



## Revisão: MICOPLASMOSES AVIÁRIAS

---

Leandro dos Santos Machado<sup>1</sup>, Elmiro Rosendo do Nascimento<sup>2</sup>, Virgínia Léo de Almeida Pereira<sup>2</sup>, Dayse Lima da Costa Abreu<sup>2</sup>; Maria Lúcia Barreto<sup>2</sup>

1 Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. Faculdade de Veterinária – UFF. Rua Vital Brazil Filho, 64, Vital Brazil, Niterói, RJ. CEP: 24.230-340. E-mail: (leandromachadovet@yahoo.com.br)

2 Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública. Faculdade de Veterinária – UFF.

Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

---

### RESUMO

Micoplasma é uma das principais doenças aviárias na indústria avícola no Brasil. Primeiramente, esta é uma doença de galinhas e perus, mas também infecta muitas outras aves domésticas e selvagens. A doença é causada por quatro patógenos comuns: *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis* e *M. iowae*. Nesta revisão bibliográfica são apresentadas as principais micoplasmoses que acometem as aves de produção, sinais clínicos, o diagnóstico laboratorial assim como a prevenção e tratamento da enfermidade. Este estudo objetivou apresentar a importância do controle desta enfermidade no Programa de Sanidade Avícola (PNSA) para manter o país em posição de destaque na cadeia produtiva de carne de frango e ovos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Micoplasmoses, aves de produção.

### AVIAN MICOPLASMOSIS

#### ABSTRACT

Mycoplasma is one of the major avian diseases in the poultry industry in Brazil. Primarily, this is a disease of chickens and turkeys but it also infects many other domestic and wild birds. The disease is caused by four common pathogens: *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis* and *M. iowae*. This review presents the main mycoplasmosis that affect poultry production, clinical signs, laboratory diagnosis as well as prevention and treatment of disease. This study aimed to present the importance of controlling this disease in Avian Health Program to keep the country in a prominent position in the production chain of poultry meat and eggs.

**KEYWORDS:** mycoplasmosis, poultry production.

## HISTÓRICO

O primeiro isolamento de micoplasma ocorreu em 1898, na França, onde Edward Nocard e Emile Roux obtiveram a primeira espécie a partir de bovinos apresentando pleuropneumonia contagiosa bovina - PPCB (NOCARD; ROUX, 1898). A partir de então, os microrganismos com características semelhantes àqueles da PPCB, foram denominados de Pleuro Pneumoniae-Like Organisms - PPLO (DAVIS et al., 1973). Os primeiros relatos sobre a micoplasmose aviária foram descritos por Dodd, na Inglaterra, em 1905, quando um provável quadro de infecção conjugada de *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *Pasteurella multocida* foi diagnosticado como “Pneumoenterite Epizootica dos Perus” (DODD, 1905), mas se tornou conhecida apenas a partir de 1938, com Dickinson e Hinshaw, sob a denominação de Sinusite Infecciosa dos Perus (METTIFOGO; BUIM, 2009). Nelson (1933, 1935) identificou um corpúsculo coco baciliforme encontrado no exsudato nasal de galinhas com coriza e o considerou como possível agente causal da Doença Crônica Respiratória. A enfermidade recebeu o nome de Sinusite Infecciosa dos Perus e Doença Crônica Respiratória (DCR) das galinhas pelo caráter crônico e pela evolução lenta da doença (METTIFOGO; BUIM, 2009). Na década seguinte, Delaphane e Stuart (1943) isolaram e cultivaram o agente da DCR e da Sinusite Infecciosa dos Perus (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). A conexão entre sintomas respiratórios e a presença de organismos cocobaciliformes nas aves afetadas foi, porém, somente estabelecida definitivamente na década de 1950 (LANCASTER; FABRICANT, 1988). Somente em 1960, Edward e Kanarek denominaram o agente etiológico da DCR como *Mycoplasma gallisepticum* (MG), após a inclusão dos micoplasmas na Classe dos Mollicutes (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009; METTIFOGO; BUIM, 2009).

No Brasil, a história da micoplasmose aviária teve início em meados da década de 50, quando esta doença foi relatada pela primeira vez por Reis e Nóbrega (1955) em São Paulo, que a reconheceram a partir de casos de aerossaculite em galinhas e sinusite infecciosa em perus. Ainda nesse estado, verificou-se que a DCR ocupava o 10º lugar entre as doenças diagnosticadas no Instituto Biológico (BUENO et al., 1962). Os primeiros isolamentos foram obtidos por Garust e Nóbrega (1956) de aves com DCR, sendo realizados, na época, por meio de seguidas passagens em ovos embrionados de galinhas. Na década seguinte, entre os anos de 1961 a 1967, foi demonstrado que a infecção em perus pelo *Mycoplasma gallisepticum* (MG) era muito mais freqüente do que pelo *Mycoplasma meleagridis* (MM), e foi observado que a prevalência da DCR aumentou, o que a levou a alcançar o 5º lugar entre as doenças diagnosticadas (BUENO et al., 1971). Em Minas Gerais, nos anos de 1967 e 1968, os estudos sorológicos realizados por RESENDE et al. (1968) indicaram a prevalência de 25,7 e 32,8%, respectivamente, para MG. Na década de 70, OLIVEIRA (1973), observou uma alta prevalência da doença nos plantéis avícolas do país a partir de dados de necropsia e de sorologia. Estes dados foram reforçados pelos estudos realizados em abatedouros inspecionados em Santa Catarina, na década de 80, onde foram constatadas altas taxas de condenações por aerossaculite nas aves (SCHEFFER, 1985). Ainda naquela década, no Estado do Rio de Janeiro, os casos de micoplasmose ocuparam o primeiro lugar entre as doenças diagnosticadas pelo setor de Ornitopatologia da EMBRAPA, sendo obtidos isolamentos de MG de ovos bicados e não nascidos, de galinhas, perus e codornas (METTIFOGO; BUIM, 2009).

Na década de 90, técnicos do Ministério da Agricultura juntamente com a assessoria de especialistas na área criaram o Programa de Sanidade Avícola (PNSA), estabelecendo normas e recomendações técnicas para o controle da micoplasmose e outras doenças aviárias nos diversos setores do segmento avícolas. Os objetivos destas normas eram a erradicação e a manutenção de lotes livres de micoplasmas, principalmente dos núcleos de aves reprodutoras e de matrizes (BRASIL, 1994; 1999).

## CARACTERÍSTICAS GERAIS

As micoplasmoses são enfermidades causadas pelos menores procariontes (bactérias) conhecidos, que se assemelham, em tamanho, aos grandes vírus (cerca de 300nm). Esses microrganismos têm predileção pelas membranas mucosas e serosas das aves, provocando problemas respiratórios, articulares e urogenitais. A Doença Respiratória Crônica (DCR) das galinhas causada por MG, a Sinovite Infeciosa dos Perus causada por MS, a Sinovite Infeciosa e Aerossaculite das Aves causada por MG e MS, são as formas clássicas da infecção (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009).

