

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM HIGIENE VETERINÁRIA
E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS
DE ORIGEM ANIMAL

RITA DE CÁSSIA FIGUEIRA SILVA

DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS
INFECTADAS POR *Mycoplasma synoviae*

Niterói
2011

RITA DE CÁSSIA FIGUEIRA SILVA

**DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS
INFECTADAS POR *Mycoplasma synoviae***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor - Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. Elmiro Rosendo do Nascimento
Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública - UFF

Co-orientador: Prof^a Dr^a Virginia Léo de Almeida Pereira

Niterói
2011

S586 Silva, Rita de Cássia Figueira

Desempenho e qualidade de ovos de galinhas infectadas por *Mycoplasma synoviae*/Rita de Cassia Figueira Silva; orientador Elmiro Rosendo do Nascimento - 2011.

75f.

Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)- Universidade Federal Fluminense, 2011.

Orientador: Elmiro Rosendo do Nascimento

1. Qualidade do ovo. 2. Produção de ovos.
3. Histologia. 4. Infecção por mycoplasma. I. Título.

CDD 636.08842

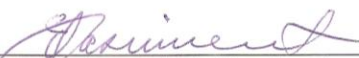
RITA DE CASSIA FIGUEIRA SILVA

DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS
INFECTADAS POR *Mycoplasma synoviae*

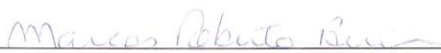
Tese apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Medicina Veterinária da
Universidade Federal Fluminense,
como requisito parcial para obtenção do
Grau de Doutor - Área de concentração:
Higiene Veterinária e Processamento
Tecnológico de Produtos de Origem
Animal

Aprovada em 31 de março de 2011.

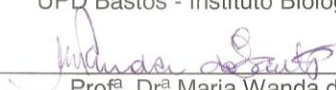
BANCA EXAMINADORA



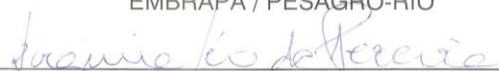
Prof. Dr. Elmiro Rosendo do Nascimento - Orientador
Universidade Federal Fluminense



Dr. Marcos Roberto Buim
UPD Bastos - Instituto Biológico /SAA-SP



Prof. Dr. Maria Wanda dos Santos
EMBRAPA / PESAGRO-RIO



Prof. Dr. Virginia Leo de Almeida Pereira
Universidade Federal Fluminense



Prof. Dr. Cristina Kimie Togashi
Universidade Federal Fluminense

Niterói
2011

Aos meus pais. Armando Figueira e Therezinha Neves Figueira, *in memoriam*.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Elmiro Rosendo do Nascimento pela sua orientação, apoio, confiança e amizade com que sempre nos distinguiu.

À Prof^a Dr^a Virginia Léo de Almeida Pereira pela sua co-orientação, incentivo, criatividade, apoio, amizade e confiança.

A Diretoria da PESAGRO-RIO e chefia do Centro Estadual de Pesquisa em Sanidade Animal Geraldo Manhães Carneiro/CEPGM desta instituição, pela confiança depositada.

A Dr^a Nilce Maria Soares, Dr. Marcos Roberto Buim e equipe técnica e administrativa da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos - Instituto Biológico/SAA-SP pela acolhida e apoio técnico nas atividades à campo e laboratoriais.

À Prof^a Dr^a Maria Lúcia Barreto e equipe pela acolhida no Laboratório de Bioterismo do Núcleo de Animais de Laboratório – NAL/UFF.

Ao Dr. Carlos Henrique Campello da Costa da Área de Anatomia Patológica do CEPGM/PESAGRO-RIO, pela amizade e apoio na análise histopatológica.

Às docentes do Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública da FV/UFF, Prof^a Dr^a Dayse Lima da Costa Abreu e Prof^a Dr^a Juliana Ferreira de Almeida pela amizade e apoio dispensado.

À docente do Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Agrossocioambiental Sustentável da FV/UFF, Prof^a Dr^a Cristina Kimie Togashi, pela amizade e ensinamentos.

Aos amigos Carinne Rodrigues de Oliveira Pinto; Catia Cardoso da Silva; Davi de Oliveira Almeida; Felipe Faccini dos Santos; Felipe Grillo Monnerat Toledo; Leandro dos Santos Machado; Leonardo Varon Gaze; Liana Lumi Oggino; Lidia Maria Marques dos Santos; Mariza Dinah Manes Brandão; Natasha da Rosa Barreto; Raquel Gouvêa; Samira Moraes Cunha de Mesquita e Valéria Yugue Takeuti pelo apoio na realização das atividades à campo e laboratoriais necessárias a execução deste estudo experimental.

A Dr^a Maria Wanda dos Santos, pela confiança, solidariedade, sugestões, amizade e amabilidade.

Ao meu esposo, Paulo Cesar Silva e nossos filhos, Diego Figueira Silva e Paulo Cássio Figueira Silva pela constante ajuda e amor dispensados em todos os meus empreendimentos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/EMBRAPA pelo apoio financeiro.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do Ovo, p. 21

Figura 2 - Pesagem dos ovos, p.31

Figura 3 - Teste de resistência da casca à quebra, p.31

Figura 4 - Leitura à “Laser”, para determinar a cor da gema e a altura do albúmen, p.32

Figura 5 - Medida de espessura de casca, p.32

ARTIGO 2: ALTERAÇÕES TECIDUAIS NO OVIDUTO E QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE POR *Mycoplasma synoviae*.

Figura 1 - Ave. T2 (aves inoculadas cepa MS padrão), 32ª semana de idade, discreto infiltrado linfocítico intersticial (seta) na submucosa do magno, p.64

Figura 2 - Ave. T2 (aves inoculadas cepa MS padrão), 32ª semana de idade, discreto infiltrado linfocítico intersticial (seta) na submucosa do magno, p.65

Figura 3 - Ave. T3 (controle), 32ª semana de idade, arquitetura preservada na glândula da casca, p.65

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Tipos de ovos e parâmetros a serem considerados para a tipificação de ovos., p. 34

Quadro 2 - Classificação de ovos e parâmetros considerados., p. 35

ARTIGO 1: DESEMPENHO E TIPIFICAÇÃO DE OVOS DE POEDEIRAS COMERCIAIS (*Gallus gallus*) INOCULADAS COM *Mycoplasma synoviae*.

Tabela 1 – Consumo de ração médio de poedeiras comerciais inoculadas com cepa MS vacinal (T1), com cepa padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade., p. 54

Tabela 2 – Conversão alimentar média de poedeiras comerciais inoculadas com cepa MS vacinal (T1), com cepa padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade., p. 54

Tabela 3 – Percentagem média de produção de ovos de poedeiras comerciais inoculadas com cepa MS vacinal (T1), com cepa padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade., p. 55

Tabela 4 – Ovos acumulados/ave alojada em poedeiras comerciais inoculadas com cepa MS vacinal (T1), com cepa MS padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade., p. 55

ARTIGO 2: ALTERAÇÕES TECIDUAIS NO OVIDUTO E QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE POR *Mycoplasma synoviae*.

Tabela 1 - Percentagem de repetições/tratamento positiva para *M.synoviae* (MS) na PCR, a partir de “pools” de suabes de traquéia, no período de 15 a 32 semanas de idade., p. 63

Tabela 2 - Médias de peso do ovo (PO) e das variáveis de qualidade de casca, resistência da casca à quebra (RQ), peso da casca (PC) e percentagem de casca (C) e de qualidade interna, altura do albúmen (AA) e unidade Haugh (UH) de ovos produzidos por aves inoculadas com cepas MS vacinal (T1) e padrão (T2) e não inoculadas (T3), na 26^a, 29^a e 32^a semana de idade., p.63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Altura do Albúmen
BI	Bronquite Infecciosa
bp	“Base Pair” ou Pares de Base
C	Percentagem de Casca
CCU	“color-changing units” ou unidade de troca de coloração
DN	Doença de Newcastle
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
HA	Teste de Hemaglutinação
HI	“Haemagglutination Inibition” ou Inibição da Hemaglutinação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MG	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>
MM	<i>Mycoplasma melleagridis</i>
MS	<i>Mycoplasma synoviae</i>
NAL	Núcleo de Animais de Laboratório
NUDMIC/UFF	Núcleo de Diagnóstico da Micoplasmose da UFF
PC	Percentagem de casca
PCR	“Polymerase Chain Reaction” ou Reação em Cadeia da Polimerase
PESAGRO-RIO	Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro

PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
PO	Peso do ovo
SAR	Prova de Soroaglutinação Rápida
UH	Unidade Haugh
UFF	Universidade Federal Fluminense

SUMÁRIO

RESUMO, p.14

ABSTRACT, p.15

1 INTRODUÇÃO, p.16

2 REVISÃO DE LITERATURA, p.19

2.1 PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE OVOS NO BRASIL, p.19

2.2 FISIOLOGIA DA FORMAÇÃO DO OVO, p.20

2.3 ASPECTOS DA QUALIDADE DE OVOS, p.24

2.3.1 Qualidade Externa dos Ovos, p.25

2.3.2 Qualidade Interna dos Ovos, p.27

2.4 CONCEITO E CLASSIFICAÇÃO DE OVOS, p.33

2.5 MICOPLASMOSE AVIÁRIA POR *Mycoplasma synoviae*, p.35

2.5.1 Histórico, p.35

2.5.2 Classificação e Características Biológicas, 36

2.5.3 Patogênese do *Mycoplasma synoviae*, p.37

2.5.4 Patogenicidade e Virulência, p.38

2.5.5 Epizootiologia, p.39

2.5.6 Manifestações Clínicas e Alterações Anatomopatológicas, p.40

2.5.7 Diagnóstico Laboratorial, p.41

2.5.8 Prevenção e Controle, p.43

2.5.9 Tratamento, p.44

2.5.10 Importância Econômica, p.46

3 DESENVOLVIMENTO, p.47

3.1 ARTIGO 1: DESEMPENHO E TIPIFICAÇÃO DE OVOS DE POEDEIRAS COMERCIAIS (*Gallus gallus*) INOCULADAS COM *Mycoplasma synoviae*, p.48

3.2 ARTIGO 2: ALTERAÇÕES TECIDUAIS NO OVIDUTO E QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE POR *Mycoplasma synoviae*, p.57

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS, p.66

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p.67

RESUMO

A avicultura de postura brasileira ocupa a sexta posição mundial entre os maiores produtores mundiais. Recentemente, a infecção por *Mycoplasma synoviae* (MS) tem sido associada à queda na produção de ovos, aumento na mortalidade e produção de ovos com anormalidades no ápice da casca, entretanto os efeitos desta infecção na produção e qualidade de ovos de galinhas permanecem obscuros. O estudo teve por objetivo verificar a influência da infecção experimental por cepas vacinal e padrão de MS, no desempenho de galinhas, na qualidade e tipificação de ovos produzidos e no aparecimento de alterações teciduais no oviduto. Cento e cinquenta aves Hy-Line W-36 foram distribuídas igualmente em três grupos: T1 (aves inoculadas cepa vacinal MS-H); T2 (aves inoculadas cepa padrão MS WVU 1853) e T3 (controle, aves não inoculadas). A infecção por MS foi monitorada pela PCR. Da 21^a a 32^a semana de idade, em cada tratamento, foi feita pesagem semanal da ração e registro diário da produção de ovos. À necropsia, fragmentos de traqueia, sacos aéreos, magno, istmo e glândula da casca foram coletados e processados histologicamente. Aves inoculadas com as cepas de MS apresentaram percentagens médias de consumo de ração e conversão alimentar superiores as das aves controle, diferenças não significativas (ANOVA 5%). A percentagem média de produção de ovos das aves inoculadas foi discretamente mais baixa que a do controle, diferença não significativas no Qui-quadrado (5%) e Kruskal-Wallis (5%). Médias de peso, resistência da casca à quebra, peso da casca, percentagem de casca e unidade Haugh (UH) das das aves inoculadas com as cepas MS foram inferiores às dos ovos do grupo controle, diferenças significativas ($p < 0,05$) no teste de Tukey (5%), contudo diferenças significativas (ANOVA 5%) entre as médias da altura do albúmen dos ovos das aves inoculadas e controle não foram observadas. Médias de UH observadas entre os ovos das aves inoculadas com cepa MS vacinal e controle apresentaram diferenças significativas no teste de Tukey (5%), o mesmo não foi observado entre as médias dos ovos das aves inoculadas com cepa MS padrão e controle. A maior parte dos ovos produzidos pelas aves inoculadas com as cepas MS foram tipificados, como médio (Tipo 4) e os ovos produzidos pelas aves controle foram grande (Tipo 3). Essas diferenças foram significativas ($p < 0,05$), no teste Qui-quadrado (5%). Na histologia, foi observado a partir da 26^a semana nas aves inoculadas com as cepas de MS e controle discretos infiltrados perivasculares linfoplasmocíticos no interstício da camada muscular e na serosa das regiões do magno e do istmo, além de discretos acúmulos linfocíticos intersticiais na mucosa do magno de aves inoculadas com cepa MS padrão e controle. Histologia preservada foi observada na glândula da casca dos ovos de todos os grupos.

Palavras-chave: micoplasmas, ovos, tipificação, produção, histologia

ABSTRACT

Brazilian egg production occupies the sixth position among the largest world producers. Recent studies revealed that *Mycoplasma synoviae* (MS) infection has been associated with drop in egg production, increased mortality and production of eggs with eggshell apex abnormalities. The study aimed to evaluate the effect of experimental infection with vaccine and standard strains of MS in the performance of hens, quality and typification of eggs produced and in the onset of oviduct tissue abnormalities. A total of 150 birds Hy-Line W-36 were divided into three groups with 50 birds: T1 (inoculated vaccine MS-H strain), T2 (inoculated standard MS WVU 1853 strain) and T3 (control, uninoculated). MS infection was monitored by PCR assay. From 21th to 32th week of age, in each treatment, feed was weighed weekly and egg production was recorded daily. At necropsy fragments of trachea, air sacs, magnum, isthmus and shell gland were collected and processed histologically. Birds inoculated with MS strains showed feed consumption and feed conversion average higher than the averages of the control group, differences not significant (ANOVA 5%). Percentage of egg production average of the birds inoculated was slightly lower than the control, differences not significant by Chi-square (5%) and Kruskal-Wallis test (5%). The averages for egg weight, shell strength, shell weight, shell percentage and Haugh unit (HU) of the birds inoculated were significantly lower ($p < 0.05$) (Tukey 5%), than those achieved by the control group. However, differences between in albumen height means were not significant (ANOVA 5%). Mean HU observed between eggs of birds inoculated with vaccine MS strain and control showed significant differences (Tukey 5%), the same was not observed between means of eggs of birds inoculated with standard MS strain and control. Most of the eggs produced by birds inoculated with MS strain was typified as medium (Type 4), while eggs layed by control birds were large (Type 3). These differences were significant ($p < 0.05$) in Chi-square test at 5%. Histologically, it was observed at 26 weeks in inoculated with MS with MS strains and control, the presence of discrete perivascular lymphoplasmocytics infiltrates in the interstitium of muscular layer and serosa of the magnum and isthmus regions, e discrete interstitial lymphocytics accumulations in the mucosa of the magnum in birds inoculated with standard MS strain and control. Preserved histological architecture was observed in the shell gland of all the groups.

Keywords: mycoplasmas, eggs, typification, production, histology

1 INTRODUÇÃO

A avicultura de postura brasileira tem evoluído muito nos últimos anos, e na atualidade ocupa a sexta posição no ranking mundial dos maiores produtores de ovos. A quantidade de países importadores do ovo brasileiro ainda é tímida e para fortalecer o setor de postura, há muito espaço, oportunidade e condições. O segmento é importante na produção de alimento humano de alto valor biológico e tem se adequado às técnicas que possibilitam a melhoria da eficiência de produção das aves (UBA, 2010).

A produção de ovos pode ser comprometida pela influência de fatores como a sanidade, genética, manejo, nutrição, instalações e outros. Entre as doenças aviárias, as Micoplasmoses, Coriza Infecciosa, Salmoneloses, Bronquite Infecciosa (BI), Laringotraqueíte Infecciosa, Doença de Newcastle (DN), Metapneumovirose, Síndrome da Queda de Postura e Encefalomielite podem causar impacto sobre a produção e a qualidade dos ovos.

As Micoplasmoses Aviárias são causadas por bactérias do gênero *Mycoplasma*, os menores procariontes atualmente conhecidos (RAZIN et al., 1998). Entre as galinhas, duas espécies apresentam importância econômica, *M.gallisepticum* (MG) e *M.synoviae* (MS). O MG é o agente etiológico da Doença Respiratória Crônica (DRC) e aerossaculite em galinhas e o MS está associado ao quadro de aerossaculite e sinovite (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). A infecção por MS em galinhas pode determinar tanto um envolvimento articular (sinovite / artrite), comum nas décadas de 70 e 80, e na atualidade a forma mais encontrada é de uma infecção assintomática ou doença respiratória principalmente aerossaculite (KLEVEN, 2003; STIPKOVITS; KEMPF, 1996).

Mais recentemente, o setor de postura comercial, cujas granjas são de múltiplas idades, condição que favorece a disseminação da infecção por MS (YODER JR, 1997) tem merecido atenção especial. Estudos sobre o assunto têm associado a infecção por MS à queda na produção de ovos, aumento na mortalidade (DUFOUR-GESBERT et al. 2006) e produção de ovos com anormalidades no ápice da casca, conhecida como EAA (Eggshell Apex Abnormalities) (FEBERWEE, et al. 2008; 2009). A EAA é uma nova patologia da casca do ovo caracterizada por alterações na superfície da casca de ovos, desbaste, aumento da translucência, rachaduras e quebras no ápice da casca. No passado, os resultados dos estudos de Lott et al. (1978) e Morrow et al. (1990) indicaram a existência uma correlação positiva entre a presença do MS e a redução na produção de ovos, o oposto foi encontrado por Mohammed et al. (1987a).

Nos plantéis nacionais e mundiais não se conhece a prevalência e efeitos econômicos da infecção por MS, devido a grande variação da gravidade da infecção por este patógeno em função da virulência e patogenicidade das cepas envolvidas, pela difícil reprodução da doença e presença de infecções intercorrentes (sinergismo patogênico) como os vírus vacinais ou não do BI ou DN, ou ainda com outras bactérias como a *Escherichia coli* e o MG (STIPKOVITS; KEMPF, 1996). As cepas de MS podem ser diferenciadas quanto à patogenicidade, virulência, genética e tropismo, porém essas diferenças não podem ser detectadas nos exames sorológicos (LOCKABY et al., 1998; STIPKOVITS; KEMPF, 1996).

As perdas econômicas atribuídas à infecção por MS podem se manifestar por imunodepressão temporária, elevação de 1 a 4% da taxa de mortalidade na fase final de produção (KLEVEN, 2003; SHAPIRO, 1994), redução de 5 a 10% na produção de ovos e de 5 a 7% na eclodibilidade, com altas taxas de mortalidade embrionária e refugos (MOHAMMED et al., 1987b; STIPKOVITS; KEMPF, 1996), aumento da mortalidade e da condenação de carcaças nas aves de corte e alto custo com medicamentos e programas de controle, além do efeito sinérgico quando associados a outras doenças (NASCIMENTO et al., 2005).

No Brasil, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) promove, entre outras doenças, o monitoramento da Micoplasmose Aviária por MG, MS e *Mycoplasma melleagridis* (MM), em estabelecimentos avícolas destinados à reprodução/produção de aves e de ovos férteis, envolvidos com o comércio nacional ou internacional de seus produtos (BRASIL, 2001). Deste modo, foi prevista a

erradicação de MG, MS e MM em granjas de reprodução (linhagens puras, bisavós e avós) de galinhas e perus, enquanto que em granjas de matrizes (galinhas) apenas a vigilância e o acompanhamento do MS (NASCIMENTO et al., 2005; BRASIL, 2001). Desta forma, a real prevalência da micoplasmose aviária por MS nas demais criações avícolas, bem como seus efeitos econômicos ainda são desconhecidos, devido a dificuldade na reprodução da doença e de diagnóstico, aliada a variação de virulência entre as diferentes cepas de MS (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). Conseqüentemente, o controle e a erradicação de MS têm sido negligenciados, favorecendo sua disseminação.

