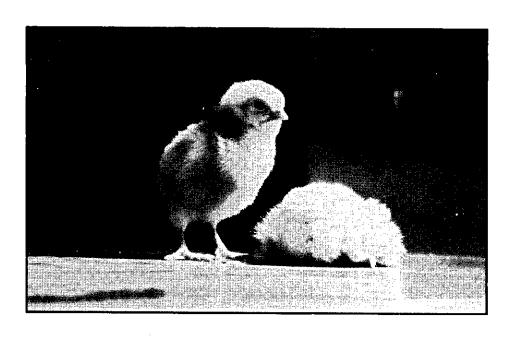
FL-12798 THE TRUE THE STREET ICA

Número 15

1992

ERRADICAÇÃO DE MICOPLASMAS - A EXPERIÊNCIA DA EMBRAPA -



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Vinculada ao Ministério da Agricultura a Paforma Agrécia inistério da Agricultura e Reforma Agrária e Pesquisa de Suínos e Aves - CNPSA

Catarina

Erradicação de micoplasmas:

1992



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente: Fernando Collor Mello

Ministro da Agricultura e Reforma Agrária: Antonio Cabrera Mano Filho

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA

Presidente: Murilo Xavier Flores

Diretores: Manoel Malheiros Tourinho

Eduardo Paulo de Moraes Sarmento

Fuad Gattaz Sobrinho

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SUÍNOS E AVES - CNPSA

Chefe: Paulo Roberto Souza da Silveira Chefe Adjunto Técnico: Claudio Bellaver Chefe Adjunto de Apolo: Adenir José Basso

ISSN: 0102-3713 1992

ERRADICAÇÃO DE MICOPLASMAS - A EXPERIÊNCIA DA EMBRAPA -

Laurimar Fiorentim Elmiro R. do Nascimento Lourenço Balen† M. Graça F. do Nascimento Valdir S. de Ávila Gilberto S. Schmidt



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Vinculada ao Ministério da Agricultura e Reforma Agrária Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves - CNPSA Concórdia, Santa Catarina.

Exemplares desta publicação podem ser solicitados ao

CNPSA - EMBRAPA Br 153 Km 110 Vila Tamanduá

Telefones: (0499) 44.01.22 e 44.00.70

Telex: 492.271 EBPA BR Fax: (0499) 44.06.81

Caixa Postal 21 89.700 Concórdia SC

Tiragem: 2.000 exemplares

Tratamento Editorial: Tânia Maria Giacomelli Scolari

FIORENTIN, L.; NASCIMENTO, E. R. do; BALEN, L.; NASCIMENTO, M. G. F. do; ÁVILA, V. S. de; SCHMIDT, G. S. Erradicação de Micoplasmas - A experiência da EMBRAPA. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1991. 18p. (EMBRAPA-CNPSA. Circular Técnica, 15).

1. Galinha-plantel-Micoplasma-erradicação. 2. Galinha-linhagem-formação. I. Nascimento, E. R. do, colab. II. Balen, L., colab. III. Nascimento, M. G. F. do, colab. IV. Ávila, V. S. de, colab. V. Schmidt, G. S., colab. VI. Título. VII. Série.

CDD 636.50896

SUMÁRIO

1. Introdução		•	•	•	•	•	•	5
2. Histórico	, •	•						6
3. Metodologia								8
3.1. Tratamento dos ovos								9
3.2. Monitoramento das aves	, · •	•	٠.	•		•	٠	11
4. Conclusões e Considerações Finais	•	•						14
5. Recomendações	, .		•	٠.			•	14
6. Bibliografia Citada								16

ERRADICAÇÃO DE MICOPLASMAS - A EXPERIÊNCIA DA EMBRAPA -

Laurimar Fiorentim/1
Elmiro R. do Nascimento/2
Lourenço Balen/3
M. Graça F. do Nascimento/2
Valdir S. de Ávila/4
Gilberto S. Schmidt/5

1. Introdução

As infecções por micoplasmas se constituem em problemas de grande relevância na avicultura industrial. Entre as espécies com importância econômica destacam se o Mycoplasma gallisepticum (M. gallisepticum) causador da doença crônica respiratória das galinhas (DCR) e da sinusite infecciosa dos perus, o Mycoplasma synoviae (M. synoviae) causador de sinovite em galinhas e perus, e o Mycoplasma meleagridis causador da aerossaculite dos perus (Yoder Junior 1991a).

