

# ENVOLVIMENTO DE *Escherichia coli*, de *Mycoplasma gallisepticum* e de *Mycoplasma synoviae* EM LESÕES DE SACOS AÉREOS EM FRANGOS ABATIDOS NO ESTADO DE GOIÁS

SÍLVIA MINHARRO<sup>1</sup>, GUIDO FONTGALLAND COELHO LINHARES<sup>2</sup>, MARIA AUXILIADORA ANDRADE<sup>2</sup>,  
PATRÍCIA TIRONI ROCHA<sup>1</sup> E ÂNGELA PATRÍCIA SANTANA<sup>1</sup>

1. Mestranda em Medicina Veterinária - Sanidade Animal/ EV - UFG. Caixa Postal 131 - 74001-970 - Goiânia-GO.

2. Professor do Departamento de Medicina Veterinária/EV - UFG. Cx. Postal 131 - 74001-970 - Goiânia-GO.

## RESUMO

O estudo foi conduzido com o objetivo de verificar o envolvimento de *Escherichia coli*, de *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e de *Mycoplasma synoviae* (MS) em aerossaculite de frangos abatidos no Estado de Goiás. Foram colhidas 139 amostras de lesões de sacos aéreos de frangos procedentes de 31 galpões, abatidos no período de janeiro a agosto de 1999. As amostras foram analisadas em forma de *pools* representativos de cada galpão. Para o estudo de *E. coli*, foram empregados métodos convencionais de cultura e identificação bacteriológica. Para o diagnóstico de MG e MS, foi empregada a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). No período do estudo foram abatidos 608.111 frangos provenientes de 31 galpões, dos

quais 13.107 (2,15%) foram condenados por aerossaculite. A *E. coli* foi isolada e identificada em 25 (80,64%) dos 31 galpões estudados. MG e MS foram diagnosticados em 10 (32,25%) e 8 *pools* (25,80%), respectivamente, entre os 31 testados por PCR. Diferentes tipos de associações entre *E. coli*, MG e MS foram observadas neste estudo, sendo que a mais freqüente foi aquela envolvendo *E. coli* e MS (16,13%). A elevada freqüência dos três microrganismos estudados, associada ao número expressivo de condenações de carcaças de frangos verificado durante este estudo, indica a importância destes na enfermidade e para os programas sanitários avícolas na região.

**PALAVRAS-CHAVE:** Frango de corte, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Escherichia coli*, aerossaculite, PCR.

## ABSTRACT

### INVOLVEMENT OF *Escherichia coli*, *Mycoplasma gallisepticum* AND *Mycoplasma synoviae* WITH AIR SAC LESIONS OF BROILERS SLAUGHTERED IN THE STATE OF GOIÁS

The study was conducted in an attempt to verify the frequency of *Escherichia coli*, *Mycoplasma gallisepticum* (MG) and *Mycoplasma synoviae* (MS) in air sac lesions of broilers slaughtered in the State of Goiás, Brazil. Swab samples were collected from 139 air sac lesions of broilers from 31 flocks that were slaughtered during the period from January to August of 1999. The 139 samples were mixed in pools that represented each flock. The bacteriological study was conducted by conventional methods for culture and identification of *E. coli*. The polymerase chain reaction (PCR) was applied for the diagnosis of MG and MS. *E. coli* was isolated and identified

in 25 (80.64%) out of 31 flocks studied. MG and MS were detected in 10 pools (32.25%) and in 8 pools (25.80%), respectively, out of 31 flocks examined by PCR. Different types of mixed infections among *E. coli*, MG and MS were observed in this experiment, but the most often occurred with *E. coli* and MS (16.13%). The significant occurrence of the three organisms in association with the expressive number of carcass condemnations of broilers verified, indicates the importance of their involvement with airsacculitis and the impact of the disease for poultry health programs of the region.

**KEYWORDS:** Broiler, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Escherichia coli*, airsacculitis, PCR.

## INTRODUÇÃO

A contínua intensificação da produção no setor avícola propicia determinadas condições que favorecem a ocorrência e a disseminação de algumas doenças infecciosas, principalmente aquelas relacionadas ao trato respiratório.