O presente estudo teve por objetivo verificar a influência da infecção experimental por cepas vacinal e padrão de *M.synoviae*, no desempenho de galinhas, na qualidade e tipificação de ovos produzidos e no aparecimento de alterações teciduais nas regiões do oviduto do magno, istmo e glândula da casca.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE OVOS NO BRASIL

A avicultura de postura brasileira é um importante segmento na produção de alimento humano de alto valor biológico e tem se adequadado às técnicas que possibilitam a melhoria da eficiência de produção das aves. Nos últimos anos, este setor tem alcançado melhores taxas de produtividade e conquistado novos mercados. Segundo os dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o Brasil se encontra entre os seis maiores produtores mundiais de ovos e de seus subprodutos. A liderança é da China, seguida de longe pelos EUA (CASTRO, 2010). A produção de ovos em 2009 foi de aproximadamente 61 milhões de caixas (30 dúzias) (UBA, 2009).

No Brasil, um dos desafios para o setor de postura é aumentar o consumo de ovos por habitantes, que ainda é muito baixo. Entre 2008 e 2009, o consumo *per capita* de ovo por ano foi em média de 120 unidades, quantidade muito aquém de países que lideram o topo do consumo (UBA, 2009). Segundo a Associação Gaúcha de Avicultura (ASGAV), no Rio Grande do Sul, devido aos hábitos alimentares a média de consumo é um pouco maior, 160 ovos *per capita* ao ano, mas muito abaixo de países como o Japão e México onde as estatísticas mostram um consumo de 345 ovos *per capita* ao ano, praticamente um ovo por dia (ASGAV, 2011). De acordo com os dados da FAO para América Latina, o Brasil ocupa a 8ª posição do continente, com o consumo de 6,8 Kg *per capita* de ovo por ano e a 3ª posição entre os quatro países base do Mercosul, a frente da Argentina, 6,5 Kg *per capita* de ovo por ano e muito distante do Paraguai e Uruguai, respectivamente 16,1 e 10,9 Kg *per capita* de ovo por ano (AVISITE, 2010).

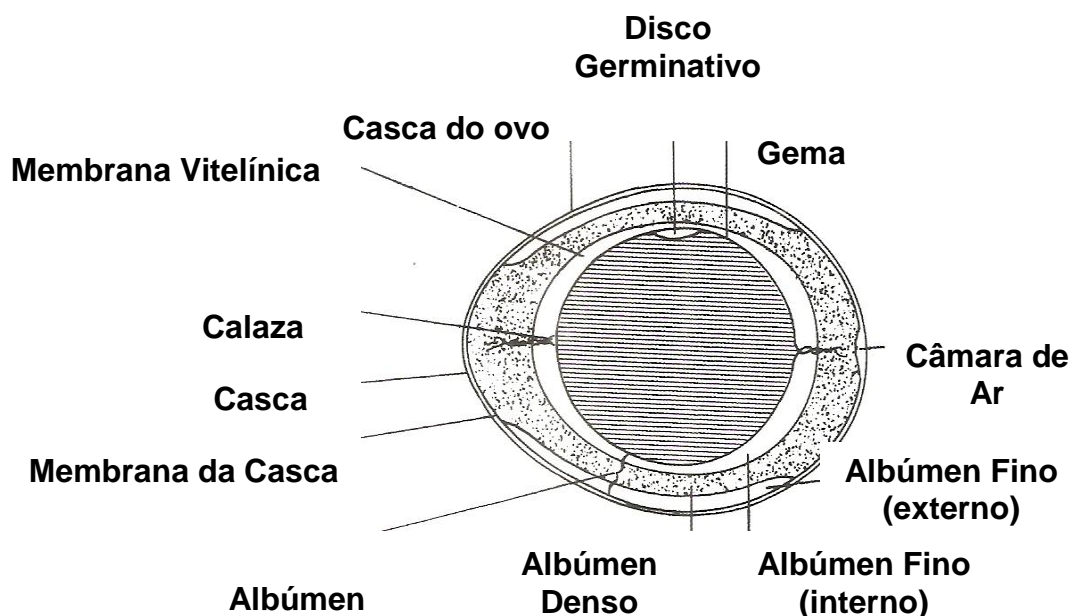
A exportação brasileira de ovos em 2009 atingiu aproximadamente 36 mil toneladas, um aumento de 2,36% da quantidade embarcada no ano de 2008 (UBA, 2009). Segundo a Secretaria de Comércio Exterior (SECEX), do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, no acumulado de 2009, o volume exportado teve um aumento de 2,4% (1,6 milhão caixas de 30 dúzias de ovos) em relação ao ano anterior (UBA, 2010).

A quantidade de países que importam o ovo brasileiro ainda é tímida e para fortalecer o setor de postura, há muito espaço, oportunidades e condições para crescimento. Do volume exportado em 2009, 92% foram de ovos comerciais *in natura* (em casca), enviados principalmente para os Emirados Árabes Unidos, Angola e Omã (UBA, 2009). Os ovos industrializados, na forma de ovo integral, gema e clara (líquida e em pó) são exportados principalmente para o Japão (QUEVEDO, 2009).

2.2 FISILOGIA DA FORMAÇÃO DO OVO

Nas aves domésticas, o sistema reprodutivo da galinha sexualmente madura é constituído por um único ovário, o esquerdo, e respectivo oviduto (FURLAN, 2009; SESTI; ITO, 2009). A produção anual de uma galinha gira em torno de 265 ovos com peso médio de 58g, dependendo de uma boa alimentação e de um programa de luz adequado. (MORAES, 2011).

O ovo é formado por quatro partes principais: a casca, a membrana da casca, a gema e o albúmen ou clara (Figura 1). A casca representa 10% do peso do ovo, enquanto que a gema, ou oócito, representa 30% do peso total do ovo e o albúmen, representa 60% do peso do ovo (BENITES et al., 2005).



Fonte: Adaptado de COUTTS; WILSON (2007)

Figura 1 - Estrutura do Ovo

O oviduto é um tubo tortuoso, muito dilatável e largo, que durante a reprodução estende-se do ovário até a cloaca (FURLAN, 2009). Segundo Santos (2009) e Furlan (2009), o oviduto é formado por cinco regiões funcionais e distintas: infundíbulo, magno, istmo, útero ou glândula da casca e vagina. A gema (óvulo) ao passar por cada região citada vai sendo sucessivamente revestida pelo albúmen (albumina), pelas membranas interna e externa da casca, pela casca e por fim pela cutícula.

O infundíbulo possui parede muito delgada e ampla, com formato de funil e uma porção caudal, de estrutura mais espessa, semelhante a um túbulo. Internamente, observa-se na região do funil, a formação de pregas oblíquas e baixas, já na região tubular as pregas encontram-se espiraladas. (FURLAN, 2009; SANTOS, 2009). O epitélio de revestimento da região do funil é formado por células colunares ciliadas ou não e a borda fimbriada por duas camadas de epitélio mucoso (SANTOS, 2009). É durante a estada nesta região do oviduto que o óvulo é fertilizado e logo após recebe o depósito da primeira camada do albúmen (SESTI; ITO, 2009). Em resumo, nesta região ocorre a captação do óvulo, fecundação, lubrificação da mucosa para a passagem do ovo em formação e formação das

calazas, proteínas mucinas retorcidas que mantêm a gema no centro do ovo (BENITES; TABELÃO, 2005).

O magno, segundo Benites e Tabeleão (2005) também conhecido como glândula albuminífera, é a parte mais longa e espiralada do oviduto. Apresenta as paredes espessas e esbranquiçadas (FURLAN, 2009). Segundo Santos (2009) a grande espessura se deve a presença de numerosas glândulas tubulares que estão dispostas dentro das pregas longitudinais da mucosa. O epitélio possui a mesma disposição celular da região anterior. As funções desempenhadas por esta região são: formar a base do albúmen e adicionar, ao ovo em formação, a mucina e a maior parte dos íons sódio, cálcio e magnésio (BENITES; TABELÃO, 2005). Segundo Coutts e Wilson (2007), o albúmen é formado por quatro estruturas: as calazas, que envolve a gema; a camada fina interna, que envolve as calazas; a camada espessa ou densa, que corresponde a maior porção do albúmen e está aderida à membrana da casca nas extremidades do ovo e por fim, a camada fina externa.

O istmo é a região do oviduto mais curta e estreita, possui camada muscular mais espessa e mais desenvolvida que a do magno. Em sua parede encontra-se poucas glândulas tubulares secretoras das duas membranas da casca (FURLAN, 2009; SANTOS, 2009). Segundo Benites e Tabeleão (2005), nesta região é secretada a membrana testácea, composta de dois folhetos, membranas interna (fibrosa) e externa (queratinosa) da casca, que formam um saco fechado para conter os componentes do ovo em formação. Embora, a deposição da maior parte da casca do ovo ocorra na glândula da casca, a calcificação inicial de pontos específicos ou sítios mamilares de nucleação sobre a membrana externa ocorre no istmo (NASCIMENTO; SALLE, 2003; BENITES; TABELÃO, 2005). Ainda nesta região são adicionadas ao albúmen proteínas e uma pequena quantidade de água.

A glândula da casca, também conhecida por útero, é uma região curta, dilatada em forma de bolsa, apresenta pregas longitudinais e transversais e contém glândulas tubulares semelhantes a do magno (BENITES; TABELÃO, 2005; SANTOS, 2009). Segundo Santos (2009), o epitélio desta região é colunar com células ciliadas e secretoras, como nas outras regiões. A região tem como função a formação da casca e da cutícula, adição de grande quantidade de água, vitaminas, maior parte dos íons potássio e secreção de pigmentos do tipo porfirina, responsáveis pela coloração da casca do ovo. De acordo com Swenson e Reece

(1996) o ovo recém posto é úmido, o que permite retirar facilmente a cutícula e os pigmentos.

A vagina é a região final do oviduto, que se abre na cloaca com uma abertura em forma de fenda na parede lateral do urodeo (FURLAN, 2009). Possui uma camada muscular bem espessa formada de fibras lisas e circulares (SANTOS, 2009). Sua função é transportar o ovo para o meio externo e reter os espermatozoides para futuras fecundações (BENITES; TABELÃO, 2005).

O processo biológico de formação do ovo tem início com o rompimento do folículo ovariano maduro (ovulação) e liberação do óvulo (gema), que será captado pela região do infundíbulo. Em seguida, o ovo em formação passa para região do magno, onde permanece por aproximadamente 3 horas (SESTI; ITO, 2009), e recebe o depósito da maior porção da proteína do ovo, o albúmen. Em continuação, ele chega ao istmo, onde fica por mais ou menos 90 minutos (SESTI; ITO, 2009), local da formação das membranas interna e externa da casca e da camada mamilar da casca. Após, o ovo em formação chega à glândula da casca e num período de 18 a 22 horas (SESTI; ITO, 2009) é formada a camada esponjosa pela deposição de carbonato de cálcio que vai se sobrepor a matriz orgânica. No processo de calcificação da casca os íons cálcio são retirados da corrente sanguínea, segundo Ito (2000), os níveis de cálcio sanguíneo variam conforme a disponibilidade desse mineral na dieta e o equilíbrio fisiológico da galinha. Os mecanismos mais conhecidos que influenciam a disponibilidade de cálcio no sangue são: a absorção intestinal, a osteoformação, a mobilização do cálcio ósseo e a excreção renal e intestinal. Ainda na glândula da casca, antes da ovoposição, ocorre a formação da cutícula e da pigmentação da casca.

Conforme Solomon (1991), a casca do ovo tem espessura de 0,28 a 0,42mm e contém 7.000 a 17.000 poros com 13 micra de diâmetro, conferindo permeabilidade para a troca de gases. Em condições normais, as bactérias não conseguem penetrar no ovo através desses poros, uma vez que os mesmos são recobertos pela cutícula cuja capacidade de proteção dura, aproximadamente, quatro dias. Após este tempo, o seu efeito protetor diminui pela formação de rachaduras na película causadas pelo ressecamento.

A estrutura da casca do ovo está dividida de acordo com a composição química e estrutural: membrana interna e externa da casca, camada ou cone mamilar, camada em paliçada ou esponjosa e cutícula (CARBÓ 1987). O cálcio

compreende cerca de 4% do peso do ovo, enquanto a casca é formada por 95% de carbonato de cálcio (MILES, 1993).

De acordo com Carbó (1987), as duas membranas representam 4% do peso da casca e são de natureza protéica e polissacarídica, a camada mamilar corresponde a 25% da espessura da casca e consiste na capa calcificada formada sobre a membrana externa da casca, contém matéria orgânica (mucopolissacarídeos e proteína sulfurada) formando núcleos, onde ocorre o depósito dos cristais de calcita, dispostos de modo a formar pequenos espaços por onde passa o ar (poros). A camada esponjosa constitui 60 a 65% da casca, é formada por colunas poligonais e perpendiculares de cristais de cálcio que acompanham a disposição da camada mamilar. A cutícula é uma película fina, formada de proteínas, mucopolissacarídeos, lipídeos e pigmentos, que recobre toda a superfície do ovo.

2.3 ASPECTOS DA QUALIDADE DE OVOS

Para que o potencial nutritivo do ovo seja aproveitado pelo homem, é necessário que o ovo seja conservado durante período de comercialização, uma vez que pode transcorrer semanas desde o momento da postura até a aquisição e o consumo. Quanto maior for esse período, pior será a qualidade interna dos ovos, já que, logo após a postura, eles perdem qualidade de maneira contínua (MORENG; AVENS, 1990). De acordo Austic e Nesheim (1990) e Cruz e Mota (1996), a redução da qualidade interna dos ovos está associada principalmente à perda de água e de dióxido de carbono, durante o período de estocagem e é proporcional à elevação da temperatura ambiente. Para Stadelman e Cotterill (1994) vários atributos de qualidade interna são perdidos com o armazenamento prolongado do ovo, destacando-se as alterações do albúmen e da gema. À medida que o ovo envelhece, perde água e dióxido de carbono (CO_2) para o ambiente, o que provoca desequilíbrio do sistema tampão de ácido carbônico (H_2CO_3), promovendo assim, a elevação do pH do ovo. Esta alcalinização promove uma série de modificações físico-químicas no ovo, como: liquefação do albúmen denso, movimentação de líquidos entre os compartimentos, distensão e flacidez da membrana vitelina e rompimento da gema.

A qualidade do ovo é medida para descrever as diferenças na produção de ovos frescos, devido a características genéticas, dietas e fatores ambientais, aos quais as galinhas são submetidas ou a deterioração na qualidade do ovo durante o período de armazenamento (ALLEONI; ANTUNES, 2001).

A preservação da qualidade do ovo durante a manipulação e a distribuição depende do cuidado constante das pessoas envolvidas nestas atividades. Depois da postura, a qualidade do ovo não pode ser melhorada (COUTTS; WILSON, 2007). No mercado de comercialização de ovos frescos é preciso atender padrões rigorosos de forma a assegurar que somente ovos de alta qualidade cheguem ao consumidor.

Um aspecto importante que pode auxiliar a preservação da qualidade interna dos ovos seria a refrigeração dos ovos nos pontos de comercialização (SOUZA et al., 1997). No entanto, nas condições do mercado interno, 92% dos ovos são comercializados *in natura* e todo o processo de comercialização ocorre sem refrigeração.

De acordo com Coutts e Wilson (2007) qualidade do ovo é um termo geral que se refere aos vários padrões que definem tanto a qualidade interna como a externa. Subsidiando alguns destes padrões, se observa o peso do ovo, importante parâmetro na padronização, comercialização e fiscalização do produto. Segundo Ahn et al. (1997) e Akbar et al. (1983), o peso do ovo incorpora três componentes: a gema, o albúmen e a casca. A proporção entre gema e albúmen é determinada em sua maior parte pela linhagem e idade da poedeira. As poedeiras em início de postura produzem ovos pequenos, variando de 35 a 45 gramas (COTTA, 1997). O peso do ovo aumentará com a idade da poedeira. Fatores associados à ave (genética, idade e precocidade sexual), a nutrição e o ambiente também podem influenciar o peso do ovo (LARBIER; LECLERCQ, 1992). À medida que a galinha envelhece, ocorre aumento de até 20% no peso do ovo, porém não ocorre aumento proporcional no peso da casca (MILES, 1993).

2.3.1 Qualidade Externa dos Ovos

Conhecida também como qualidade de casca, porque enfoca a limpeza, a textura, o formato e a integridade da casca. Tanto as granjas comerciais como todos

os tipos de estabelecimentos que comercializam ovos se preocupam com a qualidade de casca do ovo (COUTTS; WILSON, 2007).

2.3.1.1 Integridade da Casca

Os ovos com as cascas trincadas (fratura da casca, porém as membranas da casca estão integras) ou quebradas (membranas rompidas com extravasamento de conteúdo) não devem ser destinados ao consumo (COUTTS; WILSON, 2007). Os ovos de cascas sujas por excretas prejudicam a imagem do produto e aumentam a probabilidade de contaminação bacteriana.

2.3.1.2 Textura da Casca

O ovo deve apresentar casca lisa, sem deformação, sem manchas, pois as áreas de aspereza e enrugamentos são pontos frágeis para quebra do ovo (GUEDES, 1961).

2.3.1.3 Tamanho do Ovo

Pode ser definido pela idade do lote, precocidade de início de produção, manejo da alimentação e dos níveis nutricionais, consumo de água e ração, bem como pela temperatura ambiente (SESTI; ITO, 2009). Segundo Carvalho et al. (2007), o ovo aumenta de tamanho com o avançar da idade da poedeira.

2.3.1.4 Forma do Ovo

A avaliação da forma do ovo é importante para padronização das embalagens. O ovo deve ser ovóide, ovos de forma irregular (alongados, achatados, com estrangulamento mediano) são mais sujeitos a quebra durante o transporte (GUEDES, 1961).

2.3.1.5 Gravidade Específica

Este parâmetro indica a qualidade da casca em relação aos demais componentes do ovo e esta diretamente relacionada com a espessura da casca (MILES, 1993). Segundo Mendonça Jr. (1993), no período de postura a gravidade específica desejável deve estar entre 1,080 e 1,088.

Ela é obtida pela imersão do ovo em diferentes soluções salinas com densidades variando de 1,050 a 1,100, preparadas com o auxílio de um densímetro.

Então, mergulha-se o ovo em cada solução (da menor para a maior densidade) (HAMILTON, 1982). Na solução em que o ovo flutuar será a gravidade determinada, desta forma, quanto maior a gravidade específica melhor será a qualidade da casca. Segundo Miles (1993), quanto mais fina for a casca, menor será a gravidade específica e maior será a possibilidade de trinca e de quebra dessa casca.

2.3.1.6 Percentagem de Casca

É obtida após a quebra do ovo e secagem da casca em estufa à 65°C/24h ou em meio ambiente por um período de 48 horas. Quando a casca é seca em estufa, antes de se pesar a casca, deve-se aguardar 30 minutos até esfriar e adquirir a umidade ambiente. Em seguida, a casca será pesada em balança eletrônica com precisão de 0,01g. Para se obter este parâmetro divide-se o peso da casca seca pelo peso do ovo inteiro e multiplica-se por 100.

2.3.1.7 Espessura da Casca

Ela deve ser no mínimo de 0,33 mm. Após a quebra no meio do ovo (região equatorial) e a secagem da casca, com o auxílio de um micrômetro, toma-se a medida de fragmentos de casca dos dois pólos e do meio do ovo. Depois calcula-se a média aritmética dos três valores, obtendo-se assim a espessura da casca, que quanto maior melhor será a sua qualidade.

2.3.1.8 Cor da Casca

Está ligada á genética e não tem influência na qualidade nutricional do ovo, mas influi na qualidade comercial. Segundo Guedes (1961), a cor da casca do ovo varia de acordo com as linhagens genéticas e pode torna-se mais clara, à proporção que avança a postura.

2.3.2 Qualidade Interna dos Ovos

É observada, quando o conteúdo dos ovos é removido da casca. Envolve as propriedades funcionais, estéticas e microbiológicas da gema e do albúmen do ovo (COUTTS; WILSON, 2007) e se refere a limpeza e viscosidade da clara (albúmen), tamanho da câmara de ar, formato e resistência da gema.

2.3.2.1 Câmara de Ar

Deve ser observada quanto ao tamanho, pois quanto mais velho o ovo maior a perda de água e conseqüentemente, maior o tamanho da câmara de ar. Uma má qualidade da casca pode contribuir para o aumento da câmara de ar, já a má qualidade do albúmen pode contribuir para a redução da mesma (SESTI ; ITO, 2009).