A palavra micoplasma tem sua origem no grego: *mykes*, que significa fungos, e *plasma*, que diz respeito à forma ou ao molde das células. Pertencem à divisão Tenericutes e à classe Mollicutes (*mollis* = macio e *cutis* = pele), ordem Mycoplasmatales, e diferem das bactérias convencionais por não possuírem parede celular, sendo o seu citoplasma envolvido somente por uma membrana trilaminar (ROSEBUSCH, 1994). A ausência desta estrutura celular evidencia plasticidade em sua morfologia, dependendo de seu estágio fisiológico (TIMENETSKY, 2009); além de torná-los naturalmente resistentes a antibióticos que atuam impedindo a síntese da parede celular das bactérias, a exemplo das penicilinas (RAZIN; TULLY, 1995). A membrana plasmática possui colesterol que estabiliza a fluidez desta nas variações ambientais e geralmente é adicionado ao meio de cultura pelo soro animal, além disso, adição de proteínas e aminoácidos são necessários por serem microrganismos de metabolismo reduzido (TIMENETSKY, 2009). Esses organismos crescem produzindo colônias em forma de “ovo frito”, e não turvam caldos, mesmo com  $10^8$  células/mL.

As diferentes espécies de micoplasmas apresentam usualmente uma especificidade em relação ao hospedeiro, com algumas exceções. Até o momento, foram isoladas e caracterizadas 25 espécies de micoplasmas nas aves. Destacam-se como patógenos indiscutíveis e de preocupação para a indústria avícola o *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma synoviae* (MS) e *Mycoplasma meleagridis* (MM), enquanto *Mycoplasma iowae* (MI) é considerado um agente emergente. Todos esses podem causar doenças subclínicas ou aparentes em galinhas, perus e em outras aves (KLEVEN, 2003). As aves silvestres são pouco susceptíveis a contrair e enfermidade e podem atuar como vetores ou transmissores das micoplasmoses entre as granjas, através do contato direto com as aves de produção ou com a água e/ou alimentos (CERDÁ, 2007)

A transmissão de MG e MS pode ocorrer de forma horizontal mediante o contato direto com secreções respiratórias ou verticalmente pelo oviduto (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). A disseminação horizontal da infecção é em geral muito rápida entre as aves de um mesmo galpão alcançando 100% das mesmas em poucas semanas. A transmissão vertical em aves comerciais é uma das principais

razões pela dificuldade em controlar e erradicar a enfermidade. Normalmente as aves infectadas e em estado agudo transmitem à sua progênie uma alta concentração de micoplasmas, e a taxa de transmissão pode variar entre 10 a 40%. A porcentagem mínima de transmissão pela via vertical é suficiente para que nas nascedoras e durante os primeiros dias de vida os micoplasmas sejam transmitidos a todo o lote de pintinhos. A maior transmissão ocorre durante as primeiras seis a oito semanas depois da infecção, quando as aves estão em produção. Um ponto importante é que a transmissão pode cessar por alguns períodos e reiniciar-se em qualquer momento conjuntamente com uma situação de estresse (CERDÁ, 2007).

O período de incubação de MG e MS é similar e depende da virulência das cepas, da concentração das mesmas e de fatores de estresse ambiental e do manejo dos lotes de aves (KLEVEN, 2003). Geralmente é de 11 a 21 dias depois da exposição pelo contato direto. Em aves infectadas pela transmissão vertical, o período de incubação pode ser mais curto e já foram relatados casos de sinuvite em pintinhos com seis dias de idade.

O *Mycoplasma gallisepticum* causa doenças preponderantemente nas aves domésticas ou naquelas de interesse econômico, porém já foi isolado de outras aves, como de pássaros silvestres com conjuntivite, indicando capacidade de adaptar-se a outro hospedeiro (LEY et al., 1997). Os estágios de interação entre MG e hospedeiro incluem uma série de eventos sequenciais: o primeiro contato não específico, a aderência específica aos receptores, a colonização e os danos subsequentes à célula. A aderência do MG às células epiteliais no trato respiratório do hospedeiro por meio de proteínas de adesão é essencial para a colonização e infecção. Uma vez que os micoplasmas não possuem parede celular, eles aderem-se diretamente à membrana da célula do hospedeiro (METTIFOGO; BUIM, 2009). Os determinantes antigênicos encontram-se na membrana trilaminar, que serão capazes de estimular o sistema imune do hospedeiro e celular, bem como de funcionar como fatores tóxicos e mitogênicos (YAMAMOTO, 1990). As manifestações clínicas de MG são tosse, corrimento, descarga ocular e nasal, decréscimo no consumo de alimentação, retardo de crescimento e lotes desiguais, além de queda na produção de ovos e mortalidade variável (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). Em aves jovens, os sintomas podem se manifestar por uma ligeira conjuntivite e uma quantidade muito pequena de secreção nasal de natureza serosa. Pode haver colabamento das pálpebras em função da secreção. Ruídos respiratórios também podem ser ouvidos. As aves diminuem o consumo de ração, com aumento da conversão alimentar (MENDES, 2004).

Os sacos aéreos são os órgãos mais afetados, devido ao processo respiratório das aves que faz passar o ar inspirado primeiro pelos sacos aéreos e grandes brônquios para depois liberá-lo aos pulmões. Apresentam-se com exsudato caseoso ou fibrino-caseoso, espessados, opacos e podem conter depósitos de fibrina, além de áreas de reação linfocelulares em suas paredes. A partir de lesões nos sacos aéreos abdominais (estendem-se pela área lombo-sacral, pondo-se em contato, ao se expandir, com as gônadas, rins e numerosas alças intestinais), o ovo é infectado, ao ser liberado pelos ovários, contaminando na sequência o oviduto e os futuros ovos (FURLAN, 2009; NASCIMENTO; PEREIRA, 2009; SESTI, 2009). Os sacos aéreos quando atingidos podem se encontrar com depósitos de fibrina, quer pelo envolvimento de outros agentes, como vírus respiratórios (Doença de Newcastle, Bronquite Infecciosa, Influenza Aviária, Laringotraqueíte e outros) ou bactérias (*Escherichia coli* e MS), têm-se usado a denominação da Doença Respiratória Complicada. Entretanto, as infecções inaparentes são as mais comuns

e mais preocupantes, devido aos prejuízos que causam (KLEVEN, 2003; LEY, 2003). Fatores como baixa temperatura, amoníaco, estresse e associação com vírus imunodepressores como o de Gumboro, Anemia, Reovírus e outros, podem também influenciar na severidade das infecções (CERDÁ, 2007).

A contaminação do oviduto, portanto, pelo MG pode ocasionar a alteração na qualidade interna e externa dos ovos devido lesões do oviduto (salpingite) e presença de exsudato caseoso no oviduto (BUIM, 2007; COELHO, 2006; METTIFOGO; BUIM, 2009; NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). PRUTHI & KHAROLE (1980) estudando pintos da raça Leghorn branca nascidos de ovos pré-tratados com eritomicina inoculou MG através do saco vitelino. As aves fêmeas apresentaram alterações macroscópicas no oviduto, caracterizado pela presença de placas cinzento-esbranquiçadas de vários tamanhos em um segmento ou em todo o comprimento do oviduto e microscopicamente possuíam infiltração hidrofílica leve, agregados linfocíticos, folículos linfóides, infiltração linfocitária difusa, pleomorfismo celular. As placas com material caseoso foram formadas por restos de tecido, fibrina, heterófilos necróticos, e às vezes alguns linfócitos e macrófagos. Alterações que acompanharam o exsudado necrótico foram atrofia da mucosa, hipertrofia da parede do oviduto, ou, por vezes, necrose das dobras da mucosa. NUNOYA (1997) descreveu caso de salpingite por *Mycoplasma gallisepticum* (MG) em poedeiras, houve queda na produção de ovos e a salpingite caracterizou-se por espessamento da mucosa tubário devido a hiperplasia epitelial e infiltração mononuclear marcada. Anticorpos para MG foram detectados em todas as galinhas examinadas e a colonização de MG sobre a superfície epitelial foi evidenciada por microscopia eletrônica e imunohistoquímica.

A infecção por MS, em aves domésticas, pode se manifestar por imunossupressão, levando a um aumento no coeficiente de mortalidade de cerca de 1% a 10%, quando comparado à mortalidade em aves livres de MS, além de provocar quadros de doença respiratória e queda na produção de ovos (STIPOKVITS, KEMPFT, 1996; NASCIMENTO, PEREIRA, 2009). As perdas econômicas atribuídas às micoplasmoses, principalmente por MS, estão associadas à queda na postura e qualidade do ovo, à má eclodibilidade (altas taxas de mortalidade embrionária e refugos), à queda na eficiência alimentar, às altas taxas de mortalidade e condenação de carcaças nas aves de corte; e do alto custo com medicamentos e programas de controle, além do efeito sinérgico quando associados a outras doenças (NASCIMENTO et al., 2005). Existem duas formas de doença clínica por MS: a forma articular e a respiratória, as quais podem ser agudas, mas normalmente são crônicas. Na forma articular / sinovite nota-se o mesmo tipo de sinais clínicos em galinhas e perus, depressão, fraqueza, penas arrepiadas, retardo no crescimento, anemia (face e barbela pálidas) e edema das articulações, principalmente a tíbio-tarsial (KLEVEN, 2003). A infecção via coxim plantar pode determinar um quadro de sinovite e forte resposta sorológica, enquanto que por aerossol (diretamente nos sacos aéreos e via intrasinus ou nasal) pode determinar uma infecção inaparente ou quadro de aerossaculite e/ou induzir fraca resposta sorológica (KLEVEN et al., 1972). Para STIPKOVITS & KEMPF (1996) a infecção pelo ovo (transmissão vertical) pode determinar ambos os quadros clínicos apresentados. A real prevalência da micoplasmose aviária por MS nas criações avícolas, bem como seus efeitos econômicos ainda são desconhecidos, devido a dificuldade na reprodução da doença e de diagnóstico, aliada à variação de virulência entre as diferentes cepas de MS (NASCIMENTO et al., 2005) Consequentemente, o controle e a erradicação de MS têm sido negligenciados,

favorecendo sua disseminação, inclusive nos lotes das criações de aves alternativas. Para alguns autores, a infecção por MS nas aves de postura não afeta a produção de ovos, entretanto outros informam que pode haver queda na postura (5-10%) e na eclodibilidade (5-7%), além de provocar quadros de doença respiratória (STIPOKVITS; KEMPFT, 1996; NASCIMENTO et al., 2005). Trabalhos recentes sobre o assunto têm associado à infecção por MS à queda na produção de ovos e aumento na mortalidade em criações com idades múltiplas (DUFOUR-GESBERT et al., 2006), bem como o isolamento de MS em oviduto de aves que produziram ovos com anormalidades na casca (FEBERWEE et al., 2009).

O *Mycoplasma meleagridis* (MM) é um patógeno específico de perus, podendo ser transmitido tanto pela transmissão vertical como horizontal. A mortalidade ocasionada pela enfermidade é baixa e deve-se principalmente às infecções secundárias, e pode ocorrer em perus de todas as idades, sendo as galinhas refratárias, porém a morbidade normalmente é alta (CERDA, 2009). A transmissão vertical se origina da infecção do aparelho reprodutor das fêmeas pela inseminação com sêmen contaminado. O principal ponto de infecção do ovo no oviduto parece ser a área da fimbria ou magno. A transmissão horizontal pode ocorrer em forma direta, por via aerógena, ou indireta, pelas práticas de manejo. A forma aérea geralmente conduz a infecção a 100% do lote e pode ocorrer no nascedouro ou nas granjas. Geralmente o aparecimento da enfermidade está ligado a fatores como a virulência das cepas de MM, situações de estresse e infecções secundárias (CHIN, 2003). Apesar da alta incidência de aerossaculite produzida por MM, os sinais respiratórios são pouco comuns. Outros sinais estão relacionados com anormalidade esquelética chamada TS-65, ou síndrome de deficiência de aerossaculite com infecção de MM. Esta síndrome causa sinais de encurvamento, torção e encurtamento do osso metatarsiano, inchaço da articulação tibiotarsiana e deformação das vértebras cervicais (CERDA, 2009). Outras manifestações incluem diminuição da eclodibilidade e pobre performance de crescimento (CHIN, 2003). A presença de aerossaculite grave, frequentemente está relacionada à associação com *Mycoplasma iowae* (MI), assim como a sinusite ao sinergismo com *Mycoplasma synoviae* (CERDA, 2009).

*Mycoplasma iowae* tem sido associado com redução da eclodibilidade (2-5%) e mortalidade embrionária em perus (FIORENTIN, 2009). Apesar de possuir como hospedeiro natural o peru, o isolamento de *M. iowae* em frangos não é incomum (BRADBURY et al, 1990b, BENCINA et al., 1987), e também tem sido relatada em gansos (LIN et al.; 1995). Foi demonstrado experimentalmente ser capaz de induzir a mortalidade em perus e embriões de galinha e leve a moderada aerossaculite e anormalidades de perna em frangos e perus (BRADBURY et al, 1988).

## DIAGNÓSTICO DA MICOPLASMOSE AVIÁRIA

O diagnóstico epidemiológico em frangos de corte em idade de abate pode ser realizado por monitoramento sorológico e etiológico (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). A soroaglutinação em placa (SAR), a inibição da hemaglutinação (HI) e o ELISA são testes sorológicos recomendados pelos programas sanitários governamentais para os estabelecimentos avícolas por serem baratos e fáceis de desenvolver e as suas validades têm sido confirmadas (NASCIMENTO et al., 2006).

A SAR é uma prova de baixo custo, fácil e rápida para a realização, sendo o teste de escolha para triagem das amostras (METTIFOGO; BUIM, 2009). Sua maior vantagem é sua alta sensibilidade, permitindo detectar baixos títulos de anticorpos, principalmente IgM nos 7 a 10 dias pós-infecção (CERDÁ, 2007). A interpretação do

teste baseia-se na formação ou não de aglutininas (grumos) após misturar-se o antígeno com o soro na diluição de 1:5 (formação de grumos = amostra suspeita) e de 1:10 (formação de grumos = amostra positiva) (METTIFOGO; BUIM, 2009). Sua utilização tem inconvenientes de especificidade que podem ocorrer por reações falso-positivas com soros de aves vacinadas com bacterinas oleosas ou com infecções de estafilococos e estreptococos (GLISSON et al., 1984). Nestes casos deve-se fazer o tratamento térmico dos soros em banho-maria a 56°C por 30 minutos e diluí-los em solução salina tamponada (PBS) (as reações inespecíficas desaparecem em diluições do soro de 1/10). Os antígenos comerciais disponíveis são poucos e variam em sensibilidade e especificidade, além de poder ocorrer reações cruzadas com outros micoplasmas (CERDÁ, 2007). Outras causas de aglutinação não-específica são: contaminação do soro, congelamento e descongelamento frequentes ou estocagem prolongada das amostras a 4°C (METTIFOGO; BUIM, 2009).

O ELISA é uma técnica que detecta IgG, sendo por isso mais recomendada para a análise de pintinhos de um dia de vida, aos quais não são transferidos IgG materna (CERDÁ, 2007) Por ser uma prova sorológica mais específica, sensível e de boa reprodutibilidade, atualmente tem se utilizado mais o ELISA através de “Kits” comerciais disponíveis desenvolvidos a partir de células íntegras, de células rompidas ou de subunidades de proteínas imunogênicas da membrana do MG, como a proteína p64 (METTIFOGO; BUIM, 2009). Porém, falsas reações podem ocorrer devido ao armazenamento do antígeno, pelas condições das amostras de soro e erro de realização da técnica, assim como reações inespecíficas devido à aplicação de vacinas e reação cruzada com outros micoplasmas (KLEVEN, 1999).

O HI é uma prova de alta especificidade que se emprega geralmente para confirmar os resultados de SAR e ELISA. Possui baixa sensibilidade e detecta IgG entre os 15 a 21 dias pós-infecção. Seu maior inconveniente é a escassa disponibilidade de antígenos comerciais e a obtenção de antígenos com altos títulos hemaglutinantes, assim como sua conservação por longo tempo no laboratório, interpretação e correlação dos resultados. (CERDÁ, 2007)

Para o isolamento, coletam-se fragmentos de tecidos lesados, principalmente sacos aéreos e traquéias, exsudato sinovial e ocular, suaves da traquéia, sacos aéreos, líquido sinovial e exsudato dos seios nasais (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). O isolamento de micoplasmas requer meios específicos (sólido e líquido) e algumas vezes um tempo longo para o diagnóstico, entretanto, confirma a presença do microrganismo. Falsos negativos podem ocorrer em razão do baixo número de microrganismos presentes na infecção, presença de outros organismos de crescimento mais rápido (fungos ou bactérias com estafilococos, estreptococos, *E. coli*, etc.), presença de antibióticos comumente utilizados na ração ou na água e erros na coleta por falta de refrigeração, a não utilização de meios de transporte adequados e inoculação em tempo superior a 24 horas. As colônias apresentam-se em meio sólido sob a forma típica de “ovo frito”, sendo visualizadas com o auxílio de um microscópio estereoscópio após três a cinco dias de cultivo. Devem-se aguardar pelo menos três semanas para considerar uma cultura como negativa, dado que pode ocorrer o crescimento de espécies de interesse dentro desse prazo. Outros micoplasmas não-patogênicos, como *Mycoplasma gallinarum* e *Mycoplasma gallinaceum*, normalmente crescem com maior rapidez, interferindo no isolamento das espécies de interesse (METTIFOGO; BUIM, 2009).

O micoplasma isolado é primeiramente submetido às provas bioquímicas: pelo teste de Dienes, coram-se em azul e outras bactérias ficam incolores; pela

digitonina, verifica-se a dependência de colesterol, não observada no gênero *Acholeplasma*; e ocorre fermentação de glicose, hidrólise de arginina e fosfatase. Depois o microrganismo é submetido às provas sorológicas para fins de tipificação (WHITFORD et al., 1993). As provas de tipificação tradicionalmente utilizadas são Imunofluorescência Direta ou Indireta, Imunoperoxidase e Inibição de Crescimento (YAMAMOTO, 1990). Porém, recentemente, utilizam-se os testes baseados em biologia molecular como a PCR, que tanto detecta quanto tipifica o agente (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009).

No caso de MM, os antígenos não possuem nenhuma relação com as outras espécies de micoplasmas. Para sua identificação, utilizam-se métodos de aglutinação rápida em placa e em tubo, imunofluorescência direta e indireta, inibição de crescimento e fixação do complemento. Algumas cepas apresentam capacidade hemaglutinante, porém esta característica não está relacionada com a virulência, já que cepas sem capacidade hemaglutinante podem ser muito patogênicas (CERDA, 2009).

A resposta humoral para *M. iowae* em perus e frangos é baixa e o diagnóstico é realizado pela cultura, embora vários métodos de detecção foram desenvolvidos (BOYLE et al., 1995; GARCIA et al., 1995; KEMPF et al., 1994). BRADBURY et al. (1990a), JORDAN et al. (1987), RHOADES (1984) e ZHAO; YAMAMOTO (1989), demonstraram a falta de eficiência na detecção do MI no diagnóstico sorológico.

A PCR permite amplificar e analisar DNA, sem a necessidade de cultivo do microrganismo e por isso passou a desempenhar um papel de grande importância no diagnóstico laboratorial (MADIGAN, 2004). Entre as vantagens do diagnóstico molecular, é possível citar a rapidez, a especificidade, a segurança dos resultados, a possibilidade de detecção de agentes de difícil cultivo ou de crescimento muito lento. A sensibilidade observada na PCR é muito útil para a detecção de agentes patogênicos em amostras clínicas provenientes de animais assintomáticos ou em tratamento com antibióticos. Além disso, é possível detectar um organismo patogênico antes que este induza uma resposta imunológica, ou então em hospedeiros imunocomprometidos, demonstrando também vantagens sobre os testes sorológicos (MORENO, 2009).

Alguns fatores interferem no diagnóstico, como o tipo de meio de cultura usado para o isolamento e a identificação do micoplasma (MENEZES, 1997; POLO, 1999), o uso de antimicrobianos (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009), vacinas oleosas e vacinas vivas de MG (MENDONÇA et al., 2001), pois prejudicam o monitoramento (BRASIL, 2001). Na sorologia, fatores como reações cruzadas entre as diferentes espécies de micoplasmas, principalmente entre MG e MS e reações inespecíficas, são problemas ocasionalmente encontrados (NASCIMENTO et al., 1999), além da diferenciação entre a infecção por vacina e por doença não ser feita pelos testes usuais (NASCIMENTO, 2001).

## PREVENÇÃO E CONTROLE

Os prejuízos ocasionados pelas infecções micoplasmáticas provocaram a adoção de estratégias de controle. Tornou-se imprescindível a aquisição de aves de um dia ou ovos férteis livres de MG, MS e/ou MM para os sistemas de engorda, postura e reprodução (NASCIMENTO, PEREIRA, 2009). Em sistemas de produção de frangos de corte, nos quais as aves de reposição são livres de micoplasma, basta o criador cumprir as medidas de biossegurança preconizadas para avicultura e fazer uso de antibioticoterapia, caso surjam lotes com micoplasmose. Em sistemas



fechados de produção, onde se têm aves de reprodução que geram os pintos de corte utilizados para engorda, pode-se optar por programas de vacinação ou tratamento das matrizes, associados ao tratamento preventivo dos frangos obtidos de mães infectadas com micoplasma, desde que este procedimento seja economicamente viável (KLEVEN, 2003). A condição de ave livre de MG, MS e MM podem ser obtidas com o tratamento dos ovos férteis por soluções de antibiótico por ovo-injeção e/ou ovo-imersão ou por aquecimento (BRASIL 2001; FIORENTIN et al., 1992).

O tratamento da infecção das aves por micoplasmas com antimicrobianos diminui o índice de manifestações clínicas e conseqüentemente o risco de transmissão transovariana para um nível inferior a 0,1% (ORTIZ et al., 1995). Micoplasmas são resistentes a antibióticos  $\beta$ -lactâmicos que atuam na parede celular, como a penicilina e a cefalosporina (KLEVEN, 2008), mas são sensíveis a tetraciclina, macrolídeos, quinolonas ou tialumin. Procedimentos para o teste da sensibilidade *in vitro* dos micoplasmas foram publicados por HANNAN (2000). Drogas que se acumulam em alta concentração nas membranas mucosas dos trato respiratório e genitourinário, como tialumin e enrofloxacina, são frequentemente preferidos (STIPKOVITS; KEMPF, 1996). O uso de antimicrobianos diminui a transmissão transovariana, sinais clínicos e lesões, porém seu uso contínuo pode resultar no desenvolvimento de resistência (KLEVEN, 2008).

O diagnóstico etiológico das micoplasmoses é comprometido pelos antimicrobianos, uma vez que eles bloqueiam ou reduzem a resposta imune e força os micoplasmas a escaparem ou esconderem-se em tecidos infectados, os tornando não detectados por cultura e PCR. Esta situação pode ser revertida pela suspensão do tratamento com as drogas (KEMPF, 1991; NASCIMENTO et al., 1999).

Por outro lado, a vacinação é realizada com o objetivo de reduzir os altos custos dos tratamentos com antibióticos, e ao longo do tempo, minimizar as novas infecções. Existem no mercado dois grupos de vacinas: as inativadas e as atenuadas. As vacinas inativadas são mais seguras por não causarem a doença nas galinhas e em espécies mais suscetíveis, como os perus (METTIFOGO, FERREIRA, 2006). As vacinas inativadas para MG, bacterinas, não lograram boa aceitação devido ao alto custo de produção, aplicação individual nas aves, baixa antigenicidade e persistência de anticorpos vacinais (METTIFOGO, FERREIRA, 2006), mas atualmente são recomendadas em determinadas situações, principalmente pela inexistência de riscos, por não serem infecciosas para aves não vacinadas, não dificultarem o diagnóstico micoplasmológico e nunca apresentarem problema de reversão de patogenicidade (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). Contra o MG, existem quatro vacinas vivas disponíveis no mercado: a cepa Conn-F (MG-F), ts-11, 6/85 e MG-70 que apesar de não evitarem a transmissão transovariana, podem diminuir a queda na produção de ovos.

A cepa viva ts-11 (temperature-sensitive) é uma cepa que sofreu mutação em laboratório induzida por agentes químicos (METTIFOGO; BUIM, 2009). Ela apresenta a habilidade de se multiplicar na temperatura do trato respiratório superior, a 33°C, não se multiplicando quando exposta à temperatura do interior do corpo das aves (WHITHEAR et al, 1990a; 1990b). É capaz de persistir colonizando a traquéia por até 15 semanas após a inoculação (WHITHEAR, 1996). A cepa ts-11 só pode ser administrada via oral, induz uma lenta resposta de anticorpos, não causa lesões nos sacos aéreos ou nos pulmões e sua transmissibilidade é baixa ocorrendo apenas nas aves que estão em contato direto ou que consomem a mesma ração e água das aves vacinadas (ABD-EL-MOTELIB & KLEVEN, 1993; BARBOUR, 2000;

BIRO, 2005; COLLETT, 2005; WHITHEAR, 1996). A transmissão desta cepa para aves alojadas próximas às vacinadas, sem que estejam em contato direto, dificilmente ocorre, mesmo quando se trata de aves SPF sentinelas (METTIFOGO; BUIM, 2009).

A cepa 6/85 é preferencialmente administrada via aerossol (pulverização), e não coloniza efetivamente a traquéia das aves por um longo prazo (METTIFOGO; BUIM, 2009). Foi detectável no trato respiratório superior, durante 4-8 semanas após vacinação e não induziu uma resposta sorológica detectável (ABD-EL-MOTELIB & KLEVEN, 1993; EVANS et al, 1992; LEY et al., 1997). Sua transmissibilidade é baixa ou inexistente para aves alojadas próximas (LEY et al., 1997; FEBERWEE et al., 2006)

A cepa Conn-F, utilizada no estudo, foi isolada e caracterizada por pesquisadores da Universidade de Connecticut (Estados Unidos), e há muitos anos vem sendo utilizada nos programas de vacinação, principalmente em poedeiras. Lembrando que em lotes com a infecção por MG podem apresentar a uma queda de aproximadamente 15 ovos/ave se comparada com aves livres de MG, o uso da cepa F em lotes infectados pode amenizar a queda de produção para aproximadamente 8 aves/ave (METTIFOGO; BUIM, 2009). A vacina F pode ser administrada por via ocular, pulverização ou na água de beber (NASCIMENTO et al., 2006). A administração da vacina por pulverização aos 21 dias de idade estimula a imunidade mais efetivamente do que a vacinação ocular aos sete dias de idade. No entanto, a pulverização pode induzir lesões nos sacos aéreos e sintomatologia respiratória (LIN; KLEVEN, 1984b). De acordo com LIN & KLEVEN (1984b) a cepa F, mesmo depois de muitas passagens, não afeta o peso corporal das aves. LIN & KLEVEN (1984a) descreveram que as doses de MG-F, que variaram entre 105 e 109 unidades formadoras de colônias/ml, reduziram significativamente o grau de lesões nos sacos aéreos, depois de um desafio por aerossol com a cepa R de MG após 6 semanas depois da vacinação, sem importar o método de conservação ou armazenamento da vacina (fresca, depois de liofilizada ou depois de congelada a -60°C). Em longo prazo, o programa de vacinação com a cepa F em plantéis de postura confere bons níveis de proteção a esses lotes, deslocando as cepas de campo de MG ou diminuindo o número destes no trato respiratório das galinhas vacinadas; sendo um diferencial entre as outras cepas vacinais (ts-11 e 6/85) que não possuem boa transmissibilidade aos lotes (METTIFOGO; BUIM, 2009). LIN & KLEVEN (1982) demonstraram a transmissibilidade em ovos da cepa F de *Mycoplasma gallisepticum* (MG-F) em 53 frangas; isolando MG-F a partir dos ovos e embriões. MG-F foi isolado a taxas de 1,59% a partir de ovos de galinhas expostas por aerossol para a cepa F e 0,00% a partir de ovos de galinhas expostas a cepa F via gota ocular.

No mercado brasileiro está disponível para uso em poedeiras comerciais uma vacina viva contra MS que tem como base a cepa mutante termossensível MS-H, a qual deve ser aplicada por via ocular entre 4 e 16 semanas de idade. Esta vacina foi desenvolvida na Austrália a partir de uma cepa de campo, isolada neste País, selecionada por mutagêneses (MORROW et al., 1990). A segurança e eficácia desta vacina têm sido testadas em condições laboratoriais (MARKHAM et al., 1998a; 1998b) e à campo (MARKHAM et al., 1998c).

A vacina viva é aconselhável para poedeiras e não deve ser usada em reprodutoras por prejudicar o diagnóstico e, principalmente, o monitoramento epidemiológico (BRASIL, 1994, BRASIL, 2001). A eficiência das vacinas vivas reside no estímulo de respostas imunes de base celular e humoral e como instrumento de

exclusão competitiva em relação a cepas de campo nas granjas avícolas (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009).