Manfredini (1985) e Kleven (1994), ao descreverem sobre os custos das enfermidades respiratórias, responsabilizaram-nas pelas maiores perdas econômicas da criação avícola, que, de um modo geral, reduzem a taxa de crescimento das aves, comprometem a conversão alimentar, aumentam a taxa de mortalidade, reduzem a uniformidade do lote e depreciam o produto no processamento de carnes.

A diversidade de patógenos que, potencialmente, podem estar envolvidos com as enfermidades respiratórias, associada a diferentes aspectos sanitários, torna difícil, na maioria dos casos, a conclusão sobre o agente primário das enfermidades (Rosales, 1991). As doenças respiratórias das aves têm etiologia complexa, na qual freqüentemente há a participação da *Escherichia coli*, em infecções simples ou associadas a outros microrganismos como *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e/ou *Mycoplasma synoviae* (MS) (Barnes, 1991; Calnek, 1991; Muniz et al. 1991; Kleven, 1994; Silva, 1998).

As doenças causadas por *Mycoplasma* nas aves, geralmente, são crônicas, comprometem as vias aéreas superiores e determinam inflamações catarrais nas cavidades nasais, seios nasais, traquéia e brônquios. Acometem também os sacos aéreos, que se apresentam espessados, opacos e podem conter depósito de fibrina e folículos linfóides hiperplásicos em suas paredes (Nascimento, 1985; Nascimento, 1992).

A *E. coli* pode, ainda, produzir quadros severos de infecção septicêmica, com intenso acometimento dos sacos aéreos (Kleven, 1996; Yano, 1997).

Anualmente, cerca de 30 mil toneladas de carne de frango, perdidas na fase final de produção, não chegam à mesa do consumidor devido a problemas respiratórios, acarretando prejuízos de até 30 milhões de dólares (Dipemar, 1994).

Yang-Rende et al. (1996), em um estudo realizado na China, observaram que a *E. coli* estava

associada em 37% dos casos a *Mycoplasma* spp., doença de Newcastle e bronquite infecciosa.

Linritto & Menéndez (1996) mostraram a importância econômica e sanitária destes microrganismos nas explorações avícolas intensivas da Argentina, em que 66,6% das lesões de traquéia, seios nasais e pulmões foram atribuídas ao *Mycoplasma* spp. e 33,3% à *E. coli*.

Lovatto (1985) relatou que na Região Sul do Brasil há um aumento do índice de condenação em lotes de aves abatidas nos meses de julho e agosto. Para a Região Centro-Oeste, Minharmo et al. (1999) registraram um aumento considerável do número de aves abatidas no Estado de Goiás em abatedouros com Serviço de Inspeção Federal (SIF) nos últimos três anos, e que as principais causas de condenações registradas no período foram a colibacilose e a aerossaculite.

Considerando-se a falta de registros sobre os agentes etiológicos envolvidos em lesões de sacos aéreos em aves no Estado de Goiás, propôs-se nesta pesquisa a realização de estudo para avaliar o envolvimento de *E. coli*, de MG e de MS em carcaças de frangos condenadas por aerossaculite pelo Serviço de Inspeção Federal e, dessa forma, contribuir para o melhor conhecimento de aspectos sanitários na produção avícola da região.

## MATERIAL E MÉTODOS

As colheitas das amostras foram realizadas mensalmente entre os meses de janeiro e agosto de 1999, em dois dos três abatedouros frigoríficos registrados no Estado de Goiás, localizados nos municípios de Itaberaí e Pires do Rio, sob o Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Das lesões de sacos aéreos, identificadas diretamente na linha de inspeção, foram colhidas duas amostras (*swabs*). A primeira foi transferida para um tubo de ensaio esterilizado, destinada à execução da reação em cadeia da polimerase (PCR), visando à identificação de MG e de MS. A segunda foi transferida para um outro tubo de ensaio esterilizado, contendo 0,9 ml de água peptonada 0,1%, destinado à pesquisa de *E. coli*. As amostras foram organizadas e analisadas em forma de *pools* repre-

sentativos para cada galpão de procedência das aves, conforme Lauerman (1998).

Foram colhidas 139 amostras de lesões de sacos aéreos de frangos procedentes de 31 galpões. A identificação e o número de carcaças condenadas por aerossaculite foram registrados em tabelas para posterior avaliação das frequências.

Para o isolamento e identificação de *E. coli* das amostras empregaram-se métodos bacteriológicos convencionais, de acordo com metodologia descrita por Brenner (1984).

Para a detecção de MG e de MS, empregou-se a técnica de PCR, utilizando-se pares de *primers* espécie-específicos, cujas seqüências de oligonucleotídeos foram previamente selecionadas e validadas por Lauerman (1998) para a amplificação de fragmentos do gene que codifica o 16S rRNA. Portanto, para o MG, utilizaram-se os *primers* MG-14 “Forward” (5’- GAG CTA ATC TGT AAA GTT GGTC -3’), e o MG-13 “Reverse” (5’-GCT TCC TTG CGG TTA GCA AC 3’), para a amplificação de fragmento de 186 pares de base. Para o MS, utilizaram-se os *primers* MSL “Forward” (5’GAG AAG CAA AAT AGT GAT ATC A-3’) e o MSL “Reverse” (5’- CAG TCG TCT CCG AAG TTA ACA A -3’) para a amplificação de fragmento de 211 pares de base.

Os resultados obtidos foram organizados em tabela e analisados através de testes de distribuição de frequências relativas e absolutas (Spiegel, 1993).

Os dados meteorológicos referentes ao período de colheita das amostras foram obtidos junto

ao Ministério da Agricultura e do Abastecimento (2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o trabalho foram acompanhados abates de um total de 608.111 frangos, nos dois abatedouros pesquisados, sendo que o número de condenações por aerossaculite registrado, no período estudado, foi de 13.107, correspondendo a uma frequência relativa de 2,15 %.

A distribuição mensal da frequência relativa de condenações por aerossaculite, registrados na Tabela 3 e ilustrado na Figura 1, demonstra dois picos, um em janeiro e outro em julho. Atribuem-se estes às condições climáticas observadas nestas ocasiões (Figura 1), que podem ter atuado isoladamente ou em associação a outros fatores como problemas de manejo e/ou qualidade dos pintinhos de um dia. Estes resultados concordam com Lovatto (1985) e Minharro et al. (1999), que consideram períodos de chuvas intensas com alta umidade e temperaturas elevadas condições favoráveis à ocorrência da enfermidade, assim como épocas de maiores oscilações entre temperaturas máxima e mínima, em associação com a baixa umidade relativa do ar, por facilitar a inalação de pó e substâncias químicas como a amônia, que agridem o trato respiratório.

Entre os microrganismos pesquisados nas lesões de sacos aéreos, a *E. coli* foi a mais freqüente, sendo isolada em 25 (80,64%) das 31 amostras estudadas, em infecções mistas ou simples (Tabela 1).

**TABELA 1.** Frequência acumulada do isolamento de *E. coli* e reações de PCR positivas para MG e MS, em amostras de aerossaculite de 31 lotes de aves abatidas sob Inspeção Federal no Estado de Goiás.

Microrganismos	Frequência Acumulada	%
<i>E. coli</i>	25	80,64%
MG	10	32,25%
MS	08	25,80%
<i>E. coli</i> + MS	05	16,13%
<i>E. coli</i> + MG	04	12,90%
<i>E. coli</i> + MG +MS	03	9,68%
MG + MS	00	0,00%
Outros*	03	9,68%

\* amostras de lesões de sacos aéreos das quais não foi identificado nenhum dos três microrganismos pesquisados.

MG = *Mycoplasma gallisepticum*; MS = *Mycoplasma synoviae*

Este resultado está de acordo com as conclusões de Rosales (1991), Kleven (1996) e Tablante (1999), que consideraram esta bactéria o principal agente da aerossaculite e dos quadros septicêmicos das aves, mesmo na ausência de associações com outros microrganismos. MG e MS foram detectados, por PCR, em 10 (32,25%) e 8 (25,80%) das amostras, respectivamente (Tabela 1).

Sob a forma de infecção simples, entre as 31 amostras pesquisadas, a *E. coli* foi identificada em 13 (41,9%) e o MG em 3 (9,7%) (Tabela 2). Em nenhuma amostra encontrou-se infecção simples por MS. A ocorrência de associações entre *E. coli*, MG e MS foi detectada em 12 lotes (*E. coli* + MS = 5; *E. coli* + MG = 4; *E. coli* + MG + MS = 3; MG + MS = 0), correspondendo a uma frequência de 38,70% das infecções. Resultado semelhante foi verificado por Yang-Rende et al. (1996) na China, que registraram 37% de frequência de associações entre a *E. coli* e *Mycoplasma* spp.

Em 3 amostras (9,68%) não foi encontrado nenhum dos microrganismos pesquisados neste trabalho, sugerindo a ocorrência de infecções por outros agentes, que eventualmente podem causar infecções dos sacos aéreos, como relatado por Rosales (1991) e Yang-Rende et al. (1996).

Mediante os resultados obtidos neste estudo, verificou-se que a *E. coli* foi o agente infeccioso de maior frequência, demonstrando a importância da implementação e da contínua manutenção de medidas de higiene e biossegurança no sistema de produção avícola da região estudada. Detectou-se, também, o envolvimento de MG e MS nas afecções de sacos aéreos, o que sugere, de acordo com recomendação nacional (Brasil, 1999), a escolha de fornecedores de pintos de um dia com certificado de controle sanitário, uma vez que este é considerado um ponto crítico na introdução de micoplasmas nas granjas.

**TABELA 2.** Frequência de *E. coli*, MG e MS, em infecções simples e mistas, em amostras de aerossaculite de 31 lotes de aves abatidas sob Inspeção Federal no Estado de Goiás.

Microrganismos	Frequência absoluta	Frequência relativa
<i>E. coli</i> (infecção simples)	13	41,9%
MG (infecção simples)	03	9,7%
MS (infecção simples)	00	0,0%
<i>E. coli</i> + MS	05	16,1%
<i>E. coli</i> + MG	04	12,9%
<i>E. coli</i> + MG + MS	03	9,7%
MG + MS	00	0,0%
Outros *	03	9,7%
<b>TOTAL</b>	<b>31</b>	<b>100,0%</b>

\* amostras de lesões de sacos aéreos das quais não foi identificado nenhum dos três microrganismos pesquisados.