2.3.2.2 Integridade da Câmara

Deve ser avaliada, pois a ausência da câmara de ar ou a localização anômala tem relação com erros de manipulação e / ou boa qualidade de casca do ovo (SESTI ; ITO, 2009).

2.3.2.3 pH do Albúmen

Os ovos frescos e com qualidade apresentam pH neutro e clara límpida, transparente, consistente, densa e alta com pequena porção mais fluída (MURAKAMI et al., 1994). Em um ovo de postura recente, o pH do albúmen está entre 7.6 e 7.9, no qual a maioria dos microrganismos cresce. Entretanto, o pH do albúmen aumenta de acordo com o aumento do período de armazenamento do ovo e pode chegar a 9.5, faixa que tem efeito inibidor no crescimento de bactérias (ALLEONI; ANTUNES, 2001).

2.3.2.4 Altura do Albúmen / Unidade Haugh (HAUGH, 1937)

Quando o ovo é quebrado em uma superfície lisa, é possível determinar a qualidade desse ovo, pois, à medida que ele envelhece, a proporção de albúmen líquido aumenta em detrimento do albúmen denso (COUTTS; WILSON, 2007). A perda de gás carbônico pode provocar alteração na qualidade do albúmen e no sabor do ovo em decorrência do aumento da alcalinidade, além das inúmeras reações químicas que ocorrem no seu interior, envolvendo o ácido carbônico (H_2CO_3) (MORENG; AVENS, 1990).

A unidade "Haugh" (UH) é o parâmetro mais usado para expressar a qualidade do albúmen e é representada por uma expressão matemática que correlaciona o peso do ovo com a altura do albúmen denso. De um modo geral, quanto maior o valor da UH, melhor a qualidade do ovo (RODRIGUES, 1975).

Os ovos após a postura apresentam maior altura de albúmen e conseqüentemente maior UH, portanto melhor qualidade, já que a fluidificação do albúmen é um sinal de perda da qualidade. Segundo Coutts e Wilson, (2007) quanto mais fresco for o ovo, mais alto será o valor da UH.

Para calcular a unidade Haugh pode-se utilizar a fórmula de Cotta (1997), a saber:

$$UH = 100 \log (h - 1,7p^{0,37} + 7,6)$$

UH = unidade Haugh

h = altura do albúmen denso (mm)

p = peso do ovo (g)

Segundo Sesti e Ito (2009), a consistência do albúmen avaliada em UH deve ser aproximadamente 70, abaixo de 50 é considerada ruim.

A legislação brasileira não utiliza a unidade Haugh como parâmetro de avaliação da qualidade interna de ovos. No entanto, nos EUA a classificação dos ovos comerciais em classes de qualidade é feita de acordo com UH (STADELMAN; COTTERILL, 1994).

2.3.2.5 Percentagem de Albúmen

É determinada dividindo-se o peso do albúmen pelo peso do ovo inteiro e multiplicando-se por 100 (HOLTS; ALMIQUIST, 1932).

2.3.2.6 Manchas na Gema ou Albúmen

A gema de um ovo de postura recente é redonda e firme. Na medida em que o ovo fica mais velho, a gema absorve água do albúmen, aumentando o seu tamanho. Isto determina uma ampliação e fraqueza na membrana vitelínica e a gema se mostra plana e com manchas. A ocorrência de pequenas manchas de carne ou sangue na gema ou no albúmen é um fato normal e não prejudica em nada o valor dos ovos para o consumo (OLIVEIRA, 2000). Entretanto, ovos com desenvolvimento embrionário ou deteriorados, em hipótese alguma são aceitáveis para a comercialização (BRASIL, 1997).

2.3.2.7 pH da Gema

Nos ovos de postura recente, o pH da gema geralmente está próximo de 6.0 (SESTI; ITO, 2009). Durante o armazenamento há um aumento gradativo do pH e ele pode alcançar a faixa de 6.4 a 6.9.

2.3.2.8 Altura da Gema

Após a quebra do ovo, a medida é determinada com o auxílio de um equipamento específico (micrômetro), quanto maior a altura da gema melhor a sua qualidade (GUEDES, 1961).

2.3.2.9 Percentagem de Gema

É determinada dividindo-se o peso da gema pelo peso do ovo inteiro, em seguida multiplica-se por 100.

2.3.2.10 Cor da Gema

É verificada por comparação com um padrão de cor estabelecido num leque colorimétrico com escala de cores que vai do amarelo claro até o alaranjado e numericamente de 1 a 15 (COUTTS; WILSON, 2007). Após a quebra do ovo determina-se por aproximação a cor mais semelhante a da gema. Segundo Sesti e Ito (2009) a coloração amarela pode variar com o tipo da alimentação.

De acordo com Coutts e Wilson (2007), o primeiro passo no processo de controle de qualidade é proceder a retirada de ovos com defeitos óbvios, em seguida deve-se fazer a ovoscopia, antes de outros testes. Na ovoscopia coloca-se o ovo à frente de um foco de luz (ovoscópio), numa sala escura, e assim pode-se visualizar defeitos internos, como manchas de sangue e de carne na gema, câmara de ar aumentada, claras muito ralas, cascas trincadas e finas (GUEDES, 1961).

Na atualidade existe uma máquina, a Digital Egg Tester DET 6000, marca NABEL capaz de realizar, individualmente, exames para determinar a qualidade do ovo, em até 15 segundos. Esta máquina pode fazer a medição do peso do ovo (Figura 2), da resistência da casca (Figura 3) e a classificação do ovo. Após a quebra do ovo e a liberação do conteúdo, com auxílio de feixes paralelos de raio "Laser", é possível fazer a medição da cor da gema e altura do albúmen (Figura 4), bem como detectar manchas de sangue no interior do ovo. Com auxílio de um micrometro é feita a medição da espessura da casca (Figura 5). O cálculo da

unidade Haugh é feito automaticamente. Ao término das análises, os resultados são impressos.



Figura 2 - Pesagem dos ovos



Figura 3 - Teste de resistência da casca à quebra



Figura 4 – Leitura à “Laser” para determinar a cor da gema e a altura do albúmen.



Figura 5 - Medida de espessura de casca

Para manter uma boa qualidade de ovo, principalmente a de casca, durante toda a vida produtiva da poedeira é necessário controlar a alimentação das aves, fornecendo ração com níveis adequados de cálcio e fósforo, para que ocorra a perfeita deposição de cálcio na casca; adotar um bom programa de vacinação para evitar prejuízos com doenças que podem causar anormalidades na casca e no conteúdo dos ovos, como por exemplo a Síndrome da Queda de Postura ou *Eggs Drop Syndrome* (EDS), Bronquite Infecciosa (BI), Doença de Newcastle (DN) entre outras (ITO, 2000); fazer a escolha da linhagem de aves; adotar um manejo rigoroso com o acompanhamento do peso das aves, da densidade de ave por gaiola, do tipo de inclinação da gaiola, da frequência de colheita e da temperatura ambiente (TOGASHI et al., 2009), o conforto térmico propicia melhores condições para que o animal expresse seu potencial produtivo; controlar a temperatura e a umidade de armazenamento; e por fim garantir a integridade do ovo do transporte até a hora da embalagem. Os programas de luz também devem ser observados, pois tem um importante papel no desenvolvimento de um lote de poedeiras, tanto no que se refere a persistência do pico de postura como no tamanho e peso dos ovos produzidos (TOGASHI et al., 2009).

2.4 CONCEITO E CLASSIFICAÇÃO DE OVOS

Entende-se pela simples designação ovos, os ovos de galinha em casca, sendo os demais acompanhados da indicação da espécie que procedem (BRASIL, 1997).

Existem dois tipos de ovos comestíveis produzidos e comercializados no mercado. Os ovos de casca branca e os de coloração marrom. As poedeiras de origem da raça *Leghorn* branca dão origem aos ovos com casca branca, já as aves de origem das raças *Rhodes Island Red*, *New Hampshire* e *Leghorn* vermelha, originam ovos de casca marrom. As duas poedeiras são híbridas e possuem características fisiológicas idênticas, sendo que as que produzem ovos marrons são um pouco mais pesadas no início de postura e, com isto, um pouco menos eficiente em relação às brancas. Quanto à qualidade dos ovos, pode-se informar que eles são semelhantes, porém, os ovos de casca marrom quebram menos devido ao seu menor peso em geral, já que, os ovos de casca branca, possuem resistência um pouco inferior aos de cor marrom (LANA, 2000).

Com o objetivo de facilitar a comercialização e a fiscalização de ovos de galinha, segundo a legislação brasileira, os ovos devem ser vendidos em embalagens que deverão conter informações quanto à coloração da casca, tipificação e classificação (BRASIL,1991). De acordo com a Resolução CIPOA nº 005 de 19/11/1991, quanto à coloração de casca, o ovo será classificado em “Branco” ou “De cor”; por tipificação entende-se as condições de cada unidade dentro de um processo de seleção por pesagem, onde são determinadas seis categorias (Quadro 1) e por fim classificação é um processo no qual cada unidade será submetida a uma seleção baseada na qualidade dos ovos, onde cinco categorias são consideradas: A, B, C, D e E (Quadro 2) (BRASIL, 1991; MORAES et al., 2007).

O ovo que não se aproximar das características mínimas exigidas para as diversas classes e tipos estabelecidos pela legislação brasileira será considerado impróprio para o consumo *in natura*, sendo apenas permitida sua utilização na indústria (BRASIL, 1991).

Quadro 1 - Tipos de ovos e parâmetros a serem considerados para a tipificação de OVOS.

Tipificação do Ovo	Parâmetros - Peso (g/unidade)
Tipo 1 - Jumbo	≥ 66
Tipo 2 - Extra	entre 60 - 66
Tipo 3 - Grande	mínimo entre 55 - 60
Tipo 4 - Médio	mínimo entre 50 - 55
Tipo 5 - Pequeno	mínimo entre 45 - 50
Tipo 6 - Industrial	< 45

Fonte: BRASIL, 1991, modificado por MORAES et al., 2007.

Quadro 2 - Classificação de ovos e parâmetros considerados

Classe	Casca	Câmara de Ar	Albúmen	Gema
A	limpa íntegra sem deformação	fixa máximo 4 mm	límpido transparente consistente calazas íntegra	translúcida consistente centralizada s/ desenvol.germe
B	limpa íntegra ligeira deformação discreta mancha	fixa máximo 6 mm	límpido transparente consistente relativa calazas íntegra	ligeiramente descentralizada e deformada contorno definido s/ desenvol.germe
C	limpa íntegra defeito textura e contorno manchada	solta máximo 10 mm	ligeiramente turvo relativamente consistente calazas íntegras	descentralizada e deformada contorno definido s/ desenvol.germe
D	Ovo sujo - com casca não quebrada, com sujeira ou material externo aderente, manchas moderadas			
E	Ovo trincado - com casca quebrada ou rachada, mas cujas membranas da casca estejam intactas e cujo conteúdo não vaze.			

Fonte: BRASIL, 1991, modificado por MORAES et al., 2007.

2.5 MICOPLASMOSE AVIÁRIA POR *Mycoplasma synoviae*

Consideradas como um dos principais problemas da avicultura mundial, as micoplasmoses aviárias são causadas por bactérias do gênero *Mycoplasma* (RAZIN *et al*, 1998). Entre as aves, três espécies apresentam importância econômica, MG, MS e MM. O MG é o agente etiológico da doença respiratória crônica (DCR), aerossaculite em galinhas e perus e da sinusite infecciosa em perus. O MM e o MS estão associados ao quadro de aerossaculite e sinovite em perus (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009).

2.5.1 Histórico

Segundo Kleven (1997), a Sinovite Infecciosa dos perus foi descrita e associada pela primeira vez com micoplasmas por Olson, respectivamente em 1954 e 1956. Somente mais tarde, Olson et al. (1964) estudaram várias amostras e propuseram o nome *Mycoplasma synoviae*, o qual foi posteriormente confirmado como uma nova espécie por Jordan et al. (1982). Posteriormente, essas

manifestações articulares foram observadas em frangos de corte e até os anos 80 tornaram-se comuns (NASCIMENTO, 2001).

A ocorrência de uma forma respiratória da infecção por MS foi registrada por Olson et al. (1964). Mais tarde alguns pesquisadores verificaram o aparecimento de aerossaculite como resultado de uma infecção combinada do MS com a aplicação por aerossol das vacinas contra a DN e BI (KING et al., 1973; KLEVEN et al., 1972). Atualmente, o MS é mais comumente encontrado determinando uma inaparente infecção respiratória, que pode resultar em aerossaculite e sinovite/artrite em galinhas, e em perus apenas o quadro articular (KLEVEN, 2003; NASCIMENTO; PEREIRA, 2009),.

Os sinais clínicos e as lesões macro e microscópicas, em infecção natural ou experimental por MS foram descritas em detalhes por Fletcher et al. (1976), Kleven et al. (1972), Kleven (1997) e kleven (2003).

Mais recentemente tem sido registrada em vários países, principalmente europeus, em plantéis de poedeiras comerciais com histórico de queda de produção (FEBERWEE et al., 2008), focos de uma nova patologia da casca do ovo, denominada Anormalidades no Ápice da Casca ou Eggshell Apex Abnormalities (EAA), cuja etiologia tem sido associada a infecção por cepa MS com tropismo para as células epiteliais do sistema reprodutivo. As aves com EAA produzem ovos com casca áspera e fina, aumento da translucência, rachaduras e quebras no ápice da casca (FEBERWEE et al., 2009).

2.5.2 Classificação e Características Biológicas

Os micoplasmas são os menores procariontes (bactérias) atualmente conhecidos, podem ter vida intra ou extracelular (RAZIN et al., (1998), não possuem parede celular (perda da capacidade de síntese) fato que os torna naturalmente resistentes aos antibióticos, como as Penicilinas, as quais impedem a síntese das estruturas da parede celular das bactérias (NASCIMENTO, 2001).

Diferentemente dos outros procariontes, os micoplasmas necessitam de lipídeos (colesterol) para crescer, parte integrante de sua tríplice membrana plasmática (protéica, glicoprotéica e glicofosfolipídica) (NASCIMENTO, 2001).

O MS, assim como outros microrganismos do gênero, têm formato cocóide, cocobacilar ou pleomórfico, mede 200-300 nm, não se cora pelo Gram, mas cora-se

pelo Giemsa ou outros corantes similares (WHITFORD et al., 1993; YAMAMOTO, 1990).

Outras características peculiares do gênero *Mycoplasma* são comuns ao MS: filtrabilidade (filtros 300-450 nm de poro) e crescimento em meio líquido (caldo) e sólido (agar). Nesse último observa-se a formação de colônias (0,01 a 0,05 mm de diâmetro) de dentro para fora do agar, em forma de ovo frito ou mamilar (NASCIMENTO, 2001).

Taxonomicamente, a falta de parede é utilizada para separar os micoplasmas das outras bactérias, numa classe denominada Mollicutes (latim *mollis* = macio; *cutis*= pele). O MS pertence a ordem *Mycoplasmatales*, família *Mycoplasmataceae*, gênero *Mycoplasma* (RAZIN et al., 1998).

2.5.3 Patogênese do *Mycoplasma synoviae*

Os micoplasmas não possuem membrana nuclear, mas apresentam membrana plasmática composta de proteínas, glicoproteínas, glicolipídeos e fosfolipídeos, que constituem os principais determinantes antigênicos, capazes de estimular o sistema de defesa do hospedeiro (humoral e celular).

Os mecanismos utilizados pelo MS para determinar a forma clínica de infecção são os mesmos dos outros micoplasmas, ressaltando-se a anemia hemolítica, muito pronunciada nas aves com MS, pela presença de anticorpos (IgG) séricos comuns que reagem contra os micoplasmas e as células do hospedeiro, principalmente as hemácias (doença auto-imune) (RAZIN et al., 1998; STIPKOVITS; KEMPF, 1996), bem como um quadro de imunodepressão temporária.

A infecção por micoplasmas tem início com a fixação desses microrganismos a receptores (resíduos de ácido siálico) das células epiteliais do trato respiratório do hospedeiro (LOCKABY et al., 1999).

Com a progressão do processo infeccioso nota-se a perda dos cílios e a degeneração celular, seguida da descamação desse epitélio. Segundo Stipkovits e Kempf (1996) a presença de heterófilos atraídos pelos produtos de metabolismo liberados pelo MS determina o aparecimento de material caseoso nas áreas lesadas principalmente nas articulações. A lise celular pode ocorrer ainda pela ação dos anticorpos específicos, devido à íntima associação dos micoplasmas com as

células do hospedeiro (YAMAMOTO, 1990). Além disso, a patogenicidade desse microrganismo pode ser agravada pelo aparecimento de uma intensa proliferação de Linfócitos B e T (poder mitogênico), pelo estímulo dos micoplasmas. Isto pode ser comprovado pela presença de infiltração linfocitária e não de heterófilos no trato respiratório e nos tecidos articulares de aves infectadas por MS (NASCIMENTO, 2001; RAZIN et al., 1998). A resposta imunológica das aves frente a uma infecção bacteriana é caracterizada pela presença de heterófilos, os quais são as primeiras células de defesa a serem encontradas no local da infecção (NASCIMENTO, 2001).

Além de todos esses mecanismos, o micoplasma pode passar à forma latente e aguardar um estado de enfraquecimento do hospedeiro ou mesmo seu deslocamento (por associação com vírus ou outras bactérias) do local de permanência (habitat) para iniciar um quadro de enfermidade (KLEVEN, 2003; YAMAMOTO, 1990).

2.5.4 Patogenicidade e virulência

As cepas de MS podem ser diferenciadas quanto à patogenicidade, virulência, genética e tropismo, porém essas diferenças não podem ser detectadas nos exames sorológicos (LOCKABY et al., 1998; STIPKOVITS; KEMPF, 1996). Nos trabalhos de Ewing et al. (1998) e Lockaby et al. (1999) foram demonstradas a existência de cepas de MS virulentas, mas com baixa ou alta patogenicidade. No Brasil, Fiorentin et al. (1992) encontraram como resultado de seus experimentos, amostras de MS de baixa patogenicidade, mas que mantiveram a virulência.

A forma (virulência) e a intensidade das lesões provocadas (patogenicidade) são determinadas pelo número de microrganismos no inóculo e a via de infecção utilizada. 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 e Kempf (1996) a infecção pelo ovo (transmissão vertical) pode determinar ambos os quadros clínicos apresentados.

A presença de infecções intercorrentes com os vírus da BI, da DN e da Influenza A e as bactérias *Escherichia coli*, MG e MM, que atuam de forma sinérgica e podem modificar a disseminação da infecção por MS (STIPKOVITS; KEMPF,

1996). Ewing et al. (1998) e Kleven et al. (1972) mostraram que a presença de outro microrganismo (MG, MM e vacinas contra a DN e BI) estimula o aumento da patogenicidade do MS (sinergismo patogênico).

2.5.5 Epizootiologia

O MS tem distribuição universal e em condições naturais ocorre em galinhas (7 dias ou 4 a 16 semanas de idade), perus (10 a 24 semanas de idade) e galinha d'angola (*Numida melleagris*) (KLEVEN, 1997). Segundo Kleven (1997) e Stipkovits e Kempf (1996) em outras espécies como codornas, patos (YAMADA; MATSUO, 1983), gansos, faisões (BRADBURY et al., 2001; MORISHITA et al., 1998), pombos e pardais, o MS pode manifestar-se tanto de modo natural como experimental.

A disseminação da infecção por MS é mais rápida do que a do MG (KLEVEN, 1997; STIPKOVITS; KEMPF, 1996). Sua transmissão pode ser horizontal ou vertical. A primeira normalmente ocorre pelo contato direto com as aves infectadas (trato respiratório), segundo Kleven (1997) desta forma normalmente 100% das aves são infectadas, mas podem ou não apresentar lesões articulares. A transmissão indireta pelo Homem ou fômites tem papel importante, devido a possibilidade de persistência dos micoplasmas no meio ambiente (CHRISTENSEN et al., 1994). A alta capacidade de disseminação do MS no meio ambiente foi estudada por Marois et al. (2000; 2002), que encontraram amostras de *Mycoplasma spp.* na ração, água de bebida, penas e fezes de ambientes contaminados com aves infectadas natural e experimentalmente.