Além dessas medidas, para MM e MI, devem-se adotar medidas de controle na extração de sêmen e na inseminação, detecção de machos portadores por se tratar de uma doença sexualmente transmissível; assim como tratamento dos ovos por imersão ou injeção de antibióticos, incubação de ovos livres separadamente de ovos contaminados, já que as vacinas não estão disponíveis para estas enfermidades (AL-ANKARI, 1996; CERDA, 2009).

Um consistente sistema de monitoramento é essencial para a prevenção de infecção por micoplasma. Para implementação do controle da infecção micoplásmica, assim como de outras enfermidades aviárias importantes, programas voluntários para criadores de aves reprodutoras têm sido desenvolvidos por órgãos governamentais em parceria com a iniciativa privada, a exemplo do “National Poultry Improvement Plan” – NPIP nos EUA e do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) em nosso País (BRASIL, 1994). De acordo com esses programas, as aves reprodutoras, devem ser acompanhadas por monitoramento sorológico ou micoplasmológico para MG, MS ou MM, seguindo procedimentos epidemiológicos de amostragem e monitoramento com periodicidade não superior a três meses. Os testes utilizados no monitoramento são os mesmos usados no diagnóstico: SAR, HI e ELISA, além do diagnóstico microbiológico, que envolve isolamento e tipificação ou PCR (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da etiopatogenia das micoplasmoses, visando a prevenção, o controle nas criações avícolas e a adoção de medidas oficiais para o monitoramento e adequação das normas de Defesa Sanitária Animal são cruciais para manter o país em posição de destaque na cadeia produtiva de carne de frango e ovos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-EL-MOTELIB, T. Y.; KLEVEN, S. H. A comparative study of *Mycoplasma gallisepticum* vaccines in young chickens. **Avian Diseases**, v.37. p.981–987, 1993.

AL-ANKARI, ABDUL-RAHMAN S.; BRADBURY J. M. *Mycoplasma iowae*: a review. **Avian Pathology**, n.25, p.205-229, 1996.

BARBOUR, E. K., HAMADEH, S. K.; EID, A.. Infection and immunity in broiler chicken breeders vaccinated with a temperature-sensitive mutant of *Mycoplasma gallisepticum* and impact on performance of offspring. **Poultry Science**, v.79. p.1730–1735, 2000.

BENCINA, D. I; MRZEL, T. T.; DORRER, D. *Mycoplasma* spp in chicken flocks with different management systems. **Avian Pathology**, n.16, p.599-608, 1987.

BIRO, J.; POVAZSAN, J.; KOROSI, L.; GLAVITS, R.; HUFNAGEL, L.; STIPKOVITS L. Safety and efficacy of *Mycoplasma gallisepticum* TS-11 vaccine for the protection of layer pullets against challenge with virulent *M. gallisepticum* R-strain. **Avian Pathology**, v.34. p.341–347, 2005.

BOYLE, J.S.; GOOD, R.T.; MORROW, C.J. Detection of the turkey pathogens *M. meleagridis* and *M. iowae* by amplification of genes coding for rRNA. **Journal of Clinical Microbiology**, n.33, p.1335-1338, 1995.

BRADBURY, J.M.; IDERIS, A.; Oo, T.T. *Mycoplasma iowae* infection in young turkeys. **Avian Pathology**, n.17, p.149-171, 1988.

BRADBURY, J.M.; MCCARTHY, J.D.; METWALI, A.Z. Microimmunofluorescence for the serological diagnosis of avian mycoplasma infections. **Avian Pathology**, n.19, p.213-222, 1990a.

BRADBURY, J.M., GRANT, M., BAXTER-JONES, C.; WILDING, G.P. *Mycoplasma iowae*: the current situation. **Proceedings of the 39th Western Poultry Disease Conference**, Sacramento, California, p. 49-50, 1990b.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Secretaria da Defesa Agropecuária, Departamento de Defesa Animal. Brasília, DF. Programa Nacional de Sanidade Avícola, 1994.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Secretaria da Defesa Agropecuária, Departamento de Defesa Animal. Normas Técnicas para o Controle e a Certificação de Núcleos ou Estabelecimentos Avícola Livres das Micoplasmoses Aviárias. **Diário Oficial da União**, nº124, Seção1. Brasília, DF, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Normas Técnicas para o Controle e a Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas para a Micoplasmose Aviária (*Mycoplasma gallisepticum*, *synoviae* e *meleagridis*). Publicado no Diário Oficial da União de 24/08/2001, Seção 1, p.68.

BUENO, R.C.; NAKANO, M.; BAQUER, S.R. Doenças de aves em São Paulo (análise de 28.174 casos). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.29, p.231-270, 1962.

BUENO, R.C.; BAQUER, S.R., NAKANO, M. Doenças de aves em São Paulo (análise de 24.217 casos). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.29, p.231-270, 1971.

BUIM, M. R. Micoplasmose aviária. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p. 23-26, 2007.

CERDÁ, R.O. *Mycoplasma meleagridis*. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.J.P. E ORGANIZADORES. **Patologia Aviária**. Editora Manole LTDA., Barueri-SP, 2009. p.108-110.

CERDÁ, R.O. Medidas de Prevención y Control de la Micoplasmosis en Latinoamérica. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 20., 2007, Porto Alegre **Anais...**Porto Alegre: Centro de Eventos Fingers, 2007. p.111-124.

CHIN, R. P.; YAN GHAZIKHANIAN, G.; KEMPF, I. *Mycoplasma meleagridis* Infection. In: SAIF, Y.M.; BARNES, H.J., FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.;

MCDUGALD, L.R.; SWAYNE, D.E. **Diseases of poultry**. Ames: Iowa State University Press, 11 th, 2003. p. 719-721.

COELHO, H. E. **Patologia das Aves**. São Paulo: Editora Tecmed, 2006. 196p.

COLLETT, S. R.; THOMSON, D. K., YORK, D.; BISSCHOP S. P. R. Floor pen study to evaluate the serological response of broiler breeders after vaccination with ts-11 strain *Mycoplasma gallisepticum* vaccine. **Avian Disease**, v.49. p.133–137, 2005.

DAVIS, B.D. ; DULBECCO, R. ; EISEN, H.N. ; GINSBERG, H.S., WOOD, W.B. Infecções bacterianas e micóticas. São Paulo (SP) : EDART ; 1973.

DELAPLANE, J.P.; STUART, H.O. The propagation of a virus in embryonated chicken eggs causing a chronic respiratory disease of chickens. **American Journal of Veterinary Research**, v.4, p.325-32, 1943.

DODD, S. Epizootic pneumo-enteritis of the turkey. **Journal Comparative Pathology**, v.18, p.239-245, 1905.

DUFOUR-GESBERT, F.; DHEILLY, A.; MAROIS, C.; KEMPF, I. Epidemiological study on *Mycoplasma synoviae* infection in layers. **Veterinary Microbiology**, v. 114, n. 1-2, p. 148-54, 2006.

EVANS, R. D.; HAFEZ, Y. S. Evaluation of a *Mycoplasma gallisepticum* strain exhibiting reduced virulence for prevention and control of poultry mycoplasmosis. **Avian Disease**, v. 36. p.197–201,1992.

FEBERWEE, A.; WIT, J.J.; LANDMAN, W.J.M. Induction of eggshell apex abnormalities by *Mycoplasma synoviae*: field and experimental studies. **Avian Pathology**, v. 38, n. 1, p.77–85, 2009.

FIORENTIN, L. *Mycoplasma iowae*. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.J.P. E ORGANIZADORES. **Patologia Aviária**. Editora Manole LTDA., Barueri-SP, 2009. p.108-110.

