

# بررسی شیوع سرمی آلودگی به مایکوپلازما سینوویه در مزارع تخمگذار تجاری استانهای البرز و قزوین



پیام حقیقی خوشخو<sup>۱\*</sup>، گیتا اکبری آزاد<sup>۱</sup>، جواد اپنانلو<sup>۲</sup>، مهران معصومی<sup>۱</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، کرج، ایران

۲- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

\* نویسنده مسئول: [pkhoshkho@kiauo.ac.ir](mailto:pkhoshkho@kiauo.ac.ir)

دوره دوم، شماره سوم، تابستان ۱۳۹۰

صفحات ۱۵۴-۱۳۷

## چکیده

این مطالعه به منظور تعیین شیوع سرمی آلودگی با مایکوپلازما سینوویه در سطح مزارع تخمگذار تجاری استان البرز و قزوین صورت گرفت. تعداد کل ۲۰۵۰ نمونه ی سرمی بطور تصادفی از ۲۱ مزرعه تخمگذار تجاری (پنجاه نمونه خون از هر مزرعه) که اکثریت آنها سن بیش از ۲۰ هفته داشتند در طول فصول زمستان و بهار جمع آوری شد. نمونه های سرمی جهت شناسایی آنتی بادی علیه MS بوسیله آنتی ژن تجاری MS (Soleil Co, France) به روش آگلوتیناسیون سرمی روی صفحه (SPA) آزمایش شدند. آزمایش مجدداً بر روی نمونه های مثبت با رقت  $\frac{1}{8}$  انجام شد و مزارعی که بیش از ۱۰٪ نمونه های سرمی آنها مثبت بودند از نظر آلودگی با MS مثبت قلمداد شدند. نتایج نشان داد که از مجموع ۲۰ فارم مورد بررسی در استان البرز، ۱۰ مزرعه (۵۰٪) مثبت و ۱۰ مزرعه دیگر (۵۰٪) نیز منفی بودند. همچنین از مجموع هزار سرم مورد مطالعه نیز، ۱۷۰ نمونه (۱۷٪) مثبت، ۶ نمونه (۰/۶٪) مشکوک و ۸۲۲ نمونه (۸۲/۲٪) منفی بود. از مجموع ۲۱ فارم مورد بررسی در استان قزوین، ۷ مزرعه (۳۳/۳٪) مثبت و ۱۴ مزرعه (۶۶/۷٪) منفی شدند. از مجموع ۱۰۵۰ سرم مورد مطالعه نیز، ۲۰۱ نمونه سرمی (۱۹/۱۴٪) مثبت، ۶ نمونه سرمی (۰/۵۷٪) مشکوک و ۸۴۳ نمونه سرمی (۸۰/۲۸٪) منفی بودند. آنالیز آماری نشان داد ارتباط مثبت معنی داری بین گله های مثبت و سویه مرغ تخمگذار تجاری (سویه LSL نسبت به سویه Hy-Line) ظرفیت و تعداد سالن مرغداری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). به نظر می رسد شیوع سرمی MS در مزارع تخمگذار تجاری این دو استان بالا باشد و توجه بیشتر به امنیت زبشی در این مزارع قابل توجه باشد.

واژه های کلیدی: مایکوپلازما سینوویه، شیوع سرمی، تخمگذار، تست آگلوتیناسیون سرمی روی صفحه، البرز، قزوین.

مقدمه

عفونت مایکوپلازما سینوویه (MS) اغلب به صورت یک عفونت تحت بالینی بخش فوقانی دستگاه تنفس نمایان می‌شود و هنگامی که با بیماری‌های نیوکاسل، برونشیت عفونی یا هر دو آنها توأم شود، می‌تواند ضایعاتی را در کیسه‌های هوایی ایجاد کند. عفونت با MS می‌تواند به صورت سیستمیک در آید و منجر به سینوویت عفونی شده و غشاهای سینوویال مفاصل و غلاف تاندون‌ها را درگیر و سینوویت اکسوداتیو، تنوواژینیت و یا بورسیت ایجاد نماید (۷).

آلودگی تجربی مرغ‌ها با مایکوپلازما سینوویه کاهش معنی داری در تولید تخم‌مرغ در هفته اول بعد از عفونت می‌دهد که تا ۴ هفته ادامه دارد. با این حال در آلوده شدن طبیعی بالغ‌ها عموماً میزان تولید یا کیفیت تخم‌مرغ‌ها در مرغ‌های تخم‌گذار تجاری تغییر ناچیزی می‌کند. خسارات اقتصادی بدلیل افزایش تلفات، هزینه درمان دارویی، کاهش کیفیت لاشه‌ جوچه‌های گوشتی، کاهش تولید تخم‌مرغ و کاهش جوچه‌ درآوری می‌تواند باشد (۱، ۷) که برای کنترل و پیشگیری این بیماری، رعایت اصول امنیت زیستی در مزارع و واکسیناسیون با واکسن زنده پیشنهاد شده است. با اینحال برای روشن تر شدن ضرورت استفاده از واکسن زنده، بایستی وضعیت آلودگی به این پاتوژن در مزارع مربوطه مشخص شود. هدف از این مطالعه تعیین شیوع سرمی آلودگی به مایکوپلازما سینوویه در تعدادی از مزارع تخمگذار تجاری استانهای البرز و قزوین بود تا مقدمه‌ای برای شروع مطالعات کامل تر و ارائه راهکارهای کنترلی مناسب تر علیه این بیماری باشد.

مواد و روش کار

زمان و مکان انجام مطالعه: نمونه‌های سرمی از دی ماه ۱۳۸۸ تا خرداد ماه ۱۳۸۹ بطور تصادفی به مدت ۶ ماه از مزارع تخمگذار تجاری با بیش از ۴۰ هفته سن اخذ شد. از ۲۰ مزرعه استان البرز ۱۰۰۰ نمونه خون از مناطق مختلف شامل:

کرج، هشتگرد، کردان، نظرآباد و اشتهارد و از ۲۱ مزرعه استان قزوین ۱۰۵۰ نمونه خون از مناطق آبیک، میرپنجی، ناصر آباد، اسلام آباد و دوده جمع آوری شد. خونگیری از ورید بال اخذ و سرم‌های جداشده در عرض کمتر از ۲۴ ساعت در آزمایشگاه مرکزی بیمارستان شماره یک دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج آزمایش شدند. همزمان با خونگیری اطلاعاتی مبنی بر سن گله، سویه تجاری پرندگان، ظرفیت مرغداری، آنتی بیوتیک مصرفی در سