

REAÇÕES SOROLÓGICAS CONTRA *Mycoplasma gallisepticum* EM AVES DE POSTURA DE GRANJAS COMERCIAIS NO ESTADO DE SÃO PAULO

(SEROLOGICAL RESPONSE OF COMMERCIAL LAYING HENS TO *Mycoplasma gallisepticum* IN POULTRY FARMS IN SÃO PAULO STATE)

L. M. CORREZOLA^{1,2}, F. G. BUCHALA², S. M. M. VITAGLIANO², R. S. JORDÃO³,
M. R. BUIM³, C. DEL FAVA^{3*}

RESUMO

Avaliaram-se reações sorológicas contra *Mycoplasma gallisepticum* em aves de postura comercial no Bolsão de Bastos e no Município de Guatapar, Estado de São Paulo, no período junho-julho/2009, utilizando a soroaglutinao rápida (SAR) como triagem e o ELISA como teste confirmatório. No Bolsão de Bastos, na SAR observou-se sororreatividade total de 88,2% (566/642), sendo para aves não vacinadas contra *M. gallisepticum* 85,5% (196/229) e vacinadas 89,5% (370/413), e pelo ELISA, reatividade total 89,8% (577/642), para aves não vacinadas 97,40% (233/229) e aves vacinadas 85,7% (354/413). Em Guatapar, todas as granjas amostradas utilizavam vacinao (cepa ts-11); a proporo de reagentes na SAR foi 76,5% (108/141) e no ELISA 97,20% (137/141). No Bolsão de Bastos, onde as aves não vacinadas apresentaram elevados índices de sororreatividade simultaneamente na SAR e no ELISA, 84,30% (193/229), não foram observados casos clínicos da infeco, fato que pode ser atribuído  difusão de cepas vacinais vivas (F ou ts-11), que possuem baixa patogenicidade e imunizam as aves contra as cepas de campo. O grande percentual de aves imunizadas, nas duas regiões, que foram reagentes simultaneamente na SAR e no ELISA – 84,00% (465/554) ou reagentes somente ao ELISA – 8,80% (49/554) e a ausência de sinais clínicos indica que houve pouca falha vacinal, com a vacina protegendo-as da doença crnica respiratória.

PALAVRAS-CHAVE: Aves de postura comercial. Doença crnica respiratória. Micoplasmose. Sorodiagnstico.

SUMMARY

The seroreactivity of commercial laying hens for *Mycoplasma gallisepticum* was evaluated by plate seroagglutination test (SAR) and ELISA, a screening and confirmatory test, respectively. The trial run during June and July, 2009 in poultry farms located in the Bastos region and in the city of Guataparã, SP. The Bastos region total seroreactivity for SAR was 88.2% (566/642), from which 85.5% (196/229) non-vaccinated and 89.5% (370/413) vaccinated laying hens. Whereas total seroreactivity for ELISA was 89.8% (577/642), from which 97.40% (233/229) non vaccinated and 85.7% (354/413) vaccinated laying hens. In the municipality of Guataparã, all the flocks were vaccinated against *M. gallisepticum*, and seroreactivity rates were 76.5% (108/141) for SAR and 97.20% (137/141) for ELISA. In the region of Bastos, 84.30% (193/229) of the non- vaccinated hens were simultaneously reactive to SAR and ELISA; however, there was no clinical case of infection, and this high rate of seroreactivity may be due to the diffusion of live vaccine strain (ts-11 or F), which have low pathogenicity and immunize hens against wild strains. The high rate of vaccinated hens in both regions simultaneously reactive to SAR and ELISA, 84.00% (465/554) or the 8.80% (49/554) reactive to ELISA only, as well as the absence of clinical signs show low vaccine failure and its effectiveness in protecting the flocks against chronic respiratory disease.

KEY-WORDS: Chronic respiratory disease. Commercial laying hens. Mycoplasmosis. Sorodiagnosis.

¹Mdico Veterinário da Associao Paulista de Avicultura e aluno de Mestrado do curso de Pós-Graduao *strictu sensu* em Sanidade Animal, Segurança Alimentar e o Ambiente – Instituto Biológico/SP.

²Mdicos Veterinários da Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo, Campinas/SP.

