRY, S.; PERRY, D.; SMITH, R.; EVANS, M.; NEHAUL, L.; ROBERTS, R.; WALAPU, M.; WROGHT, D. The role of outbreaks in developing food safety policy:

population based surveillance of salmonella outbreaks in Wales - 1986-1998. **Epidemiology and Infection**, v.125, n.3, p.467-472, 2000.

PANNETA, J.C. Segurança alimentar e HACCP na produção de ovos. In: I CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: APA, 1999, p.71-78.

PASCUCCI, S.; MAESTRINI, N.; GOVONI, S.; PRATI, A. *Mycoplasma synoviae* in the guinea-fowl. **Avian Pathology**, v.5, p.291-297, 1976.

PEVZNER, I.; NORDSKOG, A.W.; KAEBERLE, M.L. Immune response and the B blood group locus in chickens. **Genetics**, v.80, p.753-759, 1975.

PEVZNER, I.Y.; STONE, H.A.; NORDSKOG, A.W. Immune response and disease resistance in chickens. I. Selection for high and low titer to *Salmonella pullorum* antigen. **Poultry Science**, v.60, p.920-926, 1981.

POMEROY, B.S.; NAGARAJA, K.V. Fowl typhoid. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER JR., H.W. **Diseases of Poultry**. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, 1997. p.87-98.

RAO, S.B.V.; NARAYANAN, S.; RAMNANI, D.R.; DAS, J. Avian salmonellosis: Studies on *Salmonella gallinarum*. **Indian Journal of Veterinary Science**, v.22, p.199-208, 1952.

REECE, R.L.; IRELAND, L.; SCOTT, P.C. Mycoplasmosis in racing pigeons. **Aust. Vet. J.**, v.63, p.166-167, 1986.

RHOADES, K.R. Antibody responses of turkeys experimentally exposed to *Mycoplasma synoviae*. **Avian Diseases**, v.19, p.437-442, 1975.

RHOADES, K.R. Turkeys airsacculitis: effect of mixed mycoplasmal infection. **Avian Diseases**, v.25, n.1, p.131-135, 1981.

RIMLER, R.B.; DAVIS, R.B.; PAGE, R.K.; KLEVEN, S.H. Infectious coryza: Preventing complicated coryza with *Haemophilus gallinarum* and *M. gallisepticum* bacterins. **Avian Diseases**, v.22, p.140-150, 1978.

RODRÍGUEZ, R.; KLEVEN, S.H. Evaluation of a vaccine against *Mycoplasma gallisepticum* in commercial broilers. **Avian Diseases**, v.24, p.879-889, 1980.

RODRIGUEZ FDE, C.; SOLIS CUESTA, F.; NAVARRO, F.; MUÑOZ, J.; TEJERO, R.; IBARRA GONZALES, A.; LINARES SICILIA, M.J.; CASAL, M. *Salmonella* spp. serotypes isolated at the Hospital Universitario Reina Sofia in Cordoba during an 8-year period, 1993-2000. **Enfermedades, Infectologia y Microbiologia Clinica**, v.20, n.5, p.208-211, 2002.

ROESICKE, E.; GREUEL, E. The survival ability of salmonella, coccidia oocysts and ascarid eggs in laying hen feces from different housing systems. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v.99, n.12, p.492-494, 1992.

ROSS, R.F.; YOUNG, T.F. The nature and detection of mycoplasmal immunogens. **Veterinary Microbiology**, v.37, n.3-4, p.369-380, 1993.

SATO, S. Avian mycoplasmosis in Asia. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.15, n.4, p.1555-67, 1996.

SCHLUNDT, J. Emerging food-borne pathogens. **Biomedical Environment Science**, v.14, n.1-2, p.44-52, 2001

SESTI, L.A.C. Biosseguridade em um programa de melhoramento genético de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001, p. 98-102, 2001

SEVERENS, J.M.; ROBERTS, E.; CARD, L.E. A study of the defense mechanism involved in hereditary resistance to pullorum disease of the domestic fowl. **Journal of Infectious Diseases**, v.75, p.36-46, 1944.