MG = *Mycoplasma gallisepticum*; MS = *Mycoplasma synoviae*

### CONCLUSÕES

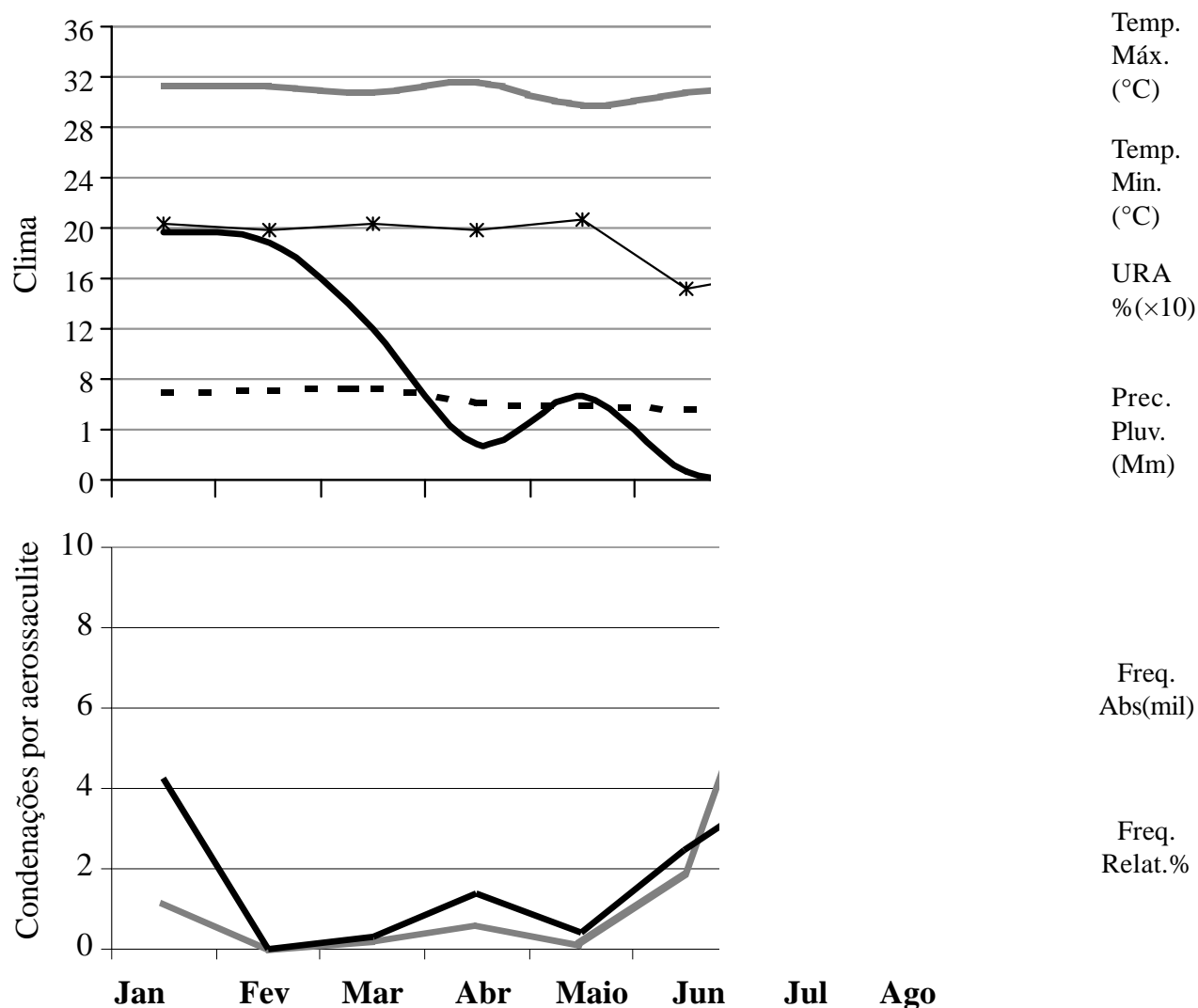
A *Escherichia coli* foi o principal agente bacteriano isolado de lesões de sacos aéreos em frangos abatidos em frigoríficos com Inspeção Federal no Estado de Goiás, seguido pelo *Mycoplasma gallisepticum* e pelo *Mycoplasma synoviae*. Infecções mistas envolvendo *Escherichia coli* e *Mycoplasma* spp. foram frequentes, sendo que 100%

das infecções por MS e 70% das por MG foram em associação com *E. coli*.

A aerossaculite foi registrada em todos os meses no período correspondente ao desenvolvimento deste trabalho (janeiro a agosto de 1999) como causa de condenação de carcaças de frangos, sendo a maior frequência observada no início do mês de julho.

**TABELA 3.** Frequências absoluta e relativa do número de condenações por aerossaculite de frangos abatidos sob Inspeção Federal no Estado de Goiás nos meses de janeiro a agosto de 1999.

Meses	Frequência absoluta	%
Janeiro	1,171	4,275
Fevereiro	0,011	0,007
Março	0,198	0,315
Abril	0,592	1,397
Maio	0,128	0,415
Junho	1,895	2,475
Julho	9,098	4,198
Agosto	0,014	0,251

**FIGURA 1.** Valores referentes à temperatura máxima e mínima (°C), umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica (mm<sup>3</sup>) para os meses de janeiro a agosto de 1999 e as frequências absoluta e relativa do número de condenações por aerossaculite de frangos abatidos sob Inspeção Federal no Estado de Goiás, no mesmo período.