³Pesquisadores Científicos do Instituto Biológico/APTA – Av. Conselheiro Rodrigues Alves 1252, Bairro Vila Mariana, CEP 04014-002. São Paulo/SP/Brasil. fax (11) 5087-1710. Autor para correspondência: deljava@biologico.sp.gov.br

INTRODUÇÃO

O *Mycoplasma gallisepticum* é um dos principais problemas da avicultura mundial, por causar doença crônica respiratória (DCR), aerossaculite e ser transmitido verticalmente pelo ovo. As perdas econômicas são devidas a queda na produção e na qualidade dos ovos (NOORMOHAMMADI et al., 2002), baixa eclodibilidade, alta taxa de pintos refugados, baixa eficiência alimentar, condenação de carcaças, alto custo com medicação, resistência bacteriana e restrições comerciais (METTIFOGO & BUIM, 2009).

O Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) prevê o monitoramento oficial de aves reprodutoras (matrizes, avós e núcleos genéticos) para *M. gallisepticum*, *M. synoviae* e/ou *M. meleagridis*, seguindo procedimentos epidemiológicos de amostragem e periodicidade. Os testes diagnósticos de triagem são a Soroaglutinação Rápida (SAR), e os confirmatórios, Inibição da Hemaglutinação (HI) ou ELISA, além de isolamento e tipificação e/ou PCR. Adicionalmente, podem-se testar frangos de corte antes e durante o abate, e aves de postura comercial nas granjas (BRASIL, 1994).

Embora o *M. gallisepticum* não seja controlado oficialmente nas granjas de postura comercial, estudos soroepidemiológicos utilizando a SAR foram realizados no Brasil. No Rio de Janeiro, Danelli et al. (1999) encontraram 17% (11/64) de aves sororreagentes não vacinadas, Mendonça et al. (2003) observaram 41,7%, e Simas et al. (2008), 94% (47/50). No Rio Grande do Sul, Rauber et al. (2004) constataram nas granjas A - 26% (7/27), B - 56,6% (34/60) e C - 18,1% (27/149). Em Minas Gerais, Santos et al. (2007), em frangas não vacinadas, 2% (6/300).

A vacina viva é recomendada para galinhas poedeiras comerciais para reduzir as perdas produtivas e prevenir a transmissão da infecção (NASCIMENTO, 2000). O uso de vacina viva contra o *M. gallisepticum* acarreta resposta imune fraca, enquanto títulos de anticorpos elevados no ELISA indicam que os grupos vacinados estão enfrentando desafio de campo, sendo necessário verificar a presença de sinais clínicos (BUTCHER, 2009; MUÑOZ et al., 2009).

Tendo em vista a representatividade econômica da avicultura de postura comercial em duas regiões do Estado de São Paulo: Bolsão de Bastos e Município de Guataparã, bem como a escassez de dados relativos à presença do *M. gallisepticum* nesta atividade, o presente trabalho avaliou a ocorrência de reações sorológicas, utilizando a SAR como triagem e o ELISA como teste confirmatório, bem como a resposta humoral das aves segundo a vacinação, a fase da produção e a faixa etária.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas amostras de sangue de aves de postura comercial de duas regiões representativas do Estado de São Paulo, Bastos e Guataparã.

A região de Bastos está localizada na Nova Alta Paulista, entre a latitude 21°55'19" sul e a longitude 50°44'02" oeste, com altitude de 445 metros e área de 170,454 km²; possui o maior plantel de galinhas de postura e a maior produção de ovos do Brasil (CDA, 2009). O Bolsão de Bastos é uma região criada pela Resolução SAA-27, de 30/09/2003, que compreende outros 16 municípios além de Bastos, entre os quais Iacri, Osvaldo Cruz e Tupã. Responde por 15% do plantel nacional de aves de postura, conta com 15 milhões de aves e produz mais de 8,6 milhões de ovos por dia (SÃO PAULO, 2003). Utilizou-se o banco de dados do Sindicato Rural de Bastos/SP para a seleção das granjas, considerando-se como principal critério a presença ou ausência de vacinação contra micoplasmose.