A transmissão pelo ovo (vertical) está registrada e representa um importante fator na disseminação do MS em galinhas e perus, apesar de nem todas as aves nascidas de plantéis contaminados por MS, estarem contaminadas (KLEVEN, 1997). Nesse caso, conforme Stipkovits e Kempf (1996) a maior taxa de contaminação dos ovos ocorre entre as quatro ou seis primeiras semanas após a infecção. O ovo é infectado a partir de lesões dos sacos aéreos abdominais, ao ser liberado pelos ovários, contaminando na sequência o oviduto e os futuros ovos (NASCIMENTO; PERREIRA, 2009).

Os micoplasmas podem sobreviver na forma desidratada por vários dias, desde que protegidos da luz solar. Para sua conservação é indicado o congelamento à -70°C ou a liofilização. Quando em meio de cultivo líquido pode ser estocado em

congelador comum (-20°C) após a adição de 50% de glicerina ou glicerol (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 1984).

A infecção aguda pode tornar-se crônica e persistir por toda a vida do plantel. Essa forma crônica pode ocorrer em qualquer idade e ainda não ser precedida de uma fase aguda (KLEVEN, 1997).

2.5.6 Manifestações clínicas e alterações anatomopatológicas

O período de incubação do MS depende da via de infecção, do número de microrganismos, da virulência da cepa, da suscetibilidade da espécie e da presença de fatores de riscos. Segundo Kleven (1997) os anticorpos podem ser detectados antes de a doença clínica tornar-se evidente.

Em aves infectadas experimentalmente os primeiros sinais clínicos apareceram 11 a 21 dias após o contato direto, 2 a 10 dias na infecção pelo coxim plantar, 7 a 10 dias por via endovenosa, 7 a 14 dias por inoculação no seio nasal e em torno de 40 dias quando da instilação do MS é feita diretamente na conjuntiva (STIPKOVITS; KEMPF, 1996).

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 respiratória, muito comum atualmente em galinhas (ausentes nos perus), apresenta morbidade de 90 a 100%. Tem como característica clínica surgir como uma infecção assintomática ou como leve doença respiratória 4 a 6 dias após a infecção. Neste caso as manifestações clínicas são semelhantes àquelas da infecção por MG: respiração ofegante, fraqueza, retardo no crescimento, elevação da mortalidade e queda da produção de ovos (KLEVEN, 2003; STIPKOVITS; KEMPF, 1996). Os frangos nascidos de plantéis contaminados por MS podem apresentar redução no ganho de peso e na conversão alimentar e elevada taxa de condenação de carcaça (KLEVEN, 1997).

Mais recentemente, estudo epidemiológico de Dufour-Gesbert et al. (2006) em poedeiras comerciais mostrou que a infecção por MS é muito frequente em criações com idades múltiplas e pode causar queda na produção de ovos e

aumento na mortalidade. Outros estudos associaram a infecção por MS à produção de ovos com anormalidades no ápice da casca, conhecida como EAA (FEBERWEE et al. 2008; 2009).

Macroscopicamente, na infecção por MS observa-se principalmente, acúmulo de exsudato nas articulações e erosão da cartilagem articular; hepatomegalia e esplenomegalia; rins aumentados e pálidos; atrofia da bolsa de Fabricius e timo (STIPKOVITS; KEMPF, 1996). Na forma respiratória as lesões são semelhantes às aquelas provocadas pelo MG (NASCIMENTO, 2001), porém mais suaves. Segundo Kleven (2003) as lesões macroscópicas causadas pela infecção por MS incluem edema das articulações com a presença de exsudato amarelo acinzentado, envolvendo as membranas sinoviais da bainha dos tendões e do espaço articular e da base do esterno. Com a progressão da doença, o exsudato pode tornar-se caseoso e estender-se aos sacos aéreos e músculos adjacentes. Os rins podem aparecer aumentados de tamanho e pálidos. Em perus, as lesões articulares não são tão evidentes quanto em galinhas, com a presença de exsudato ao corte. Histologicamente, infiltrados heterofílicos e fibrinosos são observados principalmente nas articulações de pernas e pés. As membranas sinoviais encontram-se hiperplásicas com formação de vilos e infiltração difusa a nodular, de linfócitos e macrófagos.

2.5.7 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da infecção por MS não é muito fácil. Para Kleven et al. (1972) isso é devido à circulação nos plantéis (galinhas e perus) de cepas atípicas de MS. Stipkovits e Kempf (1996) acreditam que a fraca resposta imune que as cepas de MS induzem (WYETH, 1974; EWING et al., 1998) e a interferência na severidade da doença, principalmente pelas condições ambientais e presença de outros agentes infectantes, são fatores que podem interferir no diagnóstico (JORDAN et al., 1982; KLEVEN et al., 1991; KLEVEN, 1997).

Stipkovits e Kempf (1996) e Ewing et al. (1998) consideram que o ideal para o diagnóstico da infecção pelo MS é detectar a presença do MS pelo isolamento seguido da identificação. Para o isolamento do MS coleta-se fragmentos de tecidos lesados, exsudato sinovial e ocular, além dos suabes da traquéia e da fenda palatina. O cultivo dessas amostras coletadas é feito em meio de Frey modificado,

que contém NAD (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo) e o aminoácido cisteína (FREY et al., 1968).

A identificação das amostras de MS é feita pelas provas bioquímicas (teste de Dienes, pesquisa de digitonina, fermentação de glicose, hidrólise de arginina e fosfatase) e para a tipificação são usadas as provas sorológicas (NASCIMENTO et al., 2005). Segundo Whitford et al. (1993) são indicados a Imunofluorescência direta e indireta da colônia, Imunoperoxidase e Inibição do crescimento. Mais recentemente os testes biomoleculares (Perfil Protéico, Análise de DNA por Enzima de Restrição (RAPD) e PCR) podem ser empregados para a tipificação e diagnóstico das amostras (RAZIN; TULLY, 1995; STIPKOVITS; KEMPF, 1996). Destes a PCR é o método mais rápido, simples e sensível (LAUERMAN et al, 1993; ZHAO; YAMAMOTO, 1993; GARCIA et al., 1994). Na atualidade, a PCR desempenha um papel de grande importância no diagnóstico laboratorial por permitir amplificar fragmentos específicos do DNA presentes em uma pequena quantidade de amostra obtida diretamente de tecidos ou de exsudatos, ou de cultivo específico (MADIGAN, 2004). Nas infecções mistas, com outros micoplasmas ou bactérias, a PCR é uma alternativa rápida para o diagnóstico (NASCIMENTO et al., 1991). Segundo Kleven (1997) e Salisch et al. (1998) a sensibilidade deste teste é comparável à do isolamento seguido da identificação.

Os métodos sorológicos mais utilizados são os testes de Soroaglutinação Rápida em placa (SAR), HI (nem todas as cepas de MS são hemaglutinantes) e ELISA. Os anticorpos podem ser detectados também na gema pelos testes de HI e ELISA (STIPKOVITS; KEMPF, 1996; NASCIMENTO, 2001). As habilidades destes testes foram aferidos por Ewing et al. (1998) e tanto o HI como o ELISA mostraram-se negativos por várias semanas. No trabalho de Rhoades (1975) os resultados do HI não foram satisfatórios. Segundo Nascimento et al. (2005) na SAR são detectados somente anticorpos da classe IgM, que aparecem 3 a 5 dias pós-infecção. O HI é capaz de detectar principalmente IgG que aparecem 7 a 10 dpi.

Em nosso país os estabelecimentos integrantes do PNSA são acompanhados seguindo procedimentos epidemiológicos de amostragem e periodicidade. Os testes laboratoriais são realizados em laboratório credenciado ou oficial para o diagnóstico. Os testes indicados pela portaria do MAPA são SAR (triagem), HI e ELISA. Os soro com reação positiva à SAR na diluição 1:10 ou superior é positivo. Esses soros reagentes são confirmados pelo HI e ELISA. No HI

o soro reagente na diluição 1:80 ou superior é considerado positivo, entre as diluições 1:20 a 1:40 suspeito, menor que 1:20 negativo (BRASIL, 2001).

Nos estabelecimentos com aves reagentes nesses testes é feita a confirmação por cultivo e/ou PCR a partir de suabe de traquéia. No caso do isolamento do MS, para a identificação é recomendado a IFI, IFD, IC, Inibição do Metabolismo e PCR. Em caso de ave morta indica-se o isolamento em meios de cultura e a PCR (BRASIL, 2001).

2.5.8 Prevenção e Controle

Na atualidade, um dos maiores problemas do setor avícola é a prevenção e o controle das infecções por MG, MS e MM, especialmente MG e MS que continuam a ocorrer em frangos de corte, poedeiras comerciais, perus e aves reprodutoras. A adoção de medidas adequadas de manejo e desinfecção, assim como as de biossegurança: evitar o contato com outras espécies aviárias (pássaros, galinhas caipiras, lotes vacinados com MG e MS vivo, etc.) e aquisição de aves de um dia (pintos e peruzinhos), ou ovos férteis, livres de MG, MS e/ou MM para os sistemas de engorda (frango ou peru), postura e reprodução (matrizes e avós) (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009)

Em sistemas de produção de idades múltiplas, comum em galinhas de postura e aves de reprodução, o controle torna-se mais difícil, em função grande capacidade de transmissão vertical dos micoplasmas (CERDÁ, 2009). Nas 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; TANNER et al., 1993). A condição de ave livre de MG, MS e MM pode ser obtida 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).

No Brasil, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) foi instituído com a finalidade de garantir aos mercados internos e externos produtos e subprodutos avícolas com qualidade sanitária comprovada. Neste programa está previsto o controle e/ou erradicação das micoplasmoses aviárias, entre outras doenças, por ser esta uma

das enfermidades que representam barreira sanitária na comercialização dos produtos avícolas. (BRASIL, 1994; 2001).

Para garantir cumprimento do PNSA, a instrução normativa nº 44 de 23/08/2001, define as medidas para erradicação da micoplasmose por MG, MS e MM) em granjas de reprodução (linhagens puras, bisavós e avós) / produção de aves e de ovos férteis, de galinhas e perus, que realizam o comércio ou a transferência nacional e internacional de seus produtos destinados à reprodução e produção de aves e ovos férteis. No caso do comércio internacional, os estabelecimentos avícolas devem estar certificados como livres de micoplasmose aviária (MG, MS e MM). A referida instrução normativa ainda prevê a mesma conduta para os estabelecimentos avícolas de matrizes de perus, entretanto, para os de matrizes de galinhas apenas ações de vigilância para o MS (BRASIL, 2001).

O PNSA ainda estabelece as medidas para o monitoramento sorológico ou micoplasmológico em estabelecimento avícolas, de controles permanentes e eventuais, que realizam o comércio ou a transferência nacional e internacional de seus produtos destinados à reprodução e produção de aves e ovos férteis. No caso do comércio internacional, os estabelecimentos avícolas devem estar certificados como livres de micoplasmose aviária (BRASIL, 1994).

No mercado brasileiro está disponível para uso em poedeiras comerciais uma vacina viva contra MS que tem como base a cepa mutante termosensível 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).

2.5.9 Tratamento

No caso da micoplasmose por MS, o tratamento das aves com antimicrobianos específicos, como os antibióticos deve ser bem avaliado, o MS tem a tendência de interagir, de forma sinérgica, com outros patógenos respiratórios, como os vírus vacinais ou de campo da Doença de Newcastle e da Bronquite Infecciosa ou ainda outras espécies de micoplasmas e *Escherichia coli* (sinergismo patogênico), o que pode levar a um diagnóstico errado. Os tratamentos são

efetuados em poedeiras comerciais e frangos de corte infectados e podem ser realizados de forma preventiva (em aves jovens) ou curativa (lotes com diagnóstico sorológico ou clínico) (CERDÁ, 2009). Por isso, os medicamentos não devem ser utilizados até que se tenha um diagnóstico correto do problema (SALLE; MORAES, 2009).

Em situações especiais, por exemplo, erradicação de micoplasmas de linhas puras, pode-se efetuar o tratamento das aves adultas, do ovo fértil (via imersão dos ovos em solução de antibióticos ou injeção) e dos pintos recém-nascidos (FIORENTIN et al., 1992; KLEVEN, 2003; NASCIMENTO; NASCIMENTO, 1994; NASCIMENTO et al., 2005).

Os micoplasmas são sensíveis às tetraciclina, tilosina, tiamulina, quinolonas (enrofloxacina), tilmicosina e avilosina, mas a maioria dessas drogas são melhores bacteriostáticos que bactericidas. Elas podem ser administradas por via parenteral, água ou ração (CERDÁ, 2009).

O tratamento de aves com antibióticos pode ser recomendado para diminuir as perdas econômicas por aerossaculite e redução do desempenho nas criações de matrizes (poedeiras e frangos de corte) e de aves reprodutoras (SPINOSA et al., 2005). O uso de antimicrobianos não vai erradicar o MS do plantel (WHITHEAR, 1996), mas pode ser útil para diminuir a manifestação clínica e, conseqüentemente, no caso de reprodutoras diminuir a taxa de transmissão pelo ovo (vertical) a um nível que pode chegar a ser inferior a 0,1% (STIPKOVITS; KEMPF, 1996). Esta prática é vantajosa para lotes de poedeiras e frangos de corte, oriundos de matrizes infectadas por MS, somente quando feita na primeira semana de vida e por um período curto (SHAPIRO, 1994). O uso contínuo dessas drogas antimicrobianas pode aumentar os custos, induzir o aparecimento de cepas resistentes ou ainda determinar a deposição de resíduos da droga em produtos e subprodutos de origem avícola (SPINOSA et al., 2005). Neste caso, deve ser feito um período de carência antes da comercialização, respeitando-se a legislação pertinente ao assunto (BRASIL, 2001).

Outro ponto que precisa ser observado é que a terapia com drogas antimicrobianas, principalmente com aquelas que se acumulam em altas concentrações nas membranas mucosas do trato respiratório, como tiamulin e enrofloxacina (STIPKOVITIS; BURCH, 1994), tem como desvantagem afetar o diagnóstico etiológico da micoplasmose, por inibir ou reduzir a resposta imune e

interferir no isolamento dos micoplasmas, chegando, em muitos casos, a níveis zero de anticorpos e isolamento negativo tanto em frangos de corte quanto em aves de reprodução ou postura. Entretanto, ocorre reversão desse quadro com a suspensão do tratamento (KEMPF et al., 1992). A IN 44/2001 determina que os estabelecimentos integrantes do PNSA não podem utilizar, no período de três semanas antecedentes às provas laboratoriais de monitoramento, qualquer droga que possa comprovadamente interferir nos resultados dos testes sorológicos ou no isolamento dos micoplasmas (BRASIL, 2001).

Em situações especiais, por exemplo, erradicação de micoplasmas de linhas puras, pode-se efetuar o tratamento das aves adultas, do ovo fértil (via imersão dos ovos em solução de antibióticos ou injeção) e dos pintos recém-nascidos.

2.5.10 Importância Econômica

Na indústria avícola a importância econômica da infecção por MS traduz-se pela imunodepressão temporária, elevação de 1 a 4% da taxa de mortalidade na fase final de produção (SHAPIRO, 1994), redução de 5 a 10% na produção de ovos, de 5 a 7% na eclodibilidade (MOHAMMED et al., 1987; STIPKOVITS; KEMPF, 1996) e pelo alto custo com medicamentos e programas de controle, além do efeito sinérgico quando existe uma associação com outras doenças (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009).

De acordo com os estudos observacional de King et al. (1973) e experimental de Ewing et al. (1998), plantéis de frangos de corte infectados com MS podem apresentar elevada taxa de condenação, principalmente por aerossaculite, queda de peso ao abate, aumento da conversão alimentar e aumento da taxa de mortalidade.

Estudos prévios têm revelado que a infecção por MS é bastante comum em poedeiras comerciais (HAGAN et al., 2004), mas o impacto econômico dessa infecção normalmente tem uma estimativa baixa porque a infecção por MS tem causado pouco ou nenhum efeito na produção de ovos (MOHAMMED et al., 1987) e na qualidade de ovos (LOTT et al., 1978).

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 DESEMPENHO E TIPIFICAÇÃO DE OVOS DE POEDEIRAS COMERCIAIS (*Gallus gallus*) INOCULADAS COM *Mycoplasma synoviae*

Artigo enviado para o periódico Revista Brasileira de Medicina Veterinária, considerado como B1 no Qualis/CAPES.

**DESEMPENHO E TIPIFICAÇÃO DE OVOS DE POEDEIRAS COMERCIAIS
(*Gallus gallus*) INOCULADAS COM *Mycoplasma synoviae***

*PERFORMANCE AND TYPIFICATION OF EGG LAYING HENS (Gallus gallus)
INOCULATED WITH Mycoplasma synoviae**

Rita de Cássia Figueira Silva¹⁺, Virginia Léo de Almeida Pereira², Nilce Maria Soares³,
Marcos Roberto Buim⁴, Cristina Kimie Togashi⁵, Maria Lúcia Barreto⁶, Leandro dos Santos
Machado¹ e Elmiro Rosendo do Nascimento⁷

ABSTRACT. Silva R.C.F., Pereira V.L.A., Soares N.M., Buim M.R. Togashi C.K., Barreto M.L., Machado L.S. & do Nascimento E.R. [**Performance and typification of egg laying hens (*Gallus gallus*) inoculated with *Mycoplasma synoviae***] Desempenho e tipificação de ovos de poedeiras comerciais (*Gallus gallus*) inoculadas com *Mycoplasma synoviae*. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 00(0):00-00, 2012. Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24230-340, Brasil. E.mail: rcassiasilva@gmail.com

Mycoplasma synoviae (MS) can cause joint or respiratory disease in chickens. Recent studies have associated MS infection to drop in egg production, increase in mortality and in the amount of eggs with eggshell apex abnormalities. The objective of this study was to verify the influence of the MS infection by vaccine and standard strains in laying hens (*Gallus gallus*), in feed consumption, feed conversion, egg production and typification. A total of 150 birds with eight week of age were randomly split into three groups of 50 birds: inoculated with vaccine strain MS-H; inoculated with standard strain MS WVU 1853 and control ones, uninoculated. MS infection was monitored by PCR. Birds inoculated with vaccine and standard strain of MS showed average feed consumption and feed conversion higher than that found in control birds, but these differences were not significant (ANOVA, $p > 0.05$). Averages egg production of birds inoculated with the vaccine and standard strain MS were discretely smaller than control group, respectively, 1.4 and 3.1, but these differences were not significant ($P > 0.05$) by Chi-square and Kruskal-Wallis test (5%). Most of the eggs produced by birds inoculated with vaccine strain MS (46.5%) and those inoculated with standard strain (53,7%) were typed as medium (Type 4), while 49,1% of eggs layed by control birds were large (Type 3). These differences were significant ($p < 0.05$) in Chi-square test at 5%. MS infection was unable to influence the feed consumption, feed conversion and egg production, however MS infected birds produced eggs of lower commercial value.