## REFERÊNCIAS

- BARNES, H. J. O papel dos micoplasmas nas doenças respiratórias das aves. Uma revisão. In: SIMPÓSIO CIENTÍFICO ADVOCIN, 1., 1991, Quito, Equador. *Proceedings...* Quito, 1991. p. 4-10.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 14, de 29 de junho de 1999. Aprova as normas Técnicas para Importação e Exportação de aves de um dia e ovos férteis para incubação, destinados à reprodução. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 1.º jul. 1999. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Delegacia Federal de Agricultura em Goiás. 10º Distrito de Meteorologia. Setor de Análises e Informes Nosográficos. Goiânia, 2000.
- BRENNER, D. J. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family I. Enterobacteriaceae Rahn, 1937. In: KRIEG, N. R.; HOLT, H. J. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. p. 408-420.
- CALNEK, B. W. Poultry Diseases. In: YODER Jr., H.W. *Mycoplasmosis*. Ames: Iowa State University Press, 1991. p.196-211.
- DIPEMAR. Projeto identifica problema que afeta a produção de frangos no Brasil. *Revista Nacional de Carne*, v. 207, p. 73-74, maio 1994.
- KLEVEN, S. H. El desafío de las infecciones respiratorias mixtas. *Industria Avícola*, p.4-8. 1994. Suplemento.
- \_\_\_\_\_. *Mycoplasma* spp. e *E. coli*: a relação patógeno/hospedeiro. *Atualização Avícola*, Pfizer Força Avícola. 1996. 11 p. Avulso.
- LAUERMAN, L. H. *Nucleic acid amplification assays for diagnosis of animal diseases*. Auburn: American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, 1998.
- LINZITTO, O. R.; MENÉNDEZ, N. A. *Mycoplasma* e *Escherichia coli* associados a problemas respiratórios em aves na República Argentina. *A Hora Veterinária*, v. 94, p. 46-47, 1996.
- LOVATTO, Z. A. Principais causas de condenações e perdas a nível de abatedouros e sua importância como método de controle de doenças no frango de corte. In: ENCONTRO EMPRESARIAL DE ATUALIZAÇÃO EM PATOLOGIA AVÍCOLA, 1., 1985, Campinas, Brasil. *Anais...* Campinas, 1985. Paginação irregular.
- MANFREDINI, R. *Mycoplasma* spp.: as bacterinas como medida de controle. In: ENCONTRO EMPRESARIAL DE ATUALIZAÇÃO EM PATOLOGIA AVÍCOLA, 1., 1985, Campinas, Brasil. *Anais...* Campinas, 1985. Paginação irregular.
- MINHARRO, S.; ANDRADE, M. A.; SOBESTIANSKY, J.; JAYME, V. S. Alterações anatomopatológicas macroscópicas detectadas em abatedouros de aves sob Inspeção Federal no Estado de Goiás no período de 1995-1997. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, 1999. No prelo.
- MUNIZ, R. A.; PINEDO, J.; HINTZE, F.; UMEHARA, O. A eficácia de danofloxacina no tratamento da doença respiratória crônica complicada...., Quito: Pfizer., 15-19p., 1991. In: SIMPÓSIO CIENTÍFICO ADVOCIN, 1., 1991, Quito, Equador. *Anais...* Quito, 1991. p. 15-19.
- NASCIMENTO, E. R. *Micoplasmoses aviárias: principais infecções e seus estudos no Brasil*. Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 1985. 18p. Mimeografado.
- \_\_\_\_\_. *Micoplasmoses aviárias: caracterização das principais enfermidades*. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM SANIDADE AVÍCOLA, 1992. Campinas, Brasil. *Anais...* Campinas, 1992. 10 p.
- ROSALES, A. G. Enfermidades respiratórias en el pollo de engorde. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 1991. Campinas, Brasil. *Anais...* Campinas, 1991. p. 163-176.
- SPIEGEL, S. *Estatística*. 3 ed. São Paulo: Marronbooks, 1993. 643 p. (Coleção Schaun).

SILVA, E. N. Passo a passo contra *Escherichia coli*. *Avicultura Industrial*, n. 1.057, p. 24-27, 1998.

TABLANTE, N. L. et al. Risk factors association with early respiratory disease complex in broiler chickens. *Avian Diseases*, v. 43, n.3, p. 424-428, 1999.

YANG-RENDE; GAO-XUAN; LI-TANQING; CHEN-LIFENG; ZHANG-LI GUO; YANG-RD;

GAO-X; LI-TQ; CHEN-LF; ZHANG-LG. Isolation and identification of the pathogen in chickens infected with colibacillosis and preparation of a polyvalent inactivated vaccine. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, v. 22, p. 17-18, 1996.

YANO, T. *E. coli*: conceitos e fatores de virulência. In: SIMPÓSIO SOBRE SANIDADE AVÍCOLA, 1997. São Paulo, Brasil. *Anais...* Campinas, 1997. p. 57-90.