As infecções por micoplasmas são endêmicas em granjas produtoras de ovos ou frangos, onde são transmitidas verticalmente pelo ovo, ou horizontalmente entre aves

de um mesmo lote. (Bencina et al. 1988, Truscot & Ferguson 1975).

As perdas causadas por infecções micoplásmicas são em geral atribuídas à redução das taxas de postura e eclosão, menor eficiência alimentar, aumento do percentual de refugos, efeito sinérgico com outras infecções e aumento da mortalidade e condenação de carcaças. Adicionalmente, essas enfermidades ainda acarretam elevado custo por medicação do plantel. De acordo com Yoder Junior (1991b), a infecção por M. gallisepticum é uma das doenças de maior custo para a indústria avícola.

Devido a essa magnitude dos prejuízos, a criação de aves livres de micoplasmas vem se mostrando como a melhor alternativa, o que tem motivado a criação de programas que orientam e supervisionam as granjas de reprodutores, a exemplo do

^{1/}Méd. Vet., M.Sc., EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves - Caixa Postal 21, CEP 89700 - Concórdia - SC.

^{2/} Méd. Vet., M.SC., EMBRAPA - UAPSA - Seropédica, RJ.

^{3/} Em memória.

^{4/} Eng. Agron., M. Sc., EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves - Caixa Postal 21, CEP 89700 - Concordia - SC.

^{5/} Zootenista, Dr. Sc., EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves - Caixa Postal 21, CEP 89700 - Concórdia - SC

"National Poultry Improvement Plan", dos Estados Unidos da América, (Estados Unidos 1989).

Além disso, em plantéis de reprodutores, as linhas puras necessitam ser livres de micoplasmas de forma a permitir uma real avaliação de seu desempenho para a seleção, e a oferta de linhagens comerciais livres de micoplasmas. Em suma, não existe, atualmente, competitividade comercial para linhagens infectadas por micoplasmas.

Para a solução do problema o tratamento antibiótico curativo não é recomendado porque não elimina os micoplasmas por completo nas aves. A eliminação de todo o lote infectado é também impraticável porque elimina o material genético em seleção, necessitando-se reiniciar o programa de melhoramento. Resta, portanto, a possibilidade de eliminar a infecção, através de métodos que possibilitam manter o material genético selecionado.

Os métodos de erradicação conhecidos baseiam-se na eliminação do micoplasma no ovo. Embora exista a possibilidade do tratamento através do aquecimento dos ovos a 46,1 graus centígrados, o tratamento com antibióticos tem sido o mais utilizado. Esse procedimento baseia-se em inviabilizar as células de micoplasmas presentes, sem alterar a capacidade do ovo em gerar novo embrião, que por sua vez dará origem a um pinto livre de micoplasmas (Yoder Junior 1991b; Tudor & Woodward 1968; McCapes et al 1975; Ghazikhanian et al. 1980 e Truscot & Ferguson 1975).

O tratamento antibiótico de ovos tem sido feito por imersão ou injecção. Na imersão, os ovos férteis são aquecidos para a dilatação dos poros e então submergidos em uma solução antimicrobiana. O diferencial de temperatura cria pressão negativa interna no ovo que possibilita a entrada de antimicrobianos através da porosidade da casca (Alls et al. 1963). A injeção pode ser feita em ovos embrionados ou não, usando-se uma solução antimicrobiana injetada na câmara de ar ou na cavidade corio-alantóide do ovo (Tudor & Woodward 1968; McCapes et al. 1975).