O Município de Guataparã localiza-se na região de Ribeirão Preto, nordeste do Estado de São Paulo, a uma latitude 21°29'48" sul e a uma longitude 48°02'16" oeste, e possui uma área de 412,637 km² (CDA, 2009). A atividade principal é a produção de ovos, em média 21 mil dúzias por dia, sendo classificada como a 18ª cidade brasileira em produção de ovos, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009). Utilizou-se o banco de dados da Cooperativa Agrícola Mombuca para selecionar as granjas neste município.

Para o monitoramento sorológico no Bolsão de Bastos foram amostradas dez granjas, quatro lotes por granja, em média 16 aves por lote, identificando a idade das aves em semanas, caracterizando indivíduos em início, pico e fim de produção de ovos. Em Guataparã, foram colhidas cerca de 160 amostras em cada uma de dez granjas.

A colheita do sangue foi realizada por punção da veia umeral, utilizando seringa descartável de três mL e agulha descartável de 21 x 0,7 mm, tendo sido colhidos cerca de três mL de sangue de cada ave. Cada amostra foi identificada com o número do lote e o nome da granja à qual pertencia. Esses procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto Biológico (CETEA-IB), registrados sob o número do protocolo CETEA 77/09, aprovado em 18 de março de 2009.

Após a coagulação do sangue e a separação do soro, foi realizado o teste de SAR. Uma alíquota de cada soro foi armazenada individualmente em frascos do tipo *Eppendorf* e congelada em freezer -20°C para a realização da prova de ELISA.

A metodologia utilizada para as provas de SAR e ELISA foram as preconizadas pelo MAPA (Brasil, 1994). O antígeno de SAR utilizado foi o Myco-Galli Teste®, da BIOVET, composto por uma suspensão inativada de *M. gallisepticum* cepa S-6. Todos os frascos eram pertencentes à partida 869/08. O ELISA foi realizado com kit para detecção de anticorpos contra *M. gallisepticum* Flock Chek Idexx®, segundo orientações do fabricante. O ponto de corte do ELISA para considerar amostras reagentes e não reagentes, a média geométrica dos títulos (GMT) e as demais variáveis estatísticas, coeficiente de variação (CV), desvio padrão (DP), valores máximos e mínimos,

foram calculados pelo software xCheck versão 3.3 da Idexx®.

As diferenças estatísticas entre os índices de sororreatividade na SAR e no ELISA, nos animais vacinados e não vacinados, segundo as fases de produção e faixas etárias foram calculadas pelo teste do qui-quadrado, considerando erro alfa de 5%.

Os valores da GMT de aves vacinadas obtidos na prova de ELISA para *M. gallisepticum*, segundo a fase de produção e a faixa etária, no Bolsão de Bastos e no Município de Guatapar, SP, foram comparados pelo teste de Tukey, com significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Bolsão de Bastos, considerando-se todas as granjas amostradas, havia elevada proporo de aves reagentes pela SAR – 88,2% (566/642) e pelo ELISA – 89,8% (577/642). Os lotes vacinados apresentaram 89,5% (370/413) de sororreatividade na SAR, enquanto entre os não vacinados 97,4% (223/229) foram reagentes no ELISA. As aves vacinadas receberam cepas vivas F ou ts-11, e a sororreatividade destes lotes variou de 50 a 100% na SAR e de 31,25 a 100% no ELISA. Para as aves não vacinadas, a sororreatividade variou de 0 a 100 % na SAR e de 78,95 a 100 % no ELISA.

No Município de Guatapar constatou-se que todas as granjas amostradas utilizavam cepa vacinal viva ts-11 e que havia elevada proporo de aves reagentes pela SAR – 76,5% (108/141) e pelo ELISA – 97,2% (137/141). A sororreatividade de cada lote vacinado variou de 50 a 100% na SAR e de 80 a 100% no ELISA.

Foi importante avaliar a resposta das aves considerando conjuntamente a SAR (triagem) e o ELISA (confirmatória), pois a SAR detecta IgM e indica soroconversão, enquanto o ELISA, IgG e infeco crnica (NASCIMENTO, 2000; BUTCHER, 2009).