SHIVAPRASAD, H.L. Fowl typhoid and pullorum disease. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.19, n.2, p.405-424, 2000.

SILVA, E.N. The *Salmonella gallinarum* problem in Central and South America. In: SNOYENBOS, G.H. **Proceedings of the International Symposium of Salmonella**. New Orleans: American Association Avian of Pathology, Kennett Square, PA, 1984. p.150-156.

SILVA, E.N.; SNOYENBOS, G.H.; WEINACK, O.M.; SMYSER, C.F. The influence of native gut microflora on the colonization and infection of *Salmonella gallinarum* in chickens. **Avian Diseases**, v.25, p.68-73, 1981.

SILVA, R.D.M. **Sistema caipira de criação de galinhas**. Piracicaba: Fundação Biblioteca Nacional, 2001.

SIMKO, S. Incidence of *salmonellae* in domestic fowl in Slovakia from 1971-1980. **Veterinary Medicine (Praha)**, v.29, n.2, p.113-119, 1984.

SIMON, V.A.; ISHIZUKA, M.M. Doença Infeciosa da Bolsa de Fabrício – DIB. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: Facta, 2000. p.301-314.

SNOEYENBOS, G.H. Pullorum disease. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER JR., H.W. **Diseases of Poultry**. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, 1997. p.73-85.

SPRINGER, W.T.; LUSKUS, C.; POURCIAU, S.S. Infectious bronchitis and mixed infections of *Mycoplasma synoviae* and *Escherichia coli* in gnotobiotic chickens. I. Synergistic role in the airsacculitis syndrome. **Infection and Immunity**, v.10, p.578-589, 1974.

ST LOUIS, M.E.; MORSE, D.L.; POTTER, M.E.; DEMELFI, T.M.; GUZEWICH, J.J.; TAUXE, R.V.; BLAKE, P.A. The emergence of grade A eggs a major source of

*Salmonella enteritidis* infections. **Journal of the American Medical Association**, v. 259, p.2103-2107, 1988.

STANLEY, J.; BAQUAR, N. Phylogenetics of *Salmonella enteritidis*. **International Journal of Food Microbiology**, v.21, n.1-2, p.79-87, 1994.

TAJIMA, M; NUNOYA, T.; YAGIHASHI, T. An ultra structural study on the interaction of *Mycoplasma gallisepticum* with the chicken tracheal epithelium. **American Journal of Veterinary Research**, v.40, p.1009-1014, 1979.

TALKINGTON, F.D.; KLEVEN, S.H.; BROWN, J. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* in experimentally infected chickens. **Avian Diseases**, v.29, p.53-70, 1985.

TANNER, A.C.; AVAKIAN, A.P.; BARNES, H.J.; LEY, D.H.; MIGAKI, T.T.; MAGONIGLE, R.A. A comparison of danofloxacin tylosin in the control of induced *Mycoplasma gallisepticum* infection in broiler chicks. **Avian Diseases**, v.37, n.2, p.515-522, 1993.

THRELFALL, E.J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food – and water – borne infections. **FEMS (Federation of European Microbiological Societies) Microbiological Reviews**, v.26, n.2, p.141-148, 2002.

THRUSFIELD, M.V. **Veterinary epidemiology**. London: Butterworths, 1986. 300p.

TODD, E.C. Epidemiology of food borne diseases: a worldwide review. **World Health Statistics Quarterly**, v.50, n.1-2, p.30-50, 1997.

VAN ROEKEL, H.; GRAY, J.E.; SHIPKOWITZ, N.L.; CLARKE, M.K.; LUCHINI, R.M. Etiology and pathology of the chronic respiratory disease complex in chickens. **Massachusetts Agricultural Experiment Station Bulletin**, p.486, 1957.

VARDAMAN, T.H.; YODER JR, H.W. Preparation of *Mycoplasma synoviae* hemagglutinating antigen and its use in the hemagglutination-inhibition test. **Avian Diseases**, v.13, p.654-661, 1969.