KEY WORDS: mycoplasmosis, typification of eggs, layers

*Recebido em
Aceito em

1 Médico-veterinário, *M.MV.* Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, UFF, Niterói, RJ 24230-340. + Autor para correspondência. E.mail: rcassiasilva@gmail.com; leandromachadovet@yahoo.com.br

2 Médico-veterinário, *Dr.MV.* Faculdade de Veterinária, UFF, Rua Vital Brazil, 64 Santa Rosa, Niterói, RJ 24230-340, Brasil. E.mail: virginialeo@vm.uff.br

3 Médico-Veterinário, *Dr.MV.* Unidade de Pesquisa e Diagnóstico de Bastos, Instituto Biológico de São Paulo (IB/SP), Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo (SAA/SP), Av. Gaspar Ricardo, 1700, Bastos, SP 17690-000, Brasil. E.mail: nilcemarias@gmail.com

4 Médico-Veterinário, *Dr.CsBs.* Unidade de Pesquisa e Diagnóstico de Bastos, IB/SP, SAA/SP, Bastos, SP 17690-000. E.mail: marcosbuim@biologico.sp.gov.br

5 Médico-veterinário, *Dr.Ci.Ani.* Faculdade de Veterinária, UFF, Niterói, RJ 24230-340. E.mail: cktogashi@gmail.com

6 Médico-Veterinário, *Dr.MV.* Instituto Biomédico, UFF, Rua Professor Hernani Melo, 101, São Domingos, Niterói, RJ 24.210-130, Brasil. E.mail: lucia@vm.uff.br

7 Médico-veterinário, *Dr.Comp.Path.* Faculdade de Veterinária, UFF, Niterói, RJ 24230-340. E.mail: elmiro@vm.uff.br

RESUMO. *Mycoplasma synoviae* (MS) pode causar doença articular ou respiratória em galinhas. Estudos recentes sobre o assunto têm associado a infecção por MS à queda na produção de ovos, aumento na mortalidade e produção de ovos com anormalidades no ápice da casca. O objetivo deste estudo foi verificar a influência da infecção por cepas vacinal e padrão de MS, em poedeiras comerciais (*Gallus gallus*), no consumo de ração, na conversão alimentar e na produção e tipificação de ovos. Foram distribuídas 150 aves com oito semanas de idade, em três grupos aleatórios de 50 aves: aves inoculadas com cepa vacinal MS-H; aves inoculadas com cepa padrão MS WVU 1853 e controle, aves não inoculadas. A infecção por MS foi monitorada pela técnica de PCR. As aves inoculadas com as cepas de MS vacinal e padrão apresentaram médias de consumo de ração e conversão alimentar superiores aquela encontrada nas aves controle, mas essas diferenças não foram significativas (ANOVA, $p > 0,05$). As médias de produção de ovos nas aves inoculadas com as cepas de MS vacinal e padrão foram discretamente mais baixas em relação ao grupo controle, respectivamente 1,4 e 3,1 ovos a menos, sendo essas diferenças não significativas ($P > 0,05$) aos testes de Qui-quadrado (5%) e Kruskal-Wallis (5%). A maior parte dos ovos produzidos pelas aves inoculadas com as cepas MS vacinal (46,5%) e padrão (53,7%) foi tipificada na categoria Médio (Tipo 4), enquanto que 49,1% dos ovos produzidos pelas aves controle foram da categoria Grande (Tipo 3). Essas diferenças foram significativas ($p < 0,05$), no teste de Qui-quadrado (5%). A infecção por MS não foi capaz de influenciar, o consumo de ração, a conversão alimentar e a produção de ovos, entretanto as aves infectadas por MS produziram ovos de menor valor comercial.

PALAVRAS-CHAVE. micoplasmose, tipificação de ovos, poedeiras

INTRODUÇÃO

Mycoplasma gallisepticum (MG) e *Mycoplasma synoviae* (MS) constituem motivo de preocupação na avicultura mundial pelos prejuízos econômicos que causam. As perdas econômicas atribuídas à infecção por MS podem se manifestar por imunodepressão temporária, elevação de 1 a 4% da taxa de mortalidade na fase final de produção (Kleven 2003), redução de 5 a 10% na produção de ovos e de 5 a 7% na eclodibilidade, com altas taxas de mortalidade embrionária e refugos (Mohammed et al. 1987, Stipkovits & Kempf 1996), aumento da mortalidade e da condenação de carcaças nas aves de corte e alto custo com medicamentos e programas de controle, além do efeito sinérgico quando associados a outras doenças (Nascimento et al. 2005).

Não se conhece a prevalência e efeitos econômicos da infecção por MS nos plantéis nacionais e mundiais. A dificuldade dessa estimativa se deve à variação de virulência e patogenicidade das cepas, difícil reprodução da doença e atribuição de manifestações típicas do MS a outros agentes. As cepas de MS podem ser diferenciadas quanto à patogenicidade, virulência, genética e tropismo, porém essas diferenças não podem ser detectadas nos exames sorológicos, com a necessidade de utilização de outras técnicas laboratoriais como o isolamento, ensaios experimentais e métodos biomoleculares (Stipkovits & Kempf 1996, Lockaby et al. 1998).

A infecção por MS em galinhas pode se manifestar como doença articular ou respiratória, aguda ou crônica, assintomática ou respiratória com aerossaculite sempre presente (Kleven 2003). No passado, os resultados dos estudos de Lott et al. (1978) e Morrow et al. (1990) indicaram a existência de uma correlação positiva entre a presença do MS e a redução na produção de ovos, entretanto o mesmo não foi observado por Branton et al. (1999). Estudos recentes sobre o assunto têm associado a infecção por MS à queda na produção de ovos, aumento na mortalidade (Dufour-Gesbert et al. 2006) e produção de ovos

com anormalidades no ápice da casca, conhecida como EAA (Eggshell Apex Abnormalities) (Feberwee et al. 2008; 2009).

Num sistema de produção de ovos, a investigação do tipo da queda de produção é muito importante. Problemas como ausência de pico de produção, percentagem de produção abaixo dos padrões da linhagem ou mesmo retardo no início da produção são dados que vão direcionar a conduta clínica para a causa primária do problema (Sesti & Ito 2009).

Para ser comercializado, o ovo deve ser tipificado e classificado de acordo com os parâmetros estabelecidos na legislação (Brasil 1991). Na tipificação, ovo passa por um processo de seleção por pesagem e assim será distribuído em seis categorias: Jumbo (Tipo 1), maior ou igual a 66g; Extra (Tipo 2), entre 60- 65g; Grande (Tipo 3), maior ou igual a 55g; Médio (Tipo 4), maior ou igual a 50g; Pequeno (Tipo 5), maior ou igual a 45g e Industrial (Tipo 6) menor que 45g. Estas informações devem ser fixadas nas embalagens dos ovos.

O presente estudo experimental teve por objetivo verificar a influência da infecção por cepas vacinal e padrão de *M.synoviae*, em poedeiras comerciais (*Gallus gallus*), no consumo de ração, na conversão alimentar e na produção e tipificação de ovos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos do Instituto Biológico, utilizando-se 150 galinhas da linhagem Hy-Line W-36, com idade inicial de oito semanas. Durante o experimento as aves foram alojadas em 30 gaiolas de arame galvanizado, com a densidade de cinco aves em cada gaiola, equipadas com comedouro tipo cocho e bebedouros tipo “nipple”, instaladas em galpões telados lateralmente e cobertos por telhas de barro. A ração e a água foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental. A ração fornecida foi formulada de acordo com as exigências nutricionais da linhagem e de cada fase de criação. O sistema de iluminação adotado foi de 16 horas de luz por dia.

Aos sete dias de idade as aves foram debicadas, com repasse na 11ª semana. As aves foram submetidas a um programa de vacinação contra as doenças de Marek, Gumboro e Newcastle, Bouda Aviária, Bronquite Infeciosa, Metapneumovirose, Coriza Infeciosa, Laringotraqueíte Infeciosa e Síndrome da Queda de Postura. O protocolo de execução deste estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense - UFF (projeto nº88/2011).

As aves foram distribuídas em três grupos de 50, constituindo de três blocos ao acaso com três tratamentos, sendo 10 repetições/tratamento e cinco aves/repetição. Os tratamentos consistiram em três protocolos: T1, com aves inoculadas com cepa MS-H vacinal (Merial®); T2, com aves inoculadas com cepa MS padrão e T3, com aves controle, não inoculadas. No início do experimento todas as aves foram sangradas e os soros, testados pela soroglutinação rápida (SAR) para a presença de anticorpos contra MS e MG. As aves do T1 foram inoculadas com uma gota ocular (0,03mL), com a cepa vacinal MS-H (≥ 10 CCU/0,03mL) na 9ª semana de idade e as aves do T2, com a cepa padrão MS-WVU 1853 - ATCC 25204, na 12ª (< 10 CCU/0,03mL) e na 18ª (3×10^2 CCU/0,03mL). No T2 foram feitas duas inoculações, porque a dose infectante da cepa padrão estava abaixo da dose da cepa vacinal. A cepa vacinal foi adquirida no comércio e a padrão foi cedida pelo Núcleo de Diagnóstico da Micoplasmose da UFF - NUDMIC/UFF.

Para o monitoramento da infecção, na 15ª, 18ª, 23ª, 26ª, 29ª e 32ª semanas de idade foram retiradas para necropsia, aleatoriamente, três aves de cada tratamento e coletados fragmentos de traquéia e sacos aéreos. No Laboratório de Epidemiologia Molecular da Faculdade de Veterinária da UFF, a partir destas amostras foram feitos “pools” por tratamento, constituídos de três fragmentos de tecidos e macerados em meio de Frey modificado. Em seguida, cada “pool” foi submetido à PCR com primers específicos para MS

(Lauerman, 1998): MS-f (5'GAGAAGCAAATAGTGATATCA3') e MS-r (5'CAGTCGTCTCCGAAGTTA ACAA 3') que amplificam 207 pb.

A extração de DNA foi realizada pelo método Fenol/clorofórmio (Sambrook et al. 1989). A PCR foi realizada a 94°C/3 minutos, seguidos por 39 ciclos de 94°C/1 minuto; 52°C/1 minuto e 72°C/2 minutos, finalizando com 72°C/5 minutos e refrigeração a 4°C/10 minutos. Cada tubo Eppendorf para a reação continha: 52 µL de Milli - Q água; 10 µL de PCR 10X ; 5 µL de MgCl₂, 5 µL do DNTPmix (a partir de 0,25 mM de cada DNTP), 4 µL (100 pmol) de primer; 20 µL de amostra de DNA e 2 µL de Taq Polimerase, totalizando 100 µL. O controle positivo foi feito com a amostra padrão MS WVU 1853, enquanto que o negativo com uma cepa de MG (ATCC 19610). Os amplicons obtidos foram visualizados após eletroforese em gel de agarose e coloração com brometo de etídio sob transiluminador com luz ultravioleta.

No período de produção (21^a a 32^a semana de idade) as rações de cada repetição/tratamento foram semanalmente pesadas para o cálculo da média do consumo de ração (g/ave/dia) e da conversão alimentar (Kg ração/dúzia ovos). A produção diária de ovos em cada repetição/tratamento foi registrada para cálculo dos valores médios da percentagem de produção (%/ave/dia) e de ovos acumulados/ave alojada.

Para avaliar o peso dos ovos (g), nos três últimos dias da 26^a, 29^a e 32^a semana de idade, foram coletados ovos de cada repetição/tratamento e pesados na máquina de avaliação de ovos Digital Egg Tester DET 6000, marca NABEL. Em seguida, de acordo com o peso/tratamento, os ovos foram tipificados nas categorias: Jumbo (Tipo 1); Extra (Tipo 2); Grande (Tipo 3); Médio (Tipo 4); Pequeno (Tipo 5) e Industrial (Tipo 6) (Brasil 1991).

As médias semanais dos parâmetros produtivos percentagem de produção, consumo de ração/conversão alimentar e ovos acumulados/ave alojada foram submetidas respectivamente aos testes de Qui-quadrado (5%), análise de variância - ANOVA (5%) e Kruskal-Wallis (5%) para a comparação de amostras múltiplas independentes. A significância estatística da percentagem de ovos tipificados por categoria/semana/tratamento foi avaliada pelo teste de Qui-quadrado (5%) (Thrusfield 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os soros coletados no início do experimento e testados pela SAR foram negativos para MS e MG e nenhuma das aves inoculadas com as cepas de MS apresentou sinais clínicos respiratórios ou lesões macroscópicas de sacos aéreos compatíveis com micoplasmose. Lockaby et al. (1998), em aves submetidas à inoculação via coxim plantar ou intravenosa, observaram com maior frequência o aparecimento de um quadro de sinovite, do que um quadro respiratório e quando as aves foram inoculadas pela via respiratória (intrasinus ou intranasal), observaram uma infecção inaparente ou um quadro de aerossaculite.

A técnica de PCR foi eficiente na detecção do MS em fragmentos de traquéia como sugerido por Lauerman et al. (1993). À PCR, todas as amostras coletadas de traquéia de T1 e T2 foram positivas para MS. Entre as amostras de sacos aéreos, apenas as de T1 na 23^a semana de idade foram positivas para MS, as demais foram negativas. Todas as amostras coletadas de T3 foram negativas para MS. Minharro et al. (2001), empregando a mesma técnica em "pools" de sacos aéreos lesados, detectaram MS e também MG, respectivamente, em 25,80% (8/31) e 32,25% (10/31) dos lotes estudados. No presente estudo todas as aves dos três tratamentos foram negativas para MG.

Para os parâmetros produtivos, valores médios da percentagem do consumo de ração, da conversão alimentar e de produção de ovos, foram observadas diferenças discretas e não significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabelas 1, 2 e 3), entretanto essas diferenças poderiam ter se tornado mais evidente se a observação fosse estendida além das 12 semanas deste experimento.

Em relação ao consumo de ração, foi observado no presente estudo, que ocorreu uma leve tendência de alta na média de consumo de ração das aves inoculadas com a cepa MS vacinal, quando comparadas ao das aves inoculadas com a cepa MS padrão, entretanto ambas as médias foram superiores a das aves controle (Tabela 1). Entre as médias da conversão alimentar dos referidos tratamentos (Tabela 2) foi observada uma discreta vantagem em relação ao controle. Estes resultados corroboram com o do estudo experimental de Ewing et al. (1998), em plantéis de frangos de corte infectados por MS, no qual eles observaram entre outros índices, aumento da conversão alimentar.

A percentagem média de produção de ovos foi discretamente mais alta no T1, cujas aves foram inoculadas com a cepa MS vacinal, porém tanto estas aves, quanto as aves inoculadas com a cepa MS padrão apresentaram as médias de percentagem de produção discretamente mais baixas que as das aves controle (Tabela 3). Estes resultados concordam com os observados por Dufour-Gesbert et al. (2006) num estudo epidemiológico à campo, no qual a produção de ovos foi mais baixa nos plantéis infectados por MS do que nos não infectados, mas estatisticamente estas diferenças também não foram significativas ($p > 0,05$). No trabalho de Morrow et al. (1990) foi visto que plantéis infectados por MS apresentaram perdas acumuladas na produção de ovos de 10%. No estudo experimental de Lott et al. (1978) a inoculação de galinhas com MS, via aerossol, resultou em queda na produção de ovos uma semana após a inoculação, duas semanas depois a produção caiu 18%, e quatro semanas depois a produção de ovos voltou ao normal. Por outro lado, os resultados do presente estudo não corroboram com os de Branton et al. (1999), cujo desafio de poedeiras comerciais com 10 semanas de idade não resultou em queda na produção de ovos.

Ao final da 32ª semana de idade, a quantidade de ovos produzidos por ave alojada nos tratamentos com inoculação de MS foi 85,8 em T1 e 84,1 em T2, sendo discretamente inferiores a das aves controles, T3, com 87,2. Assim, as aves de T1 e T2 produziram, respectivamente, 1,4 e 3,1 ovos a menos que as aves não inoculadas. Quando T1 e T2 foram comparados entre si, as aves do T2 produziram 1,7 ovos a menos que as aves do T1 (Tabela 4). Todas estas diferenças não foram significativas ($p > 0,05$), mas representam um grande prejuízo econômico quando consideradas em lotes de galinhas industriais. Mallinson (1985) e Mohammed et al. (1987) observaram que lotes infectados por MS produziram, respectivamente, a menos dez e oito ovos que as aves dos lotes não infectados.

Os resultados da tipificação dos ovos indicaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as percentagens de ovos dos T1, T2 e T3 nas seis categorias (Tabela 5). A maior parte dos ovos produzidos pelas aves inoculadas com a cepa MS vacinal foi tipificada na categoria Médio (46,5%), comportamento semelhante foi observado nas aves inoculadas com a cepa MS padrão (53,7%), enquanto que nas aves controle, 49,1% dos ovos produzidos foram da categoria Grande. No processo de comercialização dos ovos, a maioria dos consumidores considera entre outros fatores importantes na escolha do ovo, a cor da casca e o tamanho (Rodrigues & Salay 2001).

Nenhum ovo produzido pelas aves do presente experimento foi tipificado na categoria Industrial. Observou-se na categoria Jumbo, apenas um ovo produzido pelas aves não inoculadas.

CONCLUSÃO

A infecção por cepas MS vacinal e padrão em poedeiras comerciais não influenciou os parâmetros de consumo de ração, conversão alimentar e produção de ovos, entretanto as aves infectadas por MS produziram ovos de menor valor comercial.

Agradecimentos

À FAPERJ, CNPq e EMBRAPA pelo apoio financeiro.

À empresa ATM Bastos Comércio e Representações de Produtos Veterinários Ltda, proprietária da Digital Egg Tester, marca Nabel.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Branton S.L., Lott B.D., May J.D., Maslin W.R., Pharr G.T., Brown J.E. & Boykin D.L. The effects of F strain *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, and the dual infection in commercial layer hens over a 44-week laying cycle when challenged before beginning of lay. II. Egg size distribution. *Avian Dis.* 43:326-330, 1999.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução CIPOA nº 005 de 19 de novembro de 1991. Trata da aprovação de padrões de identidade e qualidade de produtos lácteos e de ovos. [Diário Oficial da União], Brasília, DF, 1991.
- 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 Dis.*, 42(2):230-238, 1998.
- Dufour-Gesbert F., Dheilily A., Marois C. & Kempf I. Epidemiological study on *Mycoplasma synoviae* infection in layers. *Vet. Microb.*, 114:148-154, 2006.
- Feberwee A., de Wit J.J. & Landman W.J.M. Induction of eggshell apex abnormalities by *M. synoviae*: field and experimental studies. *Avian Path.*, 38(1):77-85, 2009.
- Feberwee A., de Vries T.S. & Landman W.J. Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae* in Dutch commercial poultry farms. *Avian Path.*, 37(6):629-633, 2008.
- Kleven S.H. *Mycoplasma synoviae* infections. p. 756-766. In: Saif Y.M., Barnes H.J., Fadly A.M., Glisson J.R., McDougald L.R. & Swayne D.E. *Diseases of Poultry*, 11th. ed. Iowa State, University Press, 2003.
- Lauerman L.H., Hoerr F.J., Sharpton A.R., Shad S.M. & Santen L.V. Development and application of a Polymerase Chain Reaction Assay for *Mycoplasma synoviae*. *Avian Dis.*, 37:829-834, 1993.
- Lockaby S.B., Hoerr F.J., Lauerman L.H. & Kleven S.H. Pathogenicity of *Mycoplasma synoviae* in broiler chickens. *Vet. Path.*, 35(3):178-190, 1998.
- Lott B.D., Drott J.H., Vardaman T.H. & Reece F.N. Effect of *Mycoplasma synoviae* on egg quality and egg production of broiler breeders. *Poult. Scien.*, 57:309-311, 1978.
- Mallinson E.T. *Mycoplasma synoviae* erodes profit margins. *Poult. Dig.*, 44:204-207, 1985.
- Minharro S., Linhares G.F.C., Andrade M.A., Rocha P.T. & Santana A.P. Envolvimento de *Escherichia coli*, de *Mycoplasma gallisepticum* e de *Mycoplasma synoviae* em lesões de sacos aéreos em frangos abatidos no Estado de Goiás. *CAB*, 2(2):111-117, 2001.
- Mohammed H.O., Carpenter T.E. & Yamamoto R. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial layer flocks. *Avian Dis.*, 31:477-482, 1987.
- 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. *Aust. Vet. J.*, 67:121-124, 1990.
- de Nascimento E.R., Pereira V.L.A., de Nascimento M.G.F. & Barreto M.L. Avian mycoplasmosis update. *Rev. Br. Ciên. Avíc., Campinas*, 7(1):1-9, 2005.
- Rodrigues K.R.M. & Salay E. Atitudes de granjeiros, atacadistas, varejistas e consumidores em relação à qualidade sanitária do ovo de galinha *in natura*. *Rev. Nutr.*, Campinas, 14(3):185-193, 2001.
- Sambrook J., Fritsch E.F. & Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2^a. ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2:3-15, 1989.
- Sesti L. & Ito N.M.K. Fisiopatologia do Sistema Reprodutor. p.315-380. In: Di Fabio J. & Rossini L.I. *Doenças das Aves*. Campinas, FACTA, 2009.

Stipkovits L. & Kempf I. Mycoplasmoses in poultry. *Review Sci. Tech. OIE.*, 15:1495-1525, 1996.

Thrusfield M. *Epidemiologia Veterinária*. Roca, São Paulo. 2003. 558p.

Tabela 1. Consumo de ração médio de poedeiras comerciais inoculadas com as cepas MS vacinal (T1), padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade.