Em regiões onde a avicultura comercial  intensa, como no Bolsão de Bastos e em Guatapar, e a vacinao com cepa viva de baixa patogenicidade contra micoplasmose  realizada, ocorre grande difusão por aerossos do agente vacinal entre lotes e até entre granjas, o que pode acabar infectando com cepa atenuada as aves não vacinadas. No Bolsão de Bastos, 84,3% (193/229) das aves não vacinadas apresentaram sororreatividade simultaneamente na SAR e no ELISA, indicando que a grande maioria estava em estágio agudo da infeco, porém não havia aves com sinais respiratórios. Nestes lotes não vacinados e sororreagentes, existe a possibilidade de infeco com cepas de campo de baixa virulência ou com cepas dos lotes vacinados dentro da mesma granja ou de granjas vizinhas que se difundem no ambiente. As cepas vacinais vivas F e ts-11 são de baixa patogenicidade, colonizam as vias aéreas superiores das aves e competem com as cepas patognicas de campo na ligao com os receptores do eplio traqueal (METTIFOGO & BUIM, 2009).

Considerando o elevado número de aves vacinadas no Bolsão de Bastos e no Município de Guatapar, também se avaliou a resposta humoral destas duas populaes conjuntamente. Observou-se elevada proporo de reagentes na SAR e no ELISA – 84% (465/554), demonstrando que as aves possuíam IgM e IgG, ou eram reagentes somente ao ELISA – 8,8% (49/554), com anticorpos da classe IgG. Os dados indicaram resposta humoral esperada em uma populao que  submetida  vacinao em massa com vacina viva atenuada, pelo grande percentual de aves sororreagentes. Como não foram observados sintomas clínicos respiratórios nas aves vacinadas, pode-se supor que houve difusão da cepa vacinal atenuada, que protegeu a populao contra cepas de campo virulentas (METTIFOGO & BUIM, 2009). Também se observou baixo percentual de aves vacinadas não reagentes simultaneamente no ELISA e na SAR – 3,6% (20/554), indicando que houve pouca falha vacinal.

Tanto na região de Bastos quanto no Município de Guatapar, o controle da micoplasmose  realizado principalmente pela vacinao e não por medidas de biosseguridade. Observou-se grande adensamento populacional e proximidade entre as granjas, e não existiam barreiras físicas que as separassem, sendo comum a criao de lotes de aves com idades múltiplas, em que as fases de cria, recria e produo são realizadas na mesma propriedade ou então muito próximas, o que pode ter contribuído para a difusão de cepas e a elevada sororreatividade total na SAR 86,1% (674/783) e no ELISA 91,2% (714/783). Ito et al. (2002) reforçam que a biosseguridade  a principal e única medida preventiva para evitar a introduo do *M. gallisepticum* em plantéis de aves, e Nascimento (2000) aponta que a multiplicidade de lotes de diferentes idades numa mesma granja atua como agente facilitador do aparecimento de doenças intercorrentes e da disseminao de patógenos entre as aves do mesmo lote e entre lotes.

Independentemente do sistema de produo de aves de postura comercial, a fase de produo de ovos possui a mesma durao, com início na 17^a e final na 72^a semanas (ALVES, 2006; GARCIA & MOLINA, 2008). Para que pudesse ser avaliada uma provável interferência da fase da produo na sororreatividade dos lotes vacinados do Bolsão de Bastos e no Município de Guatapar, subdividiu-se o período de postura em início (17-35 semanas), meio (36 a 53 semanas) e final, a partir da 54^a semana. Houve efeito estatisticamente significativo pelo teste do qui-quadrado, da idade das aves vacinadas na sororreatividade ao *M. gallisepticum*; menos aves com idade \geq 54 semanas possuíam IgM detectado pela SAR ($P = 0,0499$) e mais aves possuíam IgG pelo ELISA ($P = 0,0162$) (Tab. 1), demonstrando cronicidade de infeco ou vacinao (METTIFOGO & BUIM, 2009).

Houve efeito estatisticamente significativo da idade das aves não vacinadas na sororreatividade ao *M. gallisepticum*; mais aves com idade \geq 54 semanas possuíam IgM ($P < 0,001$), demonstrando infeco recente, e também cronicidade de infeco pela IgG ($P < 0,001$) (Tab. 2), porém, como não havia aves

Tabela 1 – Sororreatividade de aves vacinadas contra *M. gallisepticum* na SAR e no ELISA, segundo a fase de produção e a faixa etária, no Bolsão de Bastos e Guatapar, SP (São Paulo, 2009).

Fase de produo (faixa etária)	SAR vacinadas		ELISA vacinadas	
	Reagente % (subtotal)	Não reagente % (subtotal)	Reagente % (subtotal)	Não reagente % (subtotal)
Incio	80.30	19.70	81.15	18.85
(17 a 35 semanas)	(98/122)	(24/122)	(99/122)	(23/122)
Meio	91	9	89.85	10.15
(36 a 53 semanas)	(111/122)	(11/122)	(124/138)	(14/138)
Final	69.70	30.30	90.80	9.2
(> 54 semanas)	(269/310)	(41/310)	(267/294)	(27/294)
Total	86.3 (478/554)	13.7 (76/554)	88.40 (490/554)	11.60 (64/554)
Qui-quadrado	(P = 0.0499)		(P = 0.0162)	

Tabela 2 – Sororreatividade de aves não vacinadas contra *M. gallisepticum* na SAR, segundo a fase de produo e a faixa etária, no Bolsão de Bastos, SP (São Paulo, 2009).

Fase de produo (faixa etária)	SAR não vacinadas		ELISA não vacinadas	
	Reagente % (subtotal)	Não reagente % (subtotal)	Reagente % (subtotal)	Não reagente % (subtotal)
Incio	50,75	49,25	92,50	7,50
(17 a 35 semanas)	(34/67)	(33/67)	(62/67)	(5/67)
Meio	100,00	0	97,90	2,10
(36 a 53 semanas)	(48/48)		(47/48)	(1/48)
Final	100,00	0	100	0
(> 54 semanas)	(114/114)		(114/114)	
Total	85,50 (196/229)	14,50 (33/229)	97,40 (223/229)	2,60 (6/229)
Qui-quadrado	(P < 0,001)		(P < 0,001)	

Tabela 3 – Comparação dos valores da GMT de aves vacinadas obtidos na prova de ELISA para *M. gallisepticum*, segundo a fase de produção e a faixa etária, no Bolsão de Bastos e no Município de Guatapar, SP, segundo o teste de Tukey (São Paulo, 2009).

Fase de produção (faixa etária)	Número de lotes	Mdia GMT*	DP	CV Valor mínimo	CV Valor máximo	Valor mínimo GMT	Valor máximo GMT	Intervalo de confiança 95%
Incio (17 a 35 semanas)	8	3.645,0 a	2.736,1	25,2 %	118,1 %	1.417	8.413	1.357,2 a 5932,8
Meio (36 a 53 semanas)	8	7.927,6 a	5.394,6	22,1 %	63,0 %	741	15.682	3.416,9 a 12.438
Final (>54 semanas)	20	6.810,3 a	4.218,7	17,4 %	81,2 %	986	19.359	4.835,9 a 8.784,7

* Letras iguais entre linhas indicam que não houve diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$)

com sintomas clínicos respiratórios, pode-se inferir que houve difusão de cepa vacinal ou de campo de baixa virulência estimulando o sistema imunológico (METTIFOGO & BUIM, 2009).

Quanto à média geométrica dos títulos (GMT) obtidos no ELISA para aves vacinadas, houve uma grande variação de valores dentro de um mesmo lote e granja no Bolsão de Bastos e em Guatapar, com elevados índices dos desvios padrões (DP), coeficientes de variação (CV) e valores mínimos e máximos. A aplicação do teste de Tukey com significância de 5% entre os valores da GMT do ELISA dos lotes de aves vacinadas no Bolsão de Bastos e no Município de Guatapar não comprovou diferença estatística das aves com relação  fase de produção e  faixa etária ($P > 0,05$) (Tab. 3). Considerando que aves de postura são vacinadas quando jovens, as reações sorológicas após o uso de vacina viva não resultam em elevados títulos no ELISA, e a presença de títulos elevados indica que está ocorrendo desafio de campo, porém, como não foram observados sinais clínicos de DCR, pode-se levantar a hipótese de que esta resposta imunológica humoral deve-se a infecção por cepa vacinal atenuada ou de campo de baixa virulência (BUTCHER, 2009; MUOZ et al., 2009).

Devido ao fato de ser bastante difundido o uso da vacinação contra *M. gallisepticum* em aves de postura comercial, foi difícil amostrar lotes e granjas não vacinados, não sendo possível aplicar o teste de Tukey para avaliar se houve diferença estatística entre a GMT das faixas etárias, devido ao pequeno número de aves não vacinadas no Bolsão de Bastos.