WATANABE, S.T.; NAGAI, T.; HASHIMOTO, K.; KUME, T.; SAKAZAKI, R. Studies on *Salmonella* infection in hens' eggs during incubation. VII. Transmission to eggs of agglutinins and immunity from hens infected with *S. pullorum*. **Bulletin of the National Institute of Animal Health**, n.39, p.37-41, 1960.

WEINACK, O.M.; SNOYENBOS, G.H.; KLEVEN, S.H. Strain of *Mycoplasma synoviae* of low transmissibility. **Avian Diseases**, v.27, p.1151-1156, 1983.

WHITHEAR, K.G. Control of avian mycoplasmosis by vaccination. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.15, n.4, p.1527-1553, 1996.

WILKINS, M.J.; BIDOL, S.A.; BOULTON, M.L.; STOBIERSKI, M.G.; MASSEY, J.P.; ROBINSON-DUNN, B. Human salmonellosis associated with young poultry from a contaminated hatchery in Michigan and resulting public health interventions, 1999 and 2000. **Epidemiology Infection**, v.129, n.1, p.19-27, 2002.

WILLIAMS, J.E.; DILLARD, L.H.; HALL, G.O. The penetration patterns of *S. typhimurium* through the outer structures of chicken eggs. **Avian Diseases**, v.12, p.445-466, 1968.

WRAY, C.; DAVIES, R.H. Guidelines on detection and monitoring of salmonella infected poultry flocks with particular reference to *Salmonella enteritidis*. In: **REPORT OF A WHO CONSULTATION ON STRATEGIES FOR DETECTION AND MONITORING OF SALMONELLA INFECTED POULTRY FLOCKS**, Austria: WHO – Veterinary Public Health Unit, 1994. p.29-34.

YAMAMOTO, R.; ADLER, H.E. The effect of certain antibiotics and chemical agents on pleuropneumonialike agents of avian origin. **American Journal of Veterinary Research**, v.17, p.538-542, 1956.

YODER JR, H.W. Preincubation heat treatment of chicken hatching eggs to inactivate *Mycoplasma*. **Avian Diseases**, v.14, p.75-86, 1970.

YODER JR, H.W. Serologic response of chickens vaccinated with inactivated preparations of *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Diseases**, v.23, p.493-506, 1979.

YODER JR, H.W. Mycoplasmosis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER JR., H.W. **Diseases of Poultry**. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, 1997. p.197-235.

YODER JR, H.W.; DRURY, L.N.; HOPKINS, S.R. Influence of environment on airsacculitis: Effects of relative humidity and air temperature on broilers infected with *M. synoviae* and infectious bronchitis. **Avian Diseases**, v.21, p.195-208, 1977.

YODER JR, H.W.; HOFSTAD, M.S. Characterization of avian *Mycoplasma*. **Avian Diseases**, v. 8, p.481-512, 1964.

YODER JR, H.W.; HOFSTAD, M.S. Evaluation of tylosin in preventing egg transmission of *M. gallisepticum* in chickens. **Avian Diseases**, v.9, p.291-301, 1965.

YODER JR, H.W.; HOPKINS, S.R. Efficacy of experimental inactivated *Mycoplasma gallisepticum* oil-emulsion bacterins in egg layer chickens. **Avian Diseases**, v.29, p.322-334, 1985.

YOGEV, D.; LEVISOHN, S.; KLEVEN, S.H.; HALACHMI, D.; RAZIN, S. Ribosomal RNA gene probes to detect intraspecies heterogeneity in *M. gallisepticum* and *M. synoviae*. **Avian Diseases**, v.32, p.220-231, 1988.

YOGEV, D.; LEVISOHN, S.; RAZIN, S. Genetic and antigenic relatedness between *M. gallisepticum* and *M. synoviae*. **Veterinary Microbiology**, v.19, p.75-84, 1989.

ZANDER, D.V. Origin of S6 strain of *Mycoplasma*. **Avian Diseases**, v.5, p.154-156, 1961.