Idade (semanas)	Consumo de Ração (g/ave/dia)		
	T1	T2	T3
21	76,4	83,5	76,4
22	72,7	66,9	75,5
23	79,2	86,1	88,1
24	93,7	89,7	72,7
25	113,4	109,9	104,1
26	75,5	80,4	77,4
27	112,1	102,6	98,3
28	105,9	100,1	95,3
29	77,4	74,7	76,6
30	105,2	110,4	109,0
31	97,7	91,6	86,6
32	84,7	89,7	109,0
Média	91,2	90,5	89,1

Tabela 2. Conversão alimentar média de poedeiras comerciais inoculadas com as cepas MS vacinal (T1), padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade.

Idade (semanas)	Conversão alimentar (kg ração/dz ovos)		
	T1	T2	T3
21	1,27	1,65	1,65
22	1,01	0,94	1,05
23	1,17	1,13	1,14
24	1,36	1,16	0,92
25	1,37	1,46	1,18
26	1,00	0,99	0,93
27	1,37	1,26	1,47
28	1,32	1,28	1,19
29	0,97	0,94	0,93
30	1,28	1,27	1,33
31	1,25	1,16	1,11
32	1,08	1,17	1,38
Média	1,21	1,20	1,19

Tabela 3. Percentagem média de produção de ovos de poedeiras comerciais inoculadas com as cepas MS vacinal (T1), padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade.

Idade (semanas)	Produção de Ovos (%/ave/dia)		
	T1	T2	T3
21	72,2	60,9	53,5
22	86,3	85,7	83,2
23	87,8	90,3	92,1
24	90,9	92,1	93,4
25	87,2	85,1	96,1
26	94,2	98,0	98,4
27	96,1	97,1	96,0
28	94,2	93,5	95,7
29	97,7	97,4	97,4
30	98,3	96,8	97,8
31	93,0	95,1	93,3
32	93,0	92,3	94,8
Média	90,9	90,4	91,0

Tabela 4. Ovos acumulados/ave alojada em poedeiras comerciais inoculadas com as cepas MS vacinal (T1), padrão (T2) e não inoculadas (T3), no período de 21 a 32 semanas de idade.

Idade (semanas)	Ovos Acumulados/Ave Alojada		
	T1	T2	T3
21	5,1	4,3	3,7
22	12,4	10,3	9,6
23	18,0	17,2	16,3
24	24,3	23,7	23,0
25	30,4	29,6	30,0
26	37,0	36,5	37,4
27	46,3	45,8	44,4
28	53,1	52,6	54,3
29	59,7	59,4	61,2
30	72,7	66,2	74,1
31	79,2	57,6	80,6
32	85,8	84,1	87,2

Tabela 5. Percentagem de ovos de poedeiras comerciais inoculadas com as cepas MS vacinal (T1), padrão (T2) e não inoculadas (T3), tipificadas nas categorias Jumbo, Extra, Grande, Médio, Pequeno e Industrial nos diferentes tratamentos, no período de produção (21 a 32 semanas de idade).

Trat. (N)	Jumbo		Extra		Grande		Médio		Pequeno		Industrial	
	Tipo 1		Tipo 2		Tipo 3		Tipo 4		Tipo 5		Tipo 6	
	≥ 66g		≥ 60g		≥ 55g		≥ 50g		≥ 45g		<45g	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1 (355)	00	0,0a	24	6,8a	150	42,2a	165	46,5a	16	4,5	00	0,0
2 (359)	00	0,0a	25	7,0b	131	36,5b	193	53,7b	10	2,8	00	0,0
3 (275)	01	0,4a	21	7,6c	135	49,1c	113	41,1c	05	1,8	00	0,0

N - total de ovos produzidos; n - número de ovos tipificados na categoria valores na mesma coluna, seguidas por letras diferentes diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado (5%).

3.2 ALTERAÇÕES TECIDUAIS NO OVIDUTO E QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE POR *Mycoplasma synoviae*

Artigo enviado para o periódico Pesquisa Veterinária Brasileira, considerado como A2 no Qualis/CAPES.

Alterações teciduais no oviduto e qualidade de ovos de galinhas infectadas experimentalmente por *Mycoplasma synoviae*¹

Rita de Cássia F. Silva^{2*}, Virginia L. de A. Pereira³, Nilce Maria Soares⁴, Marcos Roberto Buim⁴, Felipe F. dos Santos², Carlos Henrique C. da Costa⁵ e Elmiro R. do Nascimento³

ABSTRACT. Silva R.C.F., Pereira V.L. A., Soares N.M., Buim M.R., Santos F.F., Costa C.H.C. & Nascimento E.R. 2012. [Tissue changes in the oviduct and egg quality of hens experimentally infected with *Mycoplasma synoviae*.] Alterações teciduais no oviduto e qualidade de ovos de galinhas infectadas experimentalmente por *Mycoplasma synoviae*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24230-340, Brazil. E.mail: rcassiasilva@gmail.com

To investigate the onset of tissue abnormalities in different regions of the oviduct (magnum, isthmus and shell gland) and the eggs quality of hens experimentally infected with vaccine and standard *Mycoplasma synoviae* (MS) strains, 150 birds were divided into three groups with 50 birds each, one inoculated with vaccine MS-H strain and another inoculated with standard MS WVU 1853 strain and control group, uninoculated. MS infection was monitored by PCR assay. On the 23rd, 26th, 29th and 32nd weeks of age (WA), fragments of magnum, isthmus and shell gland were collected, placed in 10% formalin and processed by the usual histological techniques. To investigate the egg quality, the eggs were collected at 26th, 29th and 32nd WA. By histology, it was observed in the 26th week both in inoculated with MS strains and control groups, the presence of discrete perivascular lymphoplasmocytics infiltrates in the interstitium of muscular layer and serosa of the magnum and in the isthmus regions. In the inoculated with standard MS strain (32nd WA) and control groups (26th WA) was observed the presence of discrete interstitial lymphocytics infiltrates in the submucosa of the magnum. Preserved histological architecture was observed in the shell gland of all the birds. The averages for egg weight, eggshell strength, egg shell weight and egg shell percentage of inoculated group were significantly ($p < 0.05$) lower than those achieved by the control groups in Tukey test (5%). There were no significant differences ($p > 0.05$) in Tukey test (5%) between in albumen height of the eggs from inoculated and control group. However, significant differences ($p < 0.05$) were observed between the Haugh unit of the eggs from inoculated with vaccine MS strain and control group. MS infection was not able to cause the appearance of tissue changes, compatible to mycoplasmosis in the regions of the oviduct studied (magnum, isthmus and shell gland). Nevertheless have influenced the losses in egg shell quality and a drop in egg weight, therefore compromising the commercial value of the eggs.

INDEX TERMS: mycoplasmosis, layers, reproductive system, lymphoplasmocytics infiltrates, eggs quality.

RESUMO.- Para investigar nas regiões do oviduto (magno, istmo e glândula da casca) e a qualidade de ovos de galinhas experimentalmente infectadas por cepas vacinal e padrão de *Mycoplasma synoviae* (MS), 150 aves foram divididas em três grupos de 50 aves, um com aves inoculadas com cepa vacinal MS-H e outro com cepa padrão MS WVU 1853 e o grupo controle, com aves não inoculadas. A infecção por MS foi monitorada pela técnica de PCR. Na 23^a, 26^a, 29^a e 32^a semana de idade (SI), fragmentos de magno, istmo e glândula da casca foram coletados, colocados em formol a 10% e processados pelas técnicas histológicas

¹Recebido em

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil, 64 Santa Rosa, Niterói, RJ 24230-340, Brasil. *Autor para correspondência. E.mail: rcassiasilva@gmail.com

³ Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, UFF, Rua Vital Brazil, 64 Santa Rosa, Niterói, RJ 24230-340, Brasil.

⁴ Unidade de Pesquisa e Diagnóstico de Bastos, Instituto Biológico de São Paulo (IB/SP), Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo (SAA/SP), Av. Gaspar Ricardo, 1700, Bastos, SP 17690-000, Brasil.

⁵ Centro Estadual de Pesquisa em Saúde Animal Geraldo Manhães Carneiro (CEPGM), Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO), Alameda São Boaventura, 770, Fonseca, Niterói, RJ 24121-191, Brasil.

usuais. Para analisar a qualidade dos ovos, os ovos foram coletados na 26^a, 29^a e 32^a SI. Pela histologia, a partir da 26^a SI, foi observada, nas aves inoculadas com as cepas de MS e do grupo controle, a presença de discretos infiltrados perivascularres linfoplasmocíticos no interstício da camada muscular e na serosa das regiões do magno e do istmo. Nas aves inoculadas com a cepa MS padrão (32^a SI) e nas aves controle (26^a SI) foi observada a presença de discretos infiltrados linfocíticos intersticiais na submucosa do magno. Arquitetura histológica preservada foi observada na glândula da casca de todas as aves. As médias de peso dos ovos, resistência de casca à quebra, peso da casca e porcentagem de casca dos ovos produzidos pelas aves inoculadas foram significativamente ($p < 0,05$) inferiores à média dos ovos das aves do grupo controle (Tukey 5%). Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) no teste de Tukey (5%) entre as médias de altura do albúmen dos ovos das aves inoculadas e do grupo controle, entretanto diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas entre as médias de unidade Haugh dos ovos das aves inoculadas com a cepa vacinal e os ovos das aves controle. A infecção por MS não foi capaz de causar o aparecimento de alterações teciduais, compatíveis com micoplasmose, nas regiões estudadas do oviduto (magno istmo e glândula da casca), embora tenha influenciado a perda na qualidade da casca e queda no peso do ovo, comprometendo assim o valor comercial dos ovos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: micoplasmose, poedeiras, sistema reprodutivo, infiltrados linfoplasmocíticos, qualidade de ovos.

INTRODUÇÃO

As micoplasmoses aviárias são enfermidades causadas por bactérias do gênero *Mycoplasma*, que têm predileção pelas membranas mucosas e serosas das aves, onde podem causar problemas respiratórios, articulares e urogenitais. Na criação de postura comercial, a infecção por *Mycoplasma synoviae* (MS) tem sido associada à doença respiratória, imunodepressão temporária, elevação da mortalidade na fase final de produção e queda na produção de ovos e na eclodibilidade (Stipkovits & Kempf 1996, Nascimento & Pereira 2009).

No passado, os resultados dos estudos de Lott et al. (1978) e Morrow et al. (1990) mostraram existir uma correlação positiva entre a presença do MS e a queda na produção de ovos, o oposto foi encontrado por Mohammed et al. (1987). Estudos recentes sobre o assunto têm associado a infecção por MS à queda na produção de ovos, aumento na mortalidade (Dufour-Gesbert et al. 2006) e produção de ovos com anormalidades no ápice da casca, conhecida como EAA (Eggshell Apex Abnormalities) (Feberwee et al. 2008; 2009).

O sistema reprodutivo da galinha sexualmente madura é constituído por um único ovário, o esquerdo, e respectivo oviduto. O oviduto é formado por cinco regiões funcionais e distintas: infundíbulo, magno, istmo, útero ou glândula da casca e vagina (Furlan, 2009). O magno ou glândula albuminífera tem como função formar a base do albúmen e adicionar, ao ovo em formação, a mucina e a maior parte dos íons sódio, cálcio e magnésio (Benites & Tabeleão 2005). O istmo secreta a membrana testácea, composta de dois folhetos, membranas interna (fibrosa) e externa (queratinosa) da casca, que formam um saco fechado para conter os componentes do ovo em formação. Nesta região, ocorre a formação de pequenos pontos de calcificação sobre a membrana externa, a casca propriamente dita e a cutícula são formadas na glândula da casca. (Nascimento & Salle 2003, Benites & Tabeleão 2005).

A presença de distúrbios fisiológicos ou lesões nos tecidos do sistema reprodutivo das galinhas pode resultar em alterações na formação do ovo, com comprometimento do tamanho, peso, casca, albúmen e gema do ovo (Sesti & Ito 2009). O peso do ovo incorpora três componentes: a gema, o albúmen e a casca (Ahn et al. 1997) e sua avaliação é importante para padronizar a comercialização e assim facilitar a fiscalização.

De acordo com Coutts & Wilson (2007), o termo qualidade de ovo se refere aos vários padrões que definem tanto a qualidade externa do ovo como a interna. A qualidade da externa ou da casca é motivo de preocupação não só para as granjas comerciais, mas também para todos os tipos de estabelecimentos que comercializam ovos. Aproximadamente 6,7% dos ovos de poedeiras comerciais não são comercializados, porque estão envoltos apenas com as membranas ou trincados. Outros 6,7% são quebrados durante a colheita, o processamento, o empacotamento e o transporte (Hester 1999).

O presente estudo teve por objetivo investigar o aparecimento de alterações teciduais nas regiões do oviduto (magno, istmo e glândula da casca) e a qualidade de ovos de galinhas experimentalmente infectadas por cepas vacinal e padrão de MS.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Bastos do Instituto Biológico de São Paulo utilizando-se 150 galinhas da linhagem Hy-Line W-36, com idade inicial de oito semanas, alojadas e distribuídas igualmente em três grupos com 50 aves, portanto três blocos ao acaso com três tratamentos, 10 repetições por tratamento e cinco aves por repetição: . Os tratamentos consistiram em três protocolos: T1, com aves inoculadas com cepa MS-H vacinal (Merial®); T2, com aves inoculadas com cepa MS padrão e T3, grupo controle, com aves não inoculadas.

Durante o experimento as aves foram alojadas em 30 gaiolas de arame galvanizado, com a densidade de cinco aves em cada gaiola, equipadas com comedouro tipo cocho e bebedouros tipo “nipple”, instaladas em galpões telados lateralmente e cobertos por telhas de barro. A ração e a água foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental. A ração fornecida foi formulada de acordo com as exigências nutricionais da linhagem e de cada fase de criação. O programa de luz adotado foi de 16 horas de luz por dia.

As aves foram debicadas aos sete dias de idade, com repasse na 11^a semana e submetidas a um programa de vacinação contra as doenças de Marek, Gumboro e Newcastle, Boubá Aviária, Bronquite Infeciosa, Metapneumovirose, Coriza Infeciosa, Laringotraqueíte Infeciosa e Síndrome da Queda de Postura. O protocolo de execução deste estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense - UFF (projeto nº88/2011).

Antes do início do experimento todas as aves foram sangradas e os soros, após a inativação foram testados pela soroaglutinação rápida (SAR) para a presença de anticorpos contra MS e *Mycoplasma gallisepticum* (MG). As aves do T1 foram inoculadas com uma gota/olho (0,03mL), da cepa vacinal MS-H (≥ 10 CCU/0,03mL) na 9^a semana de idade (SI) e as aves do T2, com a cepa padrão MS-WVU 1853 - ATCC 25204, na 12^a SI (< 10 CCU/0,03mL) e na 18^a SI (3×10^2 CCU/0,03mL). Neste caso, foi feita uma 2^a inoculação, porque a titulação da dose infectante da cepa padrão ficou abaixo da dose da cepa vacinal. A cepa vacinal foi adquirida no comércio e a padrão foi cedida pelo Núcleo de Diagnóstico da Micoplasmose da UFF - NUDMIC/UFF.

Para o monitoramento da infecção, na 15^a, 18^a, 23^a, 26^a, 29^a e 32^a SI foram coletados suabes de traquéias em meio de Frey modificado de todas as aves do experimento. No Laboratório de Epidemiologia Molecular da Faculdade de Veterinária da UFF, foram feitos “pools” por repetição, cada “pool” com cinco suabes, num total de 10 amostras por tratamento. Em seguida cada amostra foi submetida à PCR com primers específicos para MS (Lauerman, 1998): MS-f (5'GAGAAGCAAATAGTGATATCA3') e MS-r (5'CAGTCGTCTCCGAAGTTA ACAA 3') que amplificam 207pb. A extração de DNA foi realizada pelo método Fenol / clorofórmio (Sambrook et al. 1989). A PCR foi realizada a 94°C/3 minutos, seguidos por 39 ciclos de 94°C/1 minuto; 52°C/1 minuto e 72°C/2 minutos, finalizando com 72°C/5 minutos e refrigeração a 4°C/10 minutos. Cada tubo Eppendorf para a reação continha: 52 µL de Milli - Q água; 10 µL de PCR 10X; 5 µL de MgCl₂, 5 µL do DNTpmix (a partir de 0,25 mM de cada DNTP), 4 µL (100 pmol) de primer; 20 µL de amostra de DNA e 2 µL de Taq Polimerase, totalizando 100 µL. O controle positivo foi feito com a amostra padrão MS WVU 1853, enquanto que o negativo com uma cepa de MG (ATCC 19610). Os amplicons obtidos foram visualizados após eletroforese em gel de agarose e coloração com brometo de etídio sob transiluminador com luz ultravioleta.

Na 23^a, 26^a, 29^a e 32^a SI foram feitas necropsias de três aves/tratamento e coletados fragmentos de magno, istmo e glândula da casca, os quais foram colocados no formol a 10% e processados segundo as técnicas histológicas usuais, mantidas em blocos de parafina, cortados em micrótomo, corados pela técnica da hematoxilina e eosina (HE) (Luna 1968) e examinados ao microscópio óptico.

Para avaliar a qualidade de ovos, nos três últimos dias da 26^a, 29^a e 32^a SI, foram coletados todos os ovos produzidos pelas aves dos três grupos. No total foram coletados 1.348 ovos, 355 no T1, 359 no T2 e 275 no T3. Após a coleta, os ovos foram identificados e levados para realização das análises propostas na Digital Egg Tester DET 6000, marca Nabel. Inicialmente, os ovos foram pesados e submetidos, individualmente, ao teste de resistência de casca à quebra (RQ), pela fratura da casca por compressão em um dos pólos. Em seguida, os ovos foram abertos pela região da câmara de ar, com auxílio de um cortador circular e todo o conteúdo foi depositado sobre uma bandeja transparente removível de superfície lisa colocada sobre uma superfície espelhada, permitindo assim a leitura, por feixes paralelos de raio “Laser”, da altura do albúmen (AA) e o cálculo da unidade Haugh (UH). As cascas dos ovos foram separadas, lavadas e colocadas para secar em meio ambiente por 48h. Depois as cascas foram pesadas individualmente em balança eletrônica com precisão de 0,01g. A porcentagem de casca (C) foi calculada dividindo-se o peso da casca (PC) pelo peso do ovo (PO), multiplicando-se o resultado por 100. As médias por coleta de cada variável foram submetidas à análise de variância ANOVA (5%) e em caso de diferença significativa as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%) (Thrusfield 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os soros testados pela SAR foram negativos para MS e MG e nenhuma das aves inoculadas com as cepas de MS apresentou sinais clínicos respiratórios ou lesões macroscópicas nos sacos aéreos ou outros órgãos compatíveis com micoplasmose.

Na PCR, a visualização do gel mostrou que o controle negativo não gerou a formação de banda de amplificação, enquanto que o controle positivo gerou “amplicon” de 207 pb, conforme Lauerman (1998). Como no trabalho de Toledo et al. (2010), a técnica de PCR foi rápida e específica na detecção do MS, a partir da coleta de amostras com suabes de traqueia. No presente estudo, as amostras das aves inoculadas com a cepa vacinal apresentaram positividade à PCR decrescente de 100% na 15^a SI para 10% na 32^a, enquanto que as amostras das aves inoculadas com a cepa padrão inicialmente apresentaram positividade de 20% e após a 2^a inoculação atingiu 70% na 23^a SI, mantendo-se até o final do experimento com positividade de 10%. As amostras das aves do grupo controle se mostraram livre de MS (Tabela 1).

A partir da 26^a SI, foi observada a presença de discretos infiltrados perivascularares linfoplasmocíticos no interstício da camada muscular e na serosa das regiões do magno e do istmo das aves inoculadas com as cepas MS (T1 e T2) e do grupo controle. Alterações teciduais no magno, caracterizadas pela presença de discretos infiltrados linfocíticos intersticiais na submucosa, também foram observadas nas aves inoculadas com cepa padrão (T2) (Figura 1) e do grupo controle (Figura 2), respectivamente na 32^a e 26^a SI. Estes achados corroboram com os encontrados por Nakata (2006) e Evêncio et al. (1998) que descreveram a presença de pequena quantidade de infiltrados linfocíticos na camada mucosa do oviduto. Estes autores acreditaram que os referidos infiltrados sejam uma resposta natural do organismo a passagem do ovo pelo oviduto, sem maiores conseqüências para a produtividade das aves. Na glândula da casca foi observada arquitetura histológica preservada (Figura 3) nas aves de todos os grupos.