A SAR  uma prova de triagem, com baixa especificidade, motivo pelo qual resultados falso-positivos podem ocorrer, o que tem contribuído para a falta de segurança no diagnóstico das micoplasmoses, principalmente quando ela  empregada isoladamente (BRASIL, 1994; MENDONÇA et al., 2003; MENDONÇA et al., 2004; BUCHALA et al., 2006; CARDOSO et al., 2006). As reações falso-positivas têm também serem atribuídas  presença de globulinas ou outro componente do soro no meio de crescimento usado na cultura de micoplasma para produção de antígeno para o teste SAR (AHMAD et al., 1988). Sabe-se que existem diferenças significativas na sensibilidade e na especificidade de antígenos de SAR (ROSALES, 1999) e variabilidade entre as partidas do mesmo fabricante e entre os labortoros executores de diagnóstico (METTIFOGO & BUIM, 2009), mas utilizaram-se antígenos do mesmo fabricante e da mesma partida para a SAR em todos os soros testados, o que diminuiu a possibilidade de resultados divergentes. Também foi excluída a possibilidade de reações falso-positivas por soros contaminados (METTIFOGO & BUIM, 2009), porque foram utilizadas seringas e agulhas estéreis para cada ave, e a sorologia foi realizada tão logo o sangue foi dessorado.

Foram empregadas as cepas vacinais vivas ts-11 e F no Bolsão de Bastos, enquanto em Guatapar foi utilizada somente a cepa ts-11. Uma maneira de

diferenciar a infecção causada por cepas de campo da causada por essas duas cepas vacinais  realizar a multiplex PCR, que auxilia o diagnóstico diferencial dos isolados e os estudos epidemiológicos (METTIFOGO & BUIM, 2009), podendo tal estudo ser realizado em uma etapa futura. Os elevados índices de sororreatividade na SAR e no ELISA associados  ausência de sinais clínicos nas aves das granjas do Bolsão de Bastos e no Município de Guatapar sugerem que pode estar ocorrendo infecção por cepas vacinais atenuadas ou de campo de baixa virulência. Somente por meio de estudo epidemiológico utilizando isolamento do *M. gallisepticum* e realizando sua caracterização e diferenciação molecular poderão ser conhecidos os tipos de cepas que estão estimulando a resposta humoral das aves.

CONCLUSÃO

O elevado percentual de aves vacinadas com cepas vivas atenuadas de *M. gallisepticum* reagentes simultaneamente no ELISA e na SAR associado  ausência de sinais clínicos indicam que houve pouca falha vacinal nas granjas do Bolsão de Bastos e do Município de Guatapar, demonstrando que a vacinação estimulou a resposta imunológica e está protegendo a população contra a doença crnica respiratória.

AGRADECIMENTOS

Ao Médico Veterinário Wagner Watanabe, da Associação Paulista de Avicultura, e ao técnico Cristóvão Altero, do EDA de Tupã, pelo auxílio na coleta das amostras.  BIOVET, pela doação dos antígenos de SAR para *M. gallisepticum*, e  APA, pela doação dos kits ELISA MG.

REFERÊNCIAS

AHMAD, I.; KLEVEN, S. H.; AVAKIAN, A. P.; GLISSON, J. R. Sensitivity and specificity of *Mycoplasma gallisepticum* agglutination antigens prepared from medium with liposomes substituting for serum. *Avian Diseases*, v.32, n.3, p.519-526, 1988.

ALVES, S. P. **Uso da zootecnia de precisão na avaliação do bem-estar bioclimático de aves poedeiras em diferentes sistemas de criação.** Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2006. 128 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

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

BUHALA, F. G.; ISHIZUKA, M. M.; MATHIAS, L. A.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I. Detecção de resposta sorológica contra *Mycoplasma* em aves de criatórios de “fundo de quintal” próximos a explorações comerciais do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p.143-148, 2006.