FIORENTIN, L.; BALEN, L.; FIALHO, F.B. Patogenicidade de amostras de *Mycoplasma synoviae* isoladas no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1992, Santos, SP. **Anais...** Santos: Facta. 1992. p.207.

FEBERWEE, A.; LANDMAN, W. J.M.; BANNISEHT-WYSMULLER, T.; KLINKENBERG, D.; VERNOOIJ, J. C.M.; GIELKENS, A. L. J.; STEGEMAN, J. A. The effect of a live vaccine on the horizontal transmission of *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Pathology**, v. 35. p.359–366, 2006.

FURLAN, R.L. Anatomia - Fisiologia In: BERCHIERI JÚNIOR, A.& MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2009. p. 153-172.

GARCIA, M., JACKWOOD, M.W., LEVISOHN, S. & KLEVEN, S.H. Detection of *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae* and *M. iowae* by multi-species PCR and restriction fragment length polymorphism. **Avian Diseases**, n.39, p.606-616, 1995.

GARUST, A.T.; NOBREGA, O. Doença crônica respiratória no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v.23, p.35-38, 1956.

GLISSON, J.R.; DAWE, J.F.; KLEVEN, S.K. The effect of oil-emulsion vaccines on the occurrence of nonspecific plate agglutination reactions for *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae*. **Avian Diseases**, v.28, p.397-405, 1984.

HANNAN, P.C.T. Guidelines and recommendation for antimicrobial minimum inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species. **Veterinary Research**, v.31, p. 373-395, 2000.

JORDAN, F.T.W., YAVARI, C. & KNIGHT, D. Some observations on the indirect ELISA for antibodies to *Mycoplasma iowae* serovar in sera from turkeys considered to be free from mycoplasma infections. **Avian Pathology**, v.16, p.307-318, 1987.

KEMPF, I. Influence of the administration of antibiotics on the diagnosis of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. **Point- Veterinaire**, v.23, p.767-773. 1991.

KEMPF, I., BLANCHARD, A., GESBERT, F., Guittet, M. & BENNEJEAN, G. Comparison of antigenic and pathogenic properties of *Mycoplasma iowae* strains and development of a PCR-based detection assay. **Research in Veterinary Science**, v.56, 179-185, 1994.

KLEVEN, S.H. Control of Avian Mycoplasma Infections in Commercial Poultry. **Avian Diseases**, v.52. p.367-374, 2008.

KLEVEN, S.H. Control y Erradicación de Micoplasmosis. In: **Congreso Latinoamericano de Avicultura**, 16. , 1999, Peru. **Anais...Peru: Asociacion Peruana de Avicultura**, 1999. p.19-23.

KLEVEN, S.H. Mycoplasmosis. In: SAIF, Y.M.; BARNES, H.J., FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.; MCDOUGALD, L.R.; SWAYNE, D.E. **Diseases of poultry**. Ames: Iowa State University Press, 11 th, 2003. p. 719-721.

KLEVEN, S.H.; KING, D. D.; ANDERSON, D.P. Airsacculitis in Broiler from *Mycoplasma synoviae*: Effect on air-sac lesions of vaccinating with infectious bronchitis and Newcastle virus. **Avian Diseases**, v.16, n.4, p.915-24, 1972.

LANCASTER, V.T.; FABRICANT, J. The history of Avian Medicine in the United States. IX. Events in the history of Avian Mycoplasmosis, 1905-70. **Avian Diseases**, v.32, p.607-623, 1988.

LEY, D.H. *Mycoplasma gallisepticum* infection. In: SAIF, Y.M.; BARNES, H.J., FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.; MCDOUGALD, L.R.; SWAYNE, D.E. **Diseases of poultry**. Ames: Iowa State University Press, 11 th, 2003.p. 722-744.

LEY, D. H.; MCLAREN, J. M.; MILES, A. M.; BARNES, H. J.; MILLER, S. H.; FRANZ, G. Transmissibility of live *Mycoplasma gallisepticum* vaccine strains ts-11 and 6/85

from vaccinated layer pullets to sentinel poultry. **Avian Disease**, v.41. p.187–194, 1997.

LEY, D.H.; BERKHOFF, J.E.; LEVISOHN, S. Molecular epidemiologic investigation of *Mycoplasma gallisepticum* conjunctivitis in songbirds by random amplified polymorphic DNA analyses. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, p.375-380, 1997.

LIN, M. Y. ; KLEVEN, S. H. Egg Transmission of Two Strains of *Mycoplasma gallisepticum* in Chickens. **Avian Diseases**, v.26, n.3, p. 487-495, 1982.

LIN, M. Y.; KLEVEN, S. H. Correlation of titer, preservation method, and storage of *Mycoplasma gallisepticum* F strain and the immune response in chickens. **Avian Diseases**, v. 28, n.1, p. 273-277, 1984 a.

LIN, M. Y.; KLEVEN, S. H. Evaluation of Attenuated Strains of *Mycoplasma gallisepticum* as Vaccines in Young Chickens. **Avian Disease**, v. 28, n. 1, p. 88-99, 1984b.

LIN, M. Y.; LIN, S. S.; SU, W. S.; LAN, Y. C.; CHUNG, I. C. Isolation and identification of avian mycoplasmas from geese in Taiwan. **Journal of the Chinese Society of Veterinary Medicine**, n.21, p.347-353, 1995.

MADIGAN, M.T.; MARTUSKO, J.M.D.; PARKES, J. **Microbiologia de Brock**. 10.ed. São Paulo, Cap.10, 2004. p.294-296.

MARKHAM, J. F.; MORROW. C. J.; SCOTT, P. C. ; WHITHEAR, K. G. Safety of a temperature-sensitive clone of *Mycoplasma synoviae* as a live vaccine. **Avian Diseases**, v. 42, p.677- 81, 1998a.

MARKHAM, J. F.; MORROW. C. J.; WHITHEAR, K. G. Efficacy of a temperature-sensitive *Mycoplasma synoviae* live vaccine. **Avian Diseases**, v 42, p..671- 76, 1998b.

MARKHAM, J. F.; SCOTT, P. C. ; WHITHEAR, K. G. Field evaluation of the safety and efficacy of a temperature-sensitive *Mycoplasma synoviae* live vaccine. **Avian Diseases**, v. 42, p.682- 89, 1998c.

MENDES, A.A.; NAAS, I.A.; MACARI, M. **Produção de frangos de corte**. Facta-Campinas, SP. 2004. 356 p.

MENDONÇA, G.A.; NASCIMENTO, E.R.; LIGNON, G.B.; NASCIMENTO, M.G.F., DANELLI, M.G.M. Efeito da vacina MG-F de *Mycoplasma gallisepticum* na soroconversão de galinhas poedeiras com sintomas respiratórios. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.23, nº4, p.160-162, 2001

MENEZES, C.C.P.; DANIELLI, M.G.M.; NASCIMENTO, E.R.; FERRAZ, P.N.; LIZEU, J.O.P. Avaliação do Crescimento de *Mycoplasma gallisepticum* em meio líquido: Comparação entre o meio de Hayflick e meio Frey. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, 7. 1997, Seropédica, RJ, BR. **Anais...Seropédica:imprensa Universitária**, 1997.