De acordo, com Tabela 2, constatou-se que as médias de PO entre os ovos das aves do T1, T2 e T3 apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) no teste de Tukey (5%), as aves inoculadas com as cepas MS vacinal (T1) e padrão (T2), produziram ovos com peso médio respectivamente 55,52g e 55,17g, valores inferiores a média alcançada pelos ovos do grupo controle, 55,68g. A diferença entre os valores médios de peso dos ovos de T1 e T2 também foi significativa ($p < 0,05$). Segundo Rodrigues & Salay (2001), no processo de comercialização dos ovos a maioria dos consumidores considera como fatores importantes na escolha do produto: o tamanho do ovo e a cor.

Nas análises da qualidade de casca, foi observado no presente estudo que, as médias de RQ, PC e C apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os ovos das aves inoculadas com as cepas MS (T1 e T2) e as médias das aves do grupo controle (Tabela 2). As médias da variável RQ dos ovos das aves do T1 e T2, respectivamente 3,79Kgf e 3,71Kgf, se mostraram inferior a média dos ovos do grupo controle, 3,83Kgf. A diferença entre os valores médios de RQ dos ovos das aves do T1 e T2 também foi significativa ($p < 0,05$). Da mesma forma, as médias das variáveis PC e C dos ovos das aves inoculadas com as cepas MS (T1 e T2), foram inferiores as médias encontradas nos ovos do grupo controle respectivamente 5,25g e 9,42%, entretanto não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as médias dos ovos para estas variáveis de T1 e T2. Estes resultados não corroboram com os de Mohammed et al. (1987) e Opitz (1983) que observaram em infecção natural de galinhas adultas com MS, pouco ou nenhum efeito sobre a produção de ovos ou a qualidade dos ovos. No presente estudo, os resultados da qualidade de casca, os discretos achados histológicos no istmo e a preservação tecidual da glândula da casca reforçam as afirmações de Ito (2000), de que doenças como as micoplasmoses induzem alterações de casca, mais pelos seus efeitos indiretos sobre o consumo de ração, absorção de nutrientes e desequilíbrios metabólicos.

Em relação à qualidade interna, as médias de AA alcançadas pelos ovos das aves do T1, T2, T3 apresentaram diferenças muito discretas e não significativas ($p > 0,05$), respectivamente 8,50mm, 8,52mm e 8,57mm. Entretanto, as médias da UH foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) apenas entre ovos das aves do T1 e T3 (Tabela 2). As aves inoculadas com as cepas MS (T1 e T2), produziram ovos com médias, respectivamente de 92,80UH e 93,17UH, valores inferiores a média alcançada pelos ovos do grupo controle (T3) de 93,45UH. A unidade Haugh é um parâmetro muito utilizado na avaliação da qualidade interna de ovos comerciais, que correlaciona a altura do albúmen denso com o peso do ovo. No processo de formação do ovo, o referido albúmen é produzido no oviduto, pelas glândulas tubulares que estão dispostas dentro das pregas longitudinais da mucosa da região do magno (Santos 2009). Portanto, neste estudo a UH foi influenciada diretamente pelo peso do ovo, as aves inoculadas com as cepas MS (T1 e T2) apresentaram peso médio inferior ao dos ovos do grupo controle. A normalidade destes valores de qualidade interna pode ser justificada no presente estudo pela ausência de alterações teciduais na região do magno.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo confirmam que a infecção por MS não foi capaz de causar o aparecimento de alterações teciduais, compatíveis com micoplasmose, nas regiões do oviduto (magno istmo e glândula da casca), embora tenha influenciado a perda na qualidade da casca e queda no peso do ovo, comprometendo assim o valor comercial dos ovos.

Agradecimentos.- À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pelo apoio financeiro. À empresa ATM Bastos Comércio e Representações de Produtos Veterinários Ltda, proprietária da Digital Egg Tester DT 6000, marca Nabel.

REFERÊNCIAS

- Ahn D.U., Kim S.K. & Shu H. 1997. Effect of egg size and strain and age of hen on the solids content of chicken eggs. *Poult.Sci.* 76:914-919.
- Benites C.I. & Tabeleão V.C. 2005. Anatomia e fisiologia reprodutiva das aves e formação do ovo. In: Souza-Soares L.A. & Siewerdt F. *Aves e Ovos*. UFPEL, Pelotas. 138 p.
- Coutts J.A. & Wilson G.C. 2007. Ovos de ótima qualidade - Uma abordagem rápida. 5M Publishing, Reino Unido. 65p.
- Dufour-Gesbert F., Dheilly A., Marois C. & Kempf I. 2006. Epidemiological study on *Mycoplasma synoviae* infection in layers. *Vet. Microb.* 114:148-154.
- Evêncio L.B., Evêncio-Neto J. & Simões M.J. 1998. Aspectos ultraestruturais e histoquímicos das células mucosas presentes no oviduto de galinhas (*Gallus gallus*) em ovoposição. *Arq. Inst. Biol.* 65:179.
- Feberwee A., De Wit J.J. & Landman W.J.M. 2009. Induction of eggshell apex abnormalities by *Mycoplasma synoviae*: field and experimental studies. *Avian Path.* 38(1):77-85.
- Feberwee A., De Vries T.S. & Landman, W.J. 2008. Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae* in Dutch commercial poultry farms. *Avian Path.* 37(6):629-633.
- Furlan R.L. 2009. Anatomia - Fisiologia, p. 153-172. In: Bercheri Junior A., Silva E.N., Di Fabio J., Sesti L. & Zuanaze M.A.F. (Eds), *Doenças das Aves*. 2ª ed. FACTA, Campinas.
- Hester P.Y. A. 1999. Qualidade da Casca do Ovo. *Avicultura Industrial* (1072): 20-30.
- Ito N.M.K. 2000. Enfermidades que comprometem a qualidade da casca. *Anais 4º Simpósio Goiano de Avicultura*, Goiânia, GO, p.145-158.
- Lauerman L.H. 1998. *Mycoplasma* PCR Assays: Nucleic Acid Amplifications Assays for diagnosis of animal diseases. Department of Agriculture and Industries, Alabama. 150p.
- Lott B.D., Drott J.H., Vardaman T.H. & Reece F.N. 1978. Effect of *Mycoplasma synoviae* on egg quality and egg production of broiler breeders. *Poult. Sci.* 57:309-311.
- Luna L.G. 1968. *Manual of histologicstaining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. McGraw/Hill American Registry of Pathology, New York. 258p.
- Mohammed H.O., Carpenter T.E. & Yamamoto R. 1987. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial layer flocks. *Avian Dis.* 31:477-482.
- Morrow C.J., Bell I.G., Walker S.B., Markham P.F., Thorp B.H. & Whithear K.G. 1990. Isolation of *Mycoplasma synoviae* from infectious synovitis of chickens. *Aust.Vet. J.* 67:121-124.
- Nakata F.N. 2006. Avaliação morfológica do oviduto e qualidade de ovos de poedeiras comerciais (*Gallus gallus*) em diferentes fases de produção. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 44p.
- Nascimento E.R. & Pereira V.L.A. 2009. Micoplasmoses, p.485-502. In: Bercheri Junior A., Silva E.N., Di Fabio J., Sesti L. & Zuanaze M.A.F. (Eds), *Doenças das Aves*. 2ªed. FACTA, Campinas.
- Nascimento E.R., Pereira V.L.A., Nascimento M.G.F. & Barreto M.L. 2005. Avian mycoplasmosis update. *Rev.Bras. Ciên. Avíc.* 7(1):1-9.
- Nascimento V.P. & Salle C.T.P. 2003. O Ovo, p. 35-48. In: Macari M. & Gonzales E. *Manejo da Incubação*. FACTA, Campinas.
- Opitz H.M. 1983. *Mycoplasma synoviae* infection in Maine's egg farms. *Avian Dis.* 27:324-326.
- Rodrigues K.R.M. & Salay E. 2001. Atitudes de granjeiros, atacadistas, varejistas e consumidores em relação à qualidade sanitária do ovo de galinha *in natura*. *Revista de Nutrição* 14(3):185-193.
- Sambrook J., Fritsch E.F. & Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Santos B.M. 2009. Fisiopatologia do Sistema Genitourinario, p. 306-314. In: Bercheri Junior A., Silva E.N., Di Fabio J., Sesti L. & Zuanaze M.A.F. (Eds), *Doenças das Aves*. 2ª ed. FACTA, Campinas.

- Sesti L. & Ito N.M.K. 2009. Fisiopatologia do Sistema Reprodutor, p. 315- 380. In: Bercheri Junior A., Silva E.N., Di Fabio J., Sesti L. & Zuanaze M.A.F. (Eds), Doenças das Aves. 2ª ed. FACTA, Campinas.
- Stipkovits L. & Kempf I. 1996. Mycoplasmoses in poultry. Rev. Sci. Tech. OIE. (15):1495-1525.
- Toledo F.G.M, Silva R.C.F., Machado L.S., Silva C.C., Pereira V.L.A. & Nascimento E.R. 2010. PCR e cultivo em levantamento de *Mycoplasma synoviae* e *M.gallisepticum* em galinhas de postura. Anais do CONGRESSO APA PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO. APA, São Pedro, p. 255-256.
- Thrusfield M. 2003. Epidemiologia Veterinária. Roca, SP. 558 p.

Tabela 1 - Percentagem de repetições/tratamento positiva para *M.synoviae* (MS) na PCR, a partir de “pools” de suabes de traqueia, no período de 15 a 32 semanas de idade.

Tratamento	Percentagem de positivos para MS à PCR (%)					
	Idade (semanas)					
	15	18	23	26	29	32
1	100	90	90	80	20	10
2	20	60	70	10	10	10
3	0	0	0	0	0	0

T1 - aves inoculadas com cepa MS vacinal

T2 - aves inoculadas com cepa MS padrão

T3 - aves controle, não inoculadas

Tabela 2 - Médias de peso do ovo (PO) e das variáveis de qualidade de casca, resistência da casca à quebra (RQ), peso da casca (PC) e percentagem de casca (C) e de qualidade interna, altura do albúmen (AA) e unidade Haugh (UH) de ovos produzidos por aves inoculadas com as cepas MS vacinal (T1) e padrão (T2) e não inoculadas (T3), na 26ª, 29ª e 32ª semana de idade.

Tratamento	* PO (g)		Qualidade de Casca						Qualidade Interna			
			* RQ (Kgf)		* PC (g)		* C (%)		** AA (mm)		* UH	
	MD	DP	MD	DP	MD	DP	MD	DP	MD	DP	MD	DP
1	55,52a	0,66	3,79a	0,20	5,17ª	0,17	9,35a	0,31	8,50a	0,21	92,80a	0,96
2	55,17b	0,58	3,71b	0,19	5,16ab	0,01	9,31ab	0,10	8,52a	0,54	93,17ab	2,82
3	55,68c	0,47	3,83c	0,23	5,25c	0,25	9,42c	0,35	8,57a	0,52	93,45b	2,59

MD - média; DP - desvio padrão; g - grama; Kgf - quilograma-força; mm - milímetro

* Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (Tukey P>0,05)

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Tukey P<0,05)

** Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente (ANOVA P>0,05)

Legenda das Figuras

Fig.1. Ave. T2 (aves inoculadas cepa MS padrão), 32ª semana de idade, discreto infiltrado linfocítico intersticial (seta) na submucosa do magno. HE, obj. 4X.

Fig.2. Ave. T3 (controle), 26ª semana de idade, discreto infiltrado linfocítico (seta) perivascular na submucosa do magno. HE, obj. 40X.

Fig.3. Ave. T3 (controle), 32ª semana de idade, arquitetura preservada na glândula da casca, HE, obj. 4X.

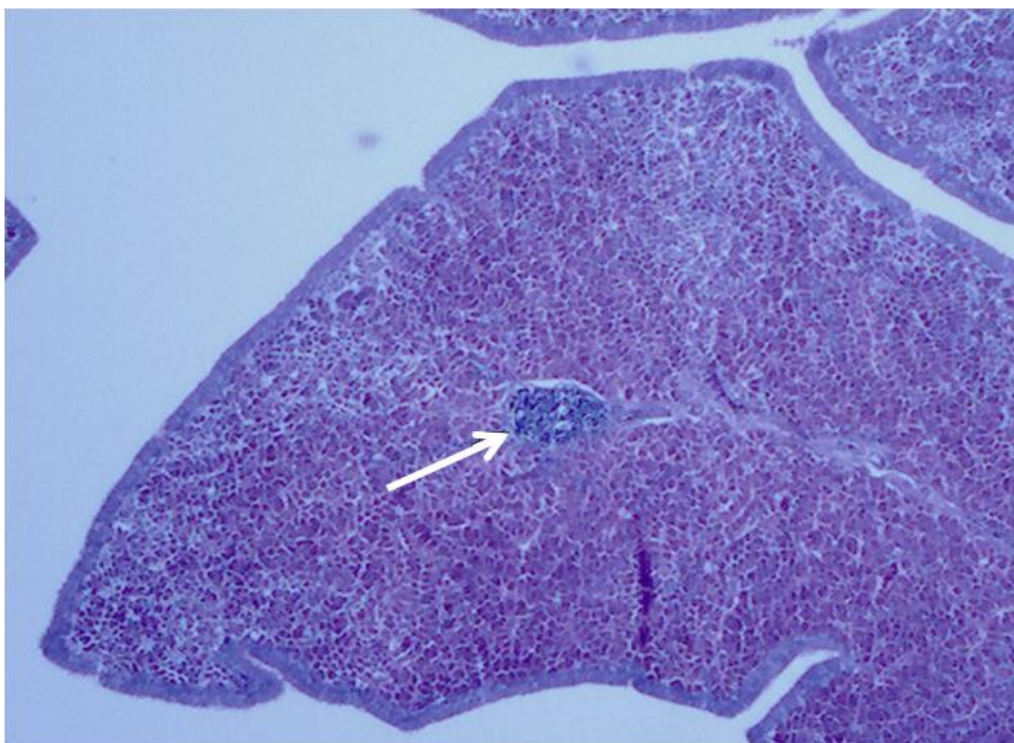


Figura 1

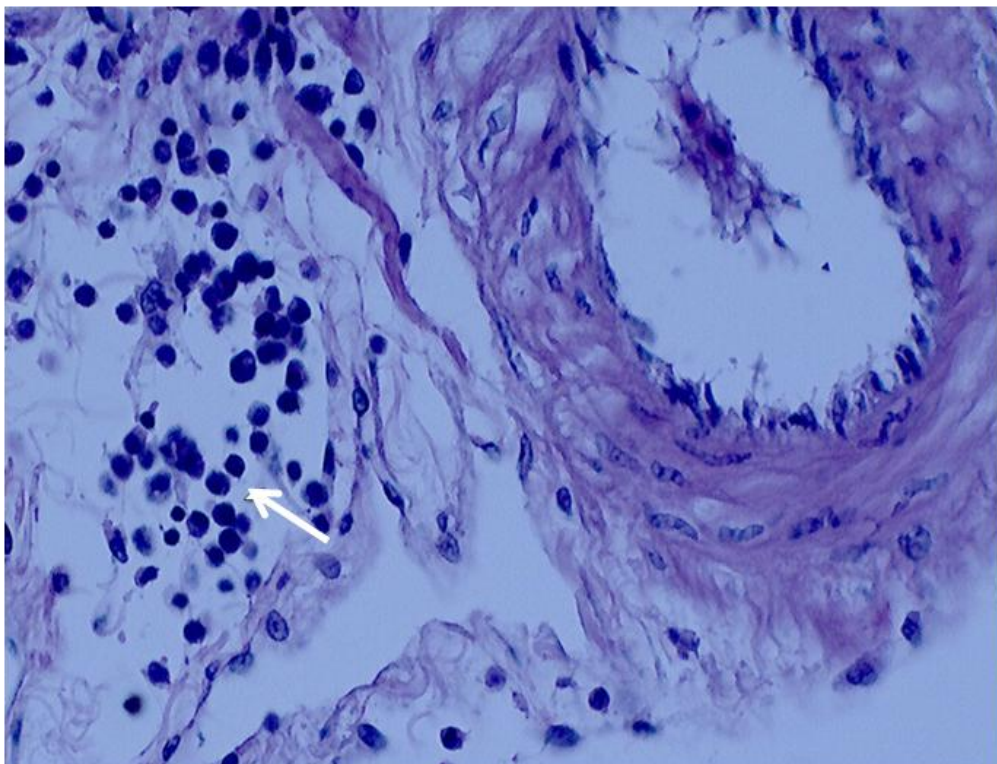


Figura 2

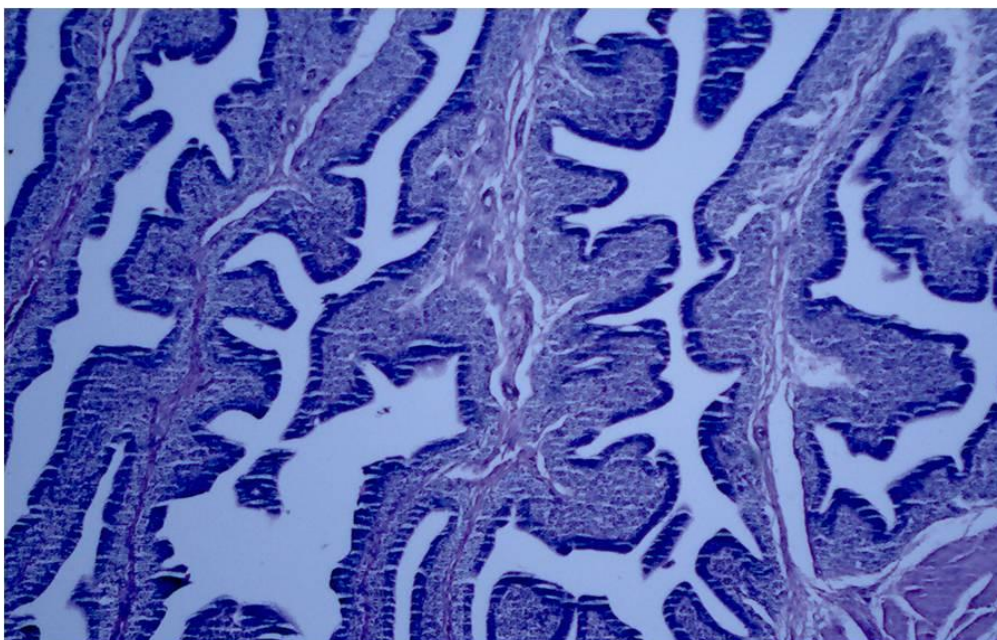


Figura 3

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A infecção por *M.synoviae* em poedeiras comerciais influenciou de forma negativa, ainda que discretamente e com diferenças não significativas, os parâmetros de produção de ovos, consumo de ração e conversão alimentar.

O processo de tipificação dos ovos revelou que a infecção por *M.synoviae* influenciou o valor comercial dos ovos, uma vez que as aves infectadas por *M.synoviae* produziram mais ovos Médio (Tipo 4), em relação aos ovos Grande (Tipo 3) produzidos pelas aves não infectadas.

O peso e as variáveis da qualidade de casca, resistência da casca à quebra, peso de casca e percentagem de casca dos ovos de galinhas inoculadas com cepas de *M.synoviae* foram influenciados de forma negativa, sugerindo uma maior possibilidade de ocorrer trincas, quebras na casca e contaminação bacteriana.

A variável da qualidade interna do ovo, altura do albúmen não foi influenciada pela infecção por cepas de *M.synoviae*, entretanto a unidade Haugh sofreu influencia relacionada ao peso do ovo. Estes resultados indicam a necessidade da realização de mais pesquisas, visto que não existem relatos na literatura sobre a qualidade de ovos de galinhas inoculadas com *M.synoviae* ou por qualquer outra espécie de *Mycoplasma* spp. com importância na indústria avícola.

Os resultados deste estudo comprovam que a infecção por *M.synoviae* afeta a produtividade de galinhas poedeiras, que incorporados aos problemas respiratórios e de sinovite, podem servir de subsídios ao PNSA por ocasião da elaboração da nova Instrução Normativa em referência à Micoplasmose Aviária , principalmente por *M.synoviae*, cuja exigência de sua erradicação até o momento não contempla matrizes de galinhas pesadas e leves, que produzem aves F1 que são os frangos de corte e galinhas de postura, respectivamente.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, D. U.; KIM, S. K.; SHU, H. Effect of egg size and strain and age of hen on the solids content of chicken eggs. *Poultry Science*, Champaign, v. 76, p. 914-919, 1997.