BUTCHER, G. D. [2009]. Factors to consider in serologic testing for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. VM126 series. **Veterinary Medicine Large Animal Clinical Sciences Department, Florida, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida**. April 2009. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/VM126>> acesso em 01/10/2009.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z. Prova de soroglutinação rápida em galinhas reprodutoras como monitoria sorológica de micoplasmoses. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, p.31, 2006. Suplemento 2.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. CDA. **Cadastro de Estabelecimentos Avícolas do Estado de São Paulo (CEASP)**. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br>> acesso em 01/10/2009.

DANELLI, M. G. M. Desempenho dos testes de soroglutinação rápida e ELISA frente ao isolamento no diagnóstico de *Mycoplasma gallisepticum* em galinhas. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.21, n.3, p.101-104, 1999.

GARCIA, E. A.; MOLINA, A. B. Atualidades no manejo de poedeiras. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 6., 2008, Indaiatuba. **Anais...** Indaiatuba: Associação Paulista de Avicultura, 2008. p.10-21.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. **Guatapar / SP – Dados basicos**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=351885#>> acesso em 01/10/2009.

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. Micoplasmoses em aves. In: CURSO BASICO DE SANIDADE AVICOLA FORT DODGE, 9., 2002, Jaguariuna. **Anais...** Jaguariuna: Fort Dodge, 2002. p.27-53.

MENDONÇA, G. A.; POLO, P. A.; NASCIMENTO, E. R.; LIGNON, G. B. A. Prova de SAR em galinhas poedeiras infectadas por micoplasmoses e salmonelose. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 21., 2003, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 2003. p.116.

MENDONÇA, G. A.; NASCIMENTO, E. R.; LIGNON, G. B.; POLO, P. A. O emprego das provas de SAR e HI como rotina laboratorial para evidenciao de *Mycoplasma gallisepticum*. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**, v.4, p.177, 2004. Suplemento 6.

METTIFOGO, E.; BUIM, M. R. *Mycoplasma gallisepticum*. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A. J. P. (Eds.). **Patologia Aviaria**. Barueri: Editora Manole Ltda., 2009. p. 86-100.

MUNOZ, R.; SAYD, S.; SHOBERG, R. **Monitoria para Micoplasmases em avicultura**. Disponivel em <http://al.idexx.com/produccion/boletin/noticiasM.gallisepticumms_pg.jsp> acesso em 01/10/2009.

NASCIMENTO, E. R. Micoplasmoses aviarias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. (Eds.). **Doença das aves**. Campinas: Facta, 2000. p.217-224.

NOORMOHAMMADI, A. H.; BROWNING, G. F.; COWLING, P. J.; O’ROURKE, D.; WHITHEAR, K. G.; MARKHAM, P. F. Detection of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* vaccine ts-11 by an autologous Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **Avian Diseases**, v.46, n.2, p.405-411, 2002.

RAUBER, R. H.; FLORES, M. L.; PEREIRA, C. E.; FIORENTIN, L. Ocorrencia de *Mycoplasma gallisepticum* em poedeiras comerciais no Estado do Rio Grande do Sul e sua relaao com a biosseguridade. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**, v.1, p.206, 2004. Suplemento 6.

ROSALES, A. G. Monitoria sorologica em aves. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIAS E TECNOLOGIA AVICOLAS, 17., 1999, Campinas. **Anais...** Campinas: APINCO, 1999. v.1, p.46-52.

SANTOS, B. M.; MARIN-GOMEZ, S. Y.; PAULA, A. C. B. Confiabilidade de um teste de triagem para micoplasmose aviaria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v.1, n.1, p.18-23, 2007.

SAO PAULO. Resoluao SAA-27, de 30 de setembro de 2003. Considera a laringotraqueite infecciosa, doença das aves, de peculiar interesse do Estado, e estabelece as exigencias a serem cumpridas pelos estabelecimentos avicolas das regioes especificadas e da outras providencias. **Diario Oficial do Estado de Sao Paulo**, v. 186, n. 58, 30 set. 2003. Seao I, p. 15.

SIMAS, V. S.; PEREIRA, V. L. A.; SILVA, R. C. F.; BARRETO, M. L.; ALMEIDA, J. F.; NASCIMENTO, E. R. Soroglutinaao rapida para *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* e *Salmonella pullorum* em poedeiras comerciais e caipiras do RJ. In: CONFERENCIA APINCO 2008 DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 26., 2008, Santos. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**, v.2, p.222, 2008. Suplemento 10.