METTIFOGO, E.; BUIIM, M.R. *Mycoplasma gallisepticum*. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.J.P. E ORGANIZADORES. **Patologia Aviária**. Editora Manole LTDA., Barueri-SP, 2009. p.86-100.

METTIFOGO, E.; FERREIRA, A.J.P. Micoplasmose Aviária. In: ANDREATTI FILHO, R.L. **Saúde Aviária e doenças**. Editora Roca LTDA, São Paulo, 2006. 510 p.

MORENO, A.M. Técnicas moleculares de diagnóstico. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.J.P. E ORGANIZADORES. **Patologia Aviária**. Editora Manole LTDA., Barueri-SP, 2009. 510p.

MORROW, C.J.; BELL, I.G.; WALKER, S.B.; MARKHAM, P.F.; THORP, B.H.; WHITHEAR, K. G. Isolation of *Mycoplasma synoviae* from infectious synovitis of chickens. **Australian Veterinary Journal**, v.67, p.121-4, 1990.

NASCIMENTO, E.R. Micoplasmose Aviária: Situação atual e Perspectivas. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4. 2001, Pernambuco. **Anais...** Pernambuco: 2001, p.52-54.

NASCIMENTO, E.R.; PEREIRA, V.L.A. Micoplasmoses. In: DI FABIO, J.; ROSSINI, L.I. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2009, p.485-500.

NASCIMENTO, E.R.; FERREIRA NETO, S.M.; GALLETI, M.C.M. NASCIMENTO, M.G.F.; LIGNON, G.B.; MENDONÇA, G.A. Chicken *Mycoplasma gallisepticum* infection, diagnosed by agent detection, hemagglutination inhibition, but not agglutination. In: AVMA CONFERENCE/AAAP MEETING, 1999; New Orleans, USA. p.56

NASCIMENTO, E.R.; PEREIRA, V.L.A.; NASCIMENTO, M.G.F.; BARRETO, M.L. Avian Mycoplasmosis Update. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.7, n.1, p. 01 – 09, 2005.

NASCIMENTO, E.R.; POLO, P.A.; PEREIRA, V.L.A.; BARRETO, M.L.; NASCIMENTO, M.G.F.; ZUANAZE, M.A.F.; CORRÊA, A.; SILVA, R.C.F. Serologic Response of Spf Chickens to Live Vaccines and other Strains of *Mycoplasma gallisepticum*. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.8, n.1, p.45-50, 2006.

NASCIMENTO, E.R.; NASCIMENTO, M.G.F., RODRIGUES, O.P.; MENDONÇA, G.A.; LIGNON, G.B.; DIAS, S.A.C; ITO; J.Y. Avaliação de antimicrobianos no tratamento da doença respiratória crônica por *Mycoplasma gallisepticum* e *Escherichia coli* em frangos de corte. **Brazilian Journal of Poultry Science**, supl: p.72, 1999.

NOCARD, E.; ROUX, E.R. Le microbe de La peripneumonie. Ann. **Instituto Pasteur Paris**, v.12, p.240-262. 1898.

NUNOYA, T; KANAI, K.; YAGIHASHI, T., HOSHI, S.; SHIBUYA, K.; TAJIMA, M. Natural case of salpingitis apparently caused by *Mycoplasma gallisepticum* in chickens. **Avian Pathology**, v.26, p.391-398,1997.



OLIVEIRA, R.L. Micoplasmoses animais. Frequência de *Mycoplasma gallisepticum* em galinhas em Minas Gerais. **Arquivos da Escola de Veterinária**; Belo Horizonte, v.25, 1973. 271p.

ORTIZ, A.; FROYMAN, R.; KLEVEN, S.H. Evaluation of enrofloxacin against egg transmission of *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Diseases**, v.39, p.830-836, 1995.

POLO, P.A.; NASCIMENTO, E.R.; LIGNON, G.B.; DANELLI, M.G.M.; MENDONÇA, G.A.; NASCIMENTO, M.G.F. Efeito do Tratamento Ácido do soro utilizado no meio de cultura sobre o crescimento de *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20. 1999, Salvador, BA, BR. **Anais...** Rio de Janeiro, RJ: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1999.v.1, p.167.

PRUTHI, A. K. ;KHAROLE; M. U. Sequential Pathology of Genital Tract in Chickens Experimentally Infected with *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Diseases**, v. 25, n. 3. p. 768-778,1981.

RAZIN, S.; TULLY, J.G. Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology: Molecular Characterization. Academic Press; San Diego, Califórnia. USA. v.1, p. 215-265, 1995.

REIS, S.; NOBREGA, P. Tratado de Doenças das Aves. 2nd: 234. São Paulo: Instituto Biológico,1955.

RESENDE, M.; REIS, R.; ORNELLAS-SANTOS, P.P. Micoplasma de origem aviária. Isolamento e agrupamento sorológico. **Arquivos da Escola de Veterinária; Belo Horizonte**, v.20, p.175-185, 1968.

RHOADES, K.R. Comparison of strains of *Mycoplasma iowae*. **Avian Diseases**, v.28, 710-717, 1984.

ROSENBUSCH, R. F. Biology and Taxonomy of the Mycoplasmas. In: WHITFORD, H. W.; ROSENBUSCH, R. F.; LAUERMAN, L. H. **Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis**. Iowa: Iowa State University Press/Ames, Cap.1, p.3-11, 1994.

SCHEFFER, A. Principais causas de condenação de carcaças de aves em abatedouros sob Inspeção Federal no Estado de Santa Catarina. In: ANAIS DO IV SIMPÓSIO DE PESQUISA DE SUÍNOS E AVES E I SIMPÓSIO CATARINENSE DE SANIDADE AVÍCOLA, 1985, p.159-181.

SESTI, L.; ITO, N.M.K. Fisiopatologia do Sistema Reprodutor In: DI FABIO, J.; ROSSINI, L.I. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2009. p. 315- 80.

STIPKOVITS, L.; KEMPFT, I. Mycoplasmosis in poultry. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v.15, p.1495-1525, 1996.

TIMENETSKY, J. Micoplasmose- conceitos gerais. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.J.P. E ORGANIZADORES. **Patologia Aviária**. Editora Manole LTDA., Barueri-SP, 2009. p.82-85.

ZHAO, S.; YAMAMOTO, R. Heterogeneity of *Mycoplasma iowae* determined by restriction enzyme analysis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 1, p.165-169, 1989.

YAMAMOTO, R. Mollicutes. In: BIBERSTIEIN, E.L.; ZEE, Y.C.; EDITORS. Review of veterinary microbiology. Chicago: **Blackwell Scientific Publications**, p.213-227, 1990.

WHITFORD, H.W. Isolation of Mycoplasmas from Clinical Specimens. In: WHITFORD, H.W.; ROSENBUSH, R.F.; LAUERMAN, L.H. **Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis**. Iowa: Iowa State University Press/Ames, 1993, p.12-14.

WHITHEAR, K. G. Control of avian mycoplasmoses by vaccination. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v.15. p.1527–1553, 1996.

WHITHEAR, K. G., SOERIPTO, HARRIGAN, K. E.; GHIOCAS, E. Immunogenicity of a temperature sensitive mutant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine. **Australian Veterinary Journal**, v. 67. p.168–174, 1990a.

WHITHEAR, K. G., SOERIPTO, HARRIGAN, K. E.; GHIOCAS, E. Safety of temperature sensitive mutant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine. **Australian Veterinary Journal**, v. 67. p.159–165, 1990b.