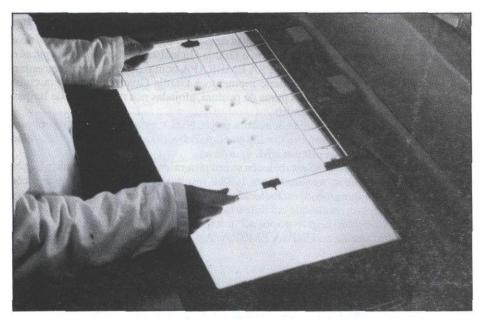
A progênie obtida desses ovos tratados, deve então sofrer monitoramento para comprovação da eliminação de micoplasmas. Esse monitoramento baseia-se em testes sorológicos e tentativas de isolamento dos micoplasmas (Estados Unidos 1989).

A erradicação de M. gallisepticum e M. synoviae neste caso objetivou garantir a eficiência da seleção das linhas puras, obtidas da extinta Granja Guanabara e a competitividade comercial das futuras linhagens de galinhas de corte e postura.

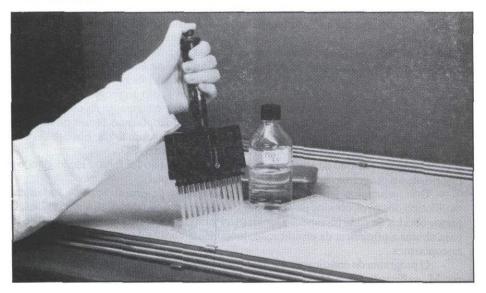
2. Histórico

Na década de 70 a avicultura brasileira cresceu intensamente, porém quase toda baseada em aves de linhagens importadas, restando índices aproximados de 5% de produção das matrizes de corte e 10% das de postura para as linhagens nacionais da Granja Guanabara. Esses índices, no entanto, viriam em seguida a reduzir-se a zero, ficando a produção nacional de aves e ovos exclusivamente dependente de linhagens importadas.

Com a incrementação maior ainda da produção avícola, sempre baseada em material genético importado, criou-se uma situação inusitada onde o Brasil investia muito em um setor produtivo no qual não era auto-suficiente. Baseado nessa situação



Soroaglutinação



Inibição da hemaglutinação.

o Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPSA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) iniciou em 1983 um programa para o desenvolvimento de linhagens nacionais de galinhas de corte. No ano de 1984, o Ministério de Agricultura e Reforma Agrária adquiriu a Granja Guanabara com suas linhas puras de corte e postura, repassando a ao CNPSA EMBRAPA com o objetivo de incrementar o programa iniciado em 1983. Naquele momento a Granja Guanabara contava com 2 linhas puras para corte e 5 linhas puras de postura, alojadas nos municípios de Itaipava e Piraí no Estado do Rio de Janeiro.

Com a gerência da Granja Guanabara pelo CNPSA, estabeleceu se um programa para identificar o estado sanitário das linhas adquiridas, onde constatou se relatividade sorológica para M. gallisepticum e M. synoviae.

A partir do ano de 1985 estabeleceu se um programa de erradicação das infecções por micoplasmas, que só terminaria em 1988 e resultaria em atraso de duas gerações no programa de melhoramento estabelecido. Embora tenha tido esse custo, a estratégia montada teve sucesso, resultando em linhas isentas de ambos os micoplasmas. O plantel somente foi considerado negativo após a 2º geração livre dos micoplasmas, nascida em 1988 e então transferida ao CNPSA EMBRAPA em Concórdia, Santa Catarina.

3. Metodologia

O plantel foi considerado positivo para M. gallisepticum e M. synoviae de acordo com os resultados dos testes de soroaglutinação rápida em placa e de inibição da hemaglutinação, (HI), realizados em 20% das aves. A infecção foi posteriormente confirmada pelo isolamento e identificação dos agentes (Estados Unidos 1989). O tratamento dos ovos foi iniciado imediatamente, aproveitando se a vantagem da idade avançada das aves, que supostamente incorreria em um possível decréscimo da transmissão vertical, devido à alta taxa de anticorpos nos ovos (Kempf et al. 1988). O tratamento foi repetido até a obtenção de progênie livre de ambos os micoplasmas.

Inicialmente estabeleceu se uma pequena estrutura laboratorial no então denominado Campo Experimental de Piraí (CEP), para dar apoio ao programa de erradicação, basicamente para testes de soroaglutinação rápida e tratamento de ovos. Os testes de HI para a titulação dos soros e os isolamentos de micoplasmas foram inicialmente feitos na Unidade de Apoio ao Programa de Saúde Animal da EMBRAPA em Seropédica, RJ, e posteriormente no CNPSA em Concórdia, SC.

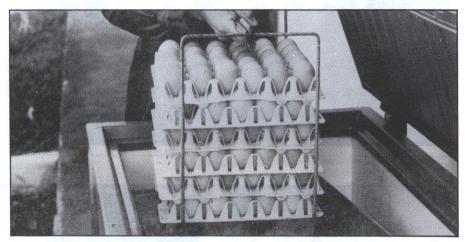
Durante o período de erradicação de micoplasmas não foi feita seleção, dando se prioridade ao programa de recuperação sanitária do plantel.

Dois princípios básicos nortearam o programa de erradicação: o tratamento antibiótico dos ovos obtidos das aves infectadas, e a criação dos pintos em réplica. Os pintos obtidos de cada tratamento foram monitorados por soroaglutinação rápida e HI, para checar a eficiência da erradicação, juntamente com tentativas de isolamento dos micoplasmas.

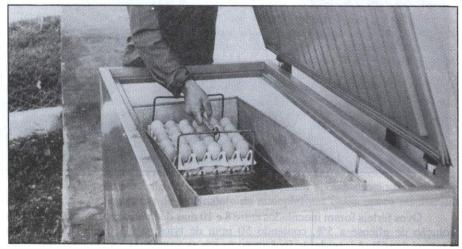
O programa de erradicação efetivamente iniciou se após confirmadas as infecções por M. gallisepticum e M. synoviae através do isolamento dos agentes. Nesta época a granja contava com uma população de 17 mil aves.

3.1. Tratamento dos ovos:

Dos ovos obtidos do plantel a partir de 1985, 205.441 foram submetidos ao tratamento antibiótico, sendo que destes, 78.408 sofreram injeção na albumina e 127.033 na câmara de ar. Adicionalmente, 54.318 foram incubados sem tratamento, servindo como controle da técnica utilizada.



Para o tratamento, ovos fumigados são...



...mergulhados na solução antimicrobiana...



... deixados por 2 minutos...



...retirados e incubados.

Ovos férteis foram inoculados entre 8 e 10 dias de incubação, com 0,1 ml de uma solução de glicose a 5%, contendo 50 ppm de tylosina (1) 6 ppm de sulfato de gentamicina (2). A inoculação foi feita com seringa e agulha 0,3 x 2 do tipo tuberculina, através de orifícios abertos com uma broca odontológica portátil. Após a inoculação os orifícios foram tapados com parafina. A tylosina foi utilizada devido à sua eficiência

comprovada contra micoplasmas (Uchida 1986), e a gentamicina por ser pouco tóxica e ter amplo espectro (Youmans et al. 1985), já que havía a ocorrência de outras doenças bacterianas no plantel.

Em virtude das baixas taxas de eclosão obtidas com o método de injecção (Tabela 1) os dois outros tratamentos foram feitos por imersão, onde a eclodibilidade é sabidamente melhor (Truscot & Ferguson 1975). Os tratamentos feitos após a obtenção da primeira geração tratada foram baseados na técnica de diferencial de temperatura, de acordo com descrição prévia (Ghazikanian et al. 1980). Os ovos foram aquecidos a 37 graus centígrados e então submersos em uma solução a 5 graus centígrados, contendo tylosina (150 ppm), gentamicina (600 ppm), e amônia quaternária (250 ppm). Durante o tratamento, a solução foi mantida em congelador convencional, sendo renovada de acordo com as recomendações.

TABELA 1 Comparação entre a injeção de antibiótico na albumina ou na câmara de ar.