AKBAR, M. K.; GAVORA, J. S.; FRIARS, G. W.; GOWE, R. S. Composition of eggs by commercial size categories: effects of genetic group, age, and diet. *Poultry Science*, Champaign, v. 62, p. 925-33, 1983.

ALLEONI, A.C.C.; ANTUNES, A.J. Unidade Haugh como medida da qualidade de ovóide galinha armazenados sob refrigeração. *Scientia Agrícola*, v.58, n.4, p.681-85, 2001.

AUSTIC, R.E.; NESHEIM, M.C. *Poultry production*. 13.ed.London: Lea Febiger.1990.

ASGAV - Associação gaúcha de Avicultura. Notícias. Disponível em: <<http://www.asgav.com.br>>. Acesso em 08 fev.2011.

AVISITE - Caderno Postura - Brasil é apenas o 8º da América Latina. *Produção Animal - Avicultura*, n. 39, jul./2010, p.25, 2010.

BENITES, C.I.; TABELÃO, V.C. Anatomia e fisiologia reprodutiva das aves e formação do ovo. In: SOUZA-SOARES, L.A. ; SIEWERDT, F. *Aves e Ovos*. Pelotas: UFPEL, 2005.138 p.

BENITES, C.I.; FURTADO, P.B.S.; SEIBEL, N.F. Características e aspectos nutricionais do ovo. In: SOUZA-SOARES, L.A. ; SIEWERDT, F. *Aves e Ovos*. Pelotas: UFPEL, 2005.138 p.

BRADBURY, J. M.; YAVARI, C. A.; DARE, C. M. Mycoplasmas and respiratory disease in pheasants and partridges. *Avian Pathology*, v.30, n.4, p.391-6, 2001.

BRANTON, S. L.; LOTT, B. D.; MAY, J. D.; MASLIN, W. R.; PHARR, G. T.; BROWN, J. E.; BOYKIN, D. L. The effects of F strain *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, and the dual infection in commercial layer hens over a 44-week laying cycle when challenged before beginning of lay. II. Egg size distribution. *Avian Disease* v. 43, p.326-30, 1999.

BRASIL. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) do Ministério da A

gricultura, Pecuária e Abastecimento. Alterado pelos decretos nº 1255 de 25/06/1962, 1236 de 02/09/1994, 1812 de 08/02/1996 e 2244 de 04/06/1997, 241p., Brasília / DF.

BRASIL. Resolução CIPOA nº 005 de 19 de novembro de 1991. Trata da aprovação de padrões de identidade e qualidade de produtos lácteos e de ovos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial República Federativa do Brasil, nº 78, 1991. Brasília / DF.

BRASIL. Instrução normativa nº 44, de 23 de agosto de 2001. Aprova as normas técnicas para o controle e certificação de núcleos e estabelecimento avícola para a Micoplasmose Aviária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial República Federativa do Brasil, Brasília / DF.

CAMPBELL, G.; DAM, B.; TYRREL, P. Commercial DNA probe test kits for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*: a field report. In: PROCEEDINGS OF THE WESTERN POULTRY DISEASE CONFERENCE, 4., 1992, Sacramento: CA. 1993. p. 80-1.

CARBÓ, C.B. La gallina ponedora. Madrid, Espanha: Ediciones Mundi-Prensa, 1987.519 p.

CASTRO, A.G.M. Legislação - Aspectos relevantes da cadeia de produção de ovos - sanidade - fiscalização - ambiência. In: CONGRESSO APA PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO, 2010, São Pedro, SP. Anais... São Pedro: APA. 2010. p. 44 - 8.

CERDÁ, R.O. *Mycoplasma synoviae*. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.J.P. *Patologia Aviária*. Barueri: Manole, 2009. p. 101-7.

CHRISTENSEN, N. H.; YAVARI, C. A.; McBAIN, A. J.; BRADBURY, J. M. Investigations into the survival of *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* e *Mycoplasma iowae* materials found in the poultry house environment. *Avian Pathology*, v.23, p.127 - 43,1994.

COTTA, T. *Reprodução da galinha e produção de ovos*. Lavras: UFLA-FAEPE, 1997. p. 81-92.

COUTTS, J.A.; WILSON, G.C. *Ovos de ótima qualidade - Uma abordagem rápida*. Reino Unido: 5M Publishing. 2007.65p.

CRUZ, F.G.G.; MOTA, M.O.S. Efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre a qualidade interna dos ovos comerciais em clima tropical úmido. In: CONFERÊNCIA APINCO'96 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1996, FACTA, Campinas, SP. Anais... Campinas: Facta. 1996, p. 96.

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.

EVÊNCIO, L.B.; EVÊNCIO-NETO, J.; SIMÕES, M.J. Aspectos ultraestruturais e histoquímicos das células mucosas presentes no oviduto de galinhas (*Gallus gallus*) em ovoposição. *Arquivos de Instituto Biológico*, São Paulo. v.65, p.179, 1998.

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.230-8,1998.

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.

FEBERWEE, A.; DE VRIES, T.S.; LANDMAN, W.J. Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae* in Dutch commercial poultry farms. *Avian Pathology*, v.37, n.6, p.629-33, 2008.

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.

FLETCHER, O. J.; KLEVEN, S. H.; ANDERSON, D. P. Histology of air sac lesions induced in chickens by contact exposure to *Mycoplasma synoviae*. *Veterinary Pathology*, v. 13, p. 303-14, 1976.

FREY, M. L.; HANSON, R. P.; ANDERSON, D. P. A medium for the isolation of avian mycoplasma. *American Journal Veterinary Research*, v. 29, p. 2163-71,1968.

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

GARCIA, M.; ELFAKI, M. G; KLEVEN, S. H. Analysis of the variability in expression of *Mycoplasma gallisepticum* surface antigen. *Veterinary Microbiology*, v. 42, p. 147-58, 1994.

GUEDES, R. *O ovo e seus aspectos*. Rio de Janeiro: Edições SAI. séries Estudos e Ensaios nº 29. 1961. 156p.

HAMILTON, R.M.G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. *Poultry Science*. Champaign, v.61, n.6, p.1295-1300, 1982.

HAGAN, J.C.; ASHTON, N.J.; BRADBURY, J.M.; MORGAN, K.L. Evaluation of an egg yolk enzyme-linked immunosorbent assay antibody test and its use to assess the prevalence of *Mycoplasma synoviae* in UK laying hens. *Avian Pathology*, v. 33, p. 93–97, 2004.

HAUGH, R.R. The Haugh unit for measuring egg quality. *United States Egg Poultry Magazine*, v.43, p.552-555, 1937.

HESTER, P.Y. A Qualidade da Casca do Ovo. *Avicultura Industrial*, n.1072, p.20-30, 1999.

HOLTS, W. F.; ALMIQUIST, H.J. Measurement of deterioration in the stored hen's egg. *United States Egg Poultry Magazine*, v.38, p.70, 1932.

HY-LINE Variedade W-36 - *Guia de Manejo 2009-2011*. Hy-Line do Brasil. 42p.

ITO, N.M.K. Enfermidades que comprometem a qualidade da casca. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA, 4, Goiânia, Anais... Goiânia, 2000, p.145-158.

JORDAN, F.T.W.; ERNO, H.; COTTEW, G.S.; HINZ, K.H.; STIPKOVITS, L. Characterization and taxonomic description of five serovars (serotypes) of avian origin and their elevation to species rank and further evaluation of the taxonomic status of *Mycoplasma synoviae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v. 32, p. 108-115, 1982.

KLEVEN, S. H. *Mycoplasma synoviae* infections. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; McDOUGALD, L. R.; SAIF, Y. M. *Diseases of Poultry : Mycoplasmosis*, 10th ed. Iowa State: University Press, Ames, Iowa, USA, 1997.p. 220-8.

KLEVEN, S.H. *Mycoplasma synoviae* infections. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H.J.; FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.; McDOUGALD, L.R.; SWAYNE, D.E. *Diseases of Poultry : Mycoplasmosis*, 11th ed. Iowa State: University Press, Ames, Iowa, USA, 2003.p. 756-66.

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.

KLEVEN, S.H.; ROWLAND, G.N.; OLSON, N. O. *Mycoplasma synoviae* infections. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W. M.; YODER, H.W. *Diseases of Poultry: Mycoplasmosis*, 9th ed. Iowa State: University Press, Ames, Iowa, USA. Cap. 8, 1991.p. 223-31.

KING, D. D.; KLEVEN, S. H; WENGER, D. M.; ANDERSON, D.P. Field studies with *Mycoplasma synoviae*. *Avian Diseases*, v.17, n.3, p.722-6, 1973.

LARBIER, M., LECLERCQ, B. *Nutrition and feeding of poultry*, Nottingham, 1992. p.178-183.

LANA, G.R.Q. *Avicultura*. Campinas: Livraria e Editora Rural Ltda, 2000. 253p.

LAUERMAN, L. H.; HOERR, F. J.; SHARPTON, A. R.; SHAD, S. M.; SANTEN, L. V. Development and application of a Polymerase Chain Reaction Assay for *Mycoplasma synoviae*. *Avian Diseases*, v.37, p. 829-34, 1993.

LAUERMAN, L.H. *Mycoplasma* PCR Assays: Nucleic Acid Amplifications Assays for diagnosis of animal diseases. Department of Agriculture and Industries, Alabama. 1998. 150p.

LOCKABY, S. B.; HOERR, F. J.; LAUERMAN, L. H.; KLEVEN, S, H, Pathogenicity of *Mycoplasma synoviae* in broiler chickens. *Veterinary Pathology*, v. 35, n. 3, p. 178-90, 1998.

LOCKABY, S. B.; HOERR, F. J.; KLEVEN, S, H,; LAUERMAN, L. H. Pathogenicity of *Mycoplasma synoviae* in chickens embryos. *Avian Diseases*, v.43, n. 2, p. 331-7, 1999.

LOTT, B.D.; DROTT, J.H.; VARDAMAN, T.H.; REECE, F.N. Effect of *Mycoplasma synoviae* on egg quality and egg production of broiler breeders. *Poultry Science*, v.57, p.309-11, 1978.

LUNA, L.G. *Manual of histologicstaining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. New York: McGraw/Hill American Registry of Pathology, 1968. 258p.

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

MALLINSON, E. T. *Mycoplasma synoviae* erodes profit margins. *Poultry Digest*, v. 44, p. 204-7, 1985.

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.

MAROIS, C.; GESBERT, F. O.; KEMPF, I. Detection of *Mycoplasma synoviae* in poultry environment samples by culture and Polymerase Chain Reaction. *Veterinary Microbiology*, v. 76, n.2, p. 207, 2000.

MAROIS, C.; MAROIS, C.; GESBERT, F. O.; KEMPF, I. Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum* in environment samples. *Avian Pathology*, v.31, p.163-8, 2002.

MILES, R. D. Gravedad específica del huevo-establecimiento de un programa de verificación. Generalidades sobre la calidad del cascarón de huevo. México: Asociación Americana de Soya, 1993. p. 1-8.

MINHARRO, S.; LINHARES, G.F.C.; ANDRADE, M.A.; ROCHA, P.T.; SANTANA, A.P. Envolvimento de *Escherichia coli*, de *Mycoplasma gallisepticum* e de *Mycoplasma synoviae* em lesões de sacos aéreos em frangos abatidos no Estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, v.2, n.2, p. 111-17, 2001.

MOHAMMED, H.O.; CARPENTER, T.E.; YAMAMOTO, R. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial layer flocks. *Avian Diseases*, v. 31, p. 477-82, 1987.

MORENG, R.E.; AVENS, J.S. Ciência e produção de aves. São Paulo: Roca, 1990. 380p.

MORAES, I.A. Reprodução nas Aves Domésticas. Disponível em: <http://www.uff.br/fisiovet/Conteudos/reproducao_aves>. Acesso em 10 fev. 2011.

MORAES, I.A.; MANO, S.; BAPTISTA, R.F. Análise da rotulagem de ovos comercializados na cidade do Rio de Janeiro - Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.14, n.1, p.7-11, 2007.

MORISHITA, T. Y.; McFADZEN, M. E.; MOHAN, R.; AYE, P. P.; BROOKS, D. L. Serologic survey of free-living nestling prairie falcons (*Falco mexicanus*) for selected pathogens. *Journal Zoological Wild Medicine*, v. 29,n. 1, p. 18-20, 1998.

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.

MURAKAMI, A.E.; BARRIVIERA, V.A.; SCAPINELLO, C. Efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre a qualidade interna do ovo de codorna japonesa para consumo humano. *Revista Unimar*, Maringá, v.16, p.13-25, 1994.

NAKATA, F.N. Avaliação morfológica do oviduto e qualidade de ovos de poedeiras comerciais (*Gallus gallus*) em diferentes fases de produção. Recife, 2006. 44p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

NASCIMENTO, E.R.; YAMAMOTO, R.; HERRICK, K. R.; TAIT, R, C. Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Diseases*, v.35, p. 62-9, 1991.

NASCIMENTO, E.R.; NASCIMENTO, M.G.F. Eradication of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* from a chicken flock in Brasil. In: The 43th Western Poultry Disease Conference; 1994; Sacramento, Califórnia, USA. p.58.

NASCIMENTO, E.R.; NASCIMENTO, M.G.F. Estocagem e sobrevivência de várias espécies de micoplasma à -20°C. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19., 1984, Belém. Anais... Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 1984. p.307.1984.

NASCIMENTO, E.R. *Mycoplasma synoviae* em Avicultura – Implicações Econômicas: Conviver ou Erradicar. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2001, Campinas, SP. Anais... Campinas: Facta. 2001. v. 01, p.31 - 44.

NASCIMENTO, E.R.; PEREIRA, V.L.A.; NASCIMENTO, M.G.F.; BARRETO, M.L. Avian mycoplasmosis update. *Revista Brasileira de Ciência Avícola, Campinas*, v.7, n.1, p.1-9, 2005.

NASCIMENTO, E.R.; PEREIRA, V.L.A. Micoplasmoses. In: BERCHERI JUNIOR, A.; SILVA, E.N.; DI FABIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2009. p.485-502.

NASCIMENTO, V.P.; SALLE, C.T.P. O Ovo. In: MACARI, M.; GONZALES, E. *Manejo da Incubação*. Campinas: FACTA, 2003. p. 35-48.

OLIVEIRA, B.L. Processamento e industrialização de ovos. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA, 4., 2000, Goiânia, Anais... Goiânia, Associação Goiana de Avicultura, 2000. p. 177-186.

OLSON, N. O.; ADLER, H. E.; DaMASSA, A. J.; CORSTVET, R. E. The effect of intranasal exposure to *Mycoplasma synoviae* and infections bronchitis on development of lesions and agglutinins. *Avian Diseases*, v.8, p. 623-31, 1964.

OPITZ, H. M. *Mycoplasma synoviae* infection in Maine's egg farms. *Avian Diseases*, v.27, p.324-6, 1983

ORTIZ, A. & KLEVEN, S. H. Serological detection of *Mycoplasma synoviae* infection in turkeys. *Avian Diseases*, v.36, n. 3, p. 749-52, 1992.

QUEVEDO, A. O pequeno notável. *Avicultura Industrial*, n.02, ed.1175, p.22-6, 2009.

RAZIN, S. & TULLY, J. G. Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology. In: *Molecular Characterization*. San Diego, California/USA: Academic Press,1995. p. 215-95.

RAZIN, S.; YOGEV, D.; NAO, T.Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiology and Molecular Biology*, v.62, p.1094-156, 1998.

RHOADES, K. R. Antibody response of turkeys experimentally exposed to *Mycoplasma synoviae* . *Avian Diseases*, v.19, n.3, p.437-42, 1975.

RODRIGUES, P.C. Contribuição ao estudo da conversão de ovos de casca branca e vermelha. Piracicaba, 1975. 57p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

RODRIGUES, K.R.M.; SALAY, E. Atitudes de granjeiros, atacadistas, varejistas e consumidores em relação à qualidade sanitária do ovo de galinha *in natura*. *Revista de Nutrição*, Campinas,v.14, n.3, p.185-93, 2001.

SALISCH, H.; HINZ, K. H.; GRAACK, H. D.; RYLL, M. A comparison of a commercial PCR-based test culture methods for detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in concurrently infected chickens. *Avian Pathology*, v. 27, p. 142-7, 1998.

SALLE, C.T.P.; MORAES, H.L.S. Prevenção de doenças / Manejo profilático / Monitoria. In: DI BERCHERI JUNIOR, A.; SILVA, E.N.; DI FABIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2009. p. 1-20.

SANTOS, B.M. Fisiopatologia do Sistema Genitourinario In: BERCHERI JUNIOR, A.; SILVA, E.N.; DI FABIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2009. p. 306- 14.

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.

SHAPIRO, D.P. Observations of mycoplasmosis in an integrated poultry operation. In: Poultry Mycoplasma Workshop, American College of Poultry Veterinarians, Western Poultry Disease Conference, University of California; 1994; .Davis, Califórnia, USA.

SOLOMON S.E. Egg and eggshell quality. London: Wolfe Publishing; 1991. 149p.

SOUZA, P.; SOUZA, H.B.A.; BARBOSA, J.C. Effect of laying hens age on the egg quality maintained at room temperature. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Jaboticabal, SP, v.17, n.1, p.49-52, 1997.

SPINOSA, H.S.; ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; LIMA, E.A.; OKABAYASHI, S. Antimicrobianos: Considerações Gerais. In: PALERM-NETO, J.; SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L. *Farmacologia aplicada à Avicultura*. São Paulo: Roca, 2005. p. 87-104.

STADELMAN, W.J.; COTTERILL, O.J. *Egg science and technology*. Food Products Press, New York/London. 1994. 323p.

STIPKOVITS, L.; BURCH, B. Comparative studies on the efficacy of Mycoplasma gallisepticum bacterin and Tiamulin treatment of breeder hens. In: 9º European Poultry Conference; 1994; Glasgow.United Kingdom. p.171-72.

STIPKOVITS, L.; KEMPF, I. Mycoplasmoses in poultry. *Review Science Technology. OIE.* , n.15, p.1495-525, 1996.

SWENSON, M.L.; REECE, W.O. *Dukes Fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan,1996. 589 p.

TOGASHI, C.K.; KAKIMOTO, S.K.; SOARES, N.M. Avaliação dos danos nas cascas de ovos da postura ao processamento. *Avicultura Industrial*, n.05, p.41-4, 2009.

TOLEDO, F.G.M; SILVA, R.C.F.; MACHADO, L.S.; SILVA, C.C.; PEREIRA, V.L.A.; NASCIMENTO, E.R. PCR e cultivo em levantamento de *Mycoplasma synoviae* e *M.gallisepticum* em galinhas de postura. In: CONGRESSO APA PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO, 2010, São Pedro, SP. Anais... São Pedro: APA. 2010. p. 255-6.

THRUSFIELD, M. *Epidemiologia Veterinária*. São Paulo: Roca, 2003, 558p.

UBA - União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2009. Disponível em: <<http://www.uba.org.br>>. Acesso em 08 fev. 2011.

UBA - União Brasileira de Avicultura. O promissor mercado de ovos. *Informe UBA*, nº 72, ano II, 22/01/2010.

WYETH, P. J. Influence of route of infection on response of chickens to *Mycoplasma synoviae*. *Veterinary Record*, v. 95, p. 208 - 11, 1974.

WHITFORD, W.H.; ROSEMBUSH, R.F.; LAUERMAN, L.H. Mycoplasmosis in animals: Laboratory diagnosis. Ames, Iowa ed. Ames: Iowa State University Press, 1993.

WHITHEAR, K.G. Control of avian mycoplasmoses by vaccination. *Review Science Technology. OIE.*, n.15, p. 1527-53, 1996.

YAMADA, S.; MATSUO, K. Experimental infection of ducks with *Mycoplasma synoviae*. *Avian Diseases*, v. 27, n.3, p.762-5, 1983.

YAMAMOTO, R. Mollicutes. In: BIBERSTIEIN, E. L. & ZEE, Y. C. Review of *Veterinary Microbiology*. USA: Blackwell scientific Publications. 1990. p.213-227.

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

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

ZHAO, S.; YAMAMOTO, R. Detection of *Mycoplasma synoviae* by polymerase chain reaction. *Avian Pathology*, v.22, p.533 - 42, 1993.