Via de Inoculação	Ovos Inoculados	Eclodibilidade (%)
Câmara de ar	78.408	22,45
Ponta fina	127.033	60,91
Não inoculados	54.318	74,00
Total	259.759	

3.2. Monitoramento das aves:

O monitoramento do plantel para a identificação dos níveis de infecção para M. gallisepticum e M. sinoviae seguiram procedimentos padrão (Estados Unidos 1989). Amostras de sangue de 5% do plantel foram coletadas às 5,10 e 16 semanas de idade; e em ocasiões em que apareceram aves com sinais de doença respiratória, ou reações sorológicas suspeitas, quando a técnica foi então repetida. Nestas ocasiões, também foram coletados suabes traqueais de 20 a 30 aves vivas e outros de aves necropsiadas, para a tentativa de isolamento dos agentes. O monitoramento sorológico foi repetido ao início da postura e a intervalos de 6 semanas.

Às 5 semanas as aves obtidas da primeira incubação de ovos tratados foram sorologicamente negativas em soroaglutinação rápida com amostra de 5% do plantel. Às 10 semanas de idade no entanto, 30% dos soros testados de uma amostra de 10% do plantel, foram reagentes em soroaglutinação rápida para M. gallisepticum. Submetidas ao teste de HI esses soros apresentaram títulos de até 40, sendo que o plantel foi então considerado suspeito. A repetição desses testes após 3 semanas revelou o mesmo quadro. As tentativas de isolamento de micoplasmas nessa época resultaram todas negativas.

⁽¹⁾ Tylan, Elanco

⁽²⁾ Gentocin, Schering

As 16 semanas de idade houve o aparecimento de aves com sinais respiratórios, que permitiram o isolamento de M. synoviae. O plantel foi então considerado suspeito de infecção por M. gallisepticum e infectado por M. synoviae após essa primeira tentativa.

A permanência da infecção por M. synoviae nesse grupo tratado não significou necessariamente um fracasso da técnica empregada, porque a infecção por outra via

que não o ovo pode ocorrer.

Por outro lado, a réplica mantida em outra granja (Itaipava) não apresentou sorologia positiva, sendo então utilizada para o prosseguimento dos trabalhos de erradicação. A não constatação da infecção por M. gallisepticum e M. synoviae até a idade de postura, nessa réplica pode ser atribuída a casual, ou muito baixa transmissão vertical, aliada à baixa pressão infectiva do local.

Embora esse trabalho tenha tido sucesso utilizando uma réplica só, recomenda-se a criação de 4 ou 6 réplicas após o tratamento dos ovos. Como a transmissão dos micoplasmas ocorre naturalmente em não mais que 5% dos ovos, quanto maior o número de réplicas maior a chance de conseguir uma réplica onde nenhuma ave foi oriunda de ovo contaminado. Com o tratamento antimicrobiano essa probabilidade passa a ser ainda maior.

Com esse quadro instalado, eliminou-se o plantel infectado e a granja foi repovoada com pintos oriundos do plantel até então tido como livre para ambos os

micoplasmas.

O repovoamento foi feito com pintos obtidos das aves velhas, com 120 semanas de idade. Os ovos oriundos dessa granja sofreram um tratamento de segurança, porque embora o plantel estivesse sorologicamente negativo havia a possibilidade de um parasitismo latente dos micoplasmas devido ao caráter endêmico da infecção. Esse mesmo tratamento foi repetido nos ovos colhidos para a obtenção de uma nova geração, que foi então transferida para a granja do CNPSA EMBRAPA, em Concórdia, SC.

Nesta etapa, o tratamento dos ovos seguiu o protocolo abaixo:

1. Fumigar com formol e permanganato de potássio;

2. Deixar por 3 horas na incubadora a 37 graus centígrados.

3. Imergir os ovos em solução antimicrobiana a temperatura de 2 a 6 graus centígrados durante 2 minutos.

Solução Antimicrobiana:

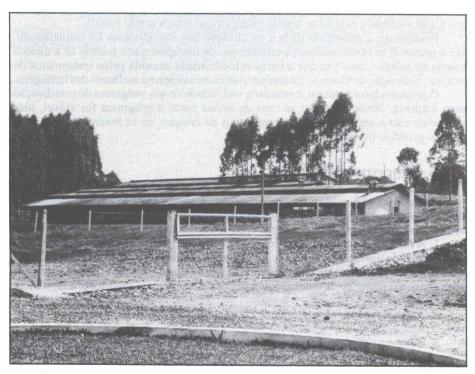
4. Deixar secar por alguns minutos, fumigar novamente e incubar.

Após esse último tratamento, as linhas puras foram consideradas livres de micoplasmas porque durante duas gerações não houve reação sorológica positiva do plantel. Após a transferência do plantel para o CNPSA, mais três gerações foram obtidas sem que houvesse reação sorológica ou se lograsse isolamento de micoplasmas do plantel.

O tratamento antimicrobiano não deve ser considerado responsável pelo sucesso do programa isoladamente, uma vez que o monitoramento sanitário adotado foi imprescindível para o complemento da erradicação, bem como a transferência das aves para granjas que haviam sofrido vazio sanitário, e portanto com baixa pressão infectiva.

A divisão do lote em réplicas, foi um fator importante para o surgimento de um grupo livre, ou de extremamente baixa taxa de infecção.

Finalizando, essa erradicação viabilizou a continuidade do programa de seleção e melhoramento genético, uma vez que os fatores negativos atribuídos a presença de M. gallisepticum e M. synoviae foram eliminados.



O isolamento da granja é imprescindível para garantir bom nível sanitário.

4. Conclusões e Considerações Finais

A metodologia utilizada foi eficiente para erradicar M. gallisepticum e M. synoviae do plantel. A possibilidade de manter se réplicas e eliminar um lote foi importante para obter se um lote com infecção de menor intensidade. A transferência de aves para duas novas granjas, exerceu também papel importante, porque possibilitou alojar as aves em ambiente livre dos micoplasmas que estavam sendo erradicados.

Embora a prioridade naquele período tenha sido dada à erradicação, a manutenção da profilaxia através de vacinação e desinfecções rigorosas foi imprescindivel para se evitar a reinfecção do plantel ou a introdução de outras doenças, sobretudo respiratórias, que viessem a exacerbar aquela infecção que estava sendo banida.

Finalmente, a prioridade dada à erradicação dos micoplasmas foi fundamental. Não é provável se obter sucesso na erradicação de micoplasmas e manter se a mesma pressão de seleção, uma vez que a baixa eclodibilidade causada pelos tratamentos de ovos e a eliminação de lotes são fatores contrários ao avanço na melhoria das linhagens.

O primeiro passo, porém, é estudar a viabilidade de um programa de erradicação dessa natureza. Neste caso, por se tatar de linhas puras o programa foi viável, mas certamente não o seria em extratos comerciais da criação, ou se houvesse réplica do material genético livre de micoplasmas.

5. Recomendações

Baseado na experiência da erradicação de micoplasmas do plantel avícola do CEP, antiga granja Guanabara, pode se levantar algumas recomendações que servirão para auxiliar programas dessa natureza.

- 1. A infecção do plantel por micoplasmas deve ser confirmada por isolamento e identificação do agente ou outro teste de diagnóstico direto. Os testes sorológicos em geral oferecem problemas de inespecificidade, sendo que a sorologia deverá ser usada como elemento primeiro da detecção da infecção e depois para monitorar a eficiência da erradicação.
- Antes de iniciar o programa de erradicação, verificar sua viabilidade econômica.
- 3. Uma vez optado pela erradicação ela é a prioridade máxima para o plantel. O programa de melhoramento genético não é compatível com o programa de erradicação e deve ser suspenso até que o plantel volte a ser livre de micoplasmas.
- 4. Paralelamente ao programa de erradicação, estabelecer um controle sanitário rigoroso do plantel, e um programa de vacinações eficiente, sobretudo a doenças respiratórias.
- 5. Somente iniciar a erradicação quando dispor de uma equipe e um laboratório adequados para trabalhar com micoplasmas aviários.
- 6. Eleger o plantel a ser trabalhado e eliminar todas as aves com sinais clínicos de qualquer doença, mantendo sempre aquelas com melhor estado imunitário.
- 7. Definir um tratamento antimicrobiano para os ovos (como descrito neste trabalho, ou a seu critério).

- 8. Após o nascimento, separar os pintos em tantas réplicas quanto possível. A manutenção de apenas uma réplica é pouco recomendada, devendo se separar em 4 ou 6 grupos alojados em granjas diferentes. Isso aumenta a possibilidade de que em um dos grupos não tenha restado aves portadoras dos micoplasmas.
- 9. Fazer o monitoramento sorológico dos grupos com soroaglutinação rápida e teste de HI dos soros que eventualmente derem positivos naquela prova. Caso apareçam títulos iguais ou superiores a 80 no HI, tente o isolamento do agente.
- 10. Escolher um lote negativo para a obtenção da nova geração. Deve se proceder um tratamento de imersão nos ovos para segurança e alojar os pintos em outra granja, onde nunca houve infecção por micoplasmas, ou em granja nova.
- 11. Prosseguir com o monitoramento sorológico. Se até as 25 semanas o lote permanecer negativo poderá ser considerado livre de micoplasmas, e a possibilidade de uma reinfecção é igual a de uma linhagem que nunca esteve infectada.

6. Bibliografia Citada

- ALLS, A. A.; BENTON, W. J.; KRAUSS, W. C.; COVER, M. S. The mechanics of treating hatching eggs for disease prevention. Avian Diseases, v. 7, p. 89-97, 1963.
- BENCINA, D.; TADINA, T.; DORRER, D. Natural infection of ducks with Mycoplasma synoviae and Mycoplasma gallispeticum and Mycoplasma egg transmition. Avian Pathology, v. 17, p. 441-9, 1988.
- ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. National Poultry Improvement Plan an Auxiliary Provisions. Hyattsville: National Poultry Improvement Plan, 1989. 89 p. (APHIS, 9140).
- GHAZIKHANIAN, G. Y.; YAMAMOTO, R.; McCAPES, R. H.; DUNGAN, W. M.; ORTMAYER, H. B. Combination dip and injection of turkey eggs with antibiotic to eliminate Mycoplasma meleagridis infection from a primary breeding stock. Avian Diseases, v. 24, p. 57-70, 1980.
- KEMPF, J.; OLLIVIER, C. L.; DROUIN, P.; GUITTET, M.; BENNEJEAN, G. Detéction des anticorps mycoplasmiques dans le vittellus d'oeufs non incubés. Revue de Medecine Veterinarie, v. 139, n. 9, p. 837-841, 1988.
- McCAPES, R. H.; YAMAMOTO, R.; ORTMAYER, H. B.; SCOTTIN, F. Injecting antibiotic into turkey hatching eggs to eliminate Mycoplasma meleagridis infection. Avian Diseases, v. 19, p. 506-514, 1975.
- TRUSCOT, R. B.; FERGUSON, A. E. Studies on the control of Mycoplasma gallisepticum in hatching eggs. Canadian Journal of Comparative Medicine, v. 39, p. 235-239, 1975.
- TUDOR, D. C.; WOODWARD, H. A mass method for chickens embryo inoculation with tylosin. Avian Diseases, v. 12, p. 379-382, 1968.
- UCHIDA, K. Drug sensitivity "in vitro" of Mycoplasma gallissepticum and Mycoplasma synoviae strains isolated from commercial broiler and layer chickens.

 Journal of Japanese Veterinary Medical Association, v. 39, p. 644-647, 1986.
- YODER JUNIOR, H. W. Mycoplasmosis. In: CALNEK, B. W. Diseases of poultry. 9, ed. Ames: Iowa State University Press, 1991a. p. 197-198.
- YODER JUNIOR, H. W. Mycoplasmosis gallisepticum. In: CALNEK, B. W. Diseases of poultry. 9. ed. Ames: Iowa State University Press, 1991b. p. 198-212.
- YOUMANS, G. R.; PATERSON, P. Y.; SOMMERS, H. M. The biological and clinical basis of infectious diseases. 3. ed. Philadelphia: Saunders Co., 1985. 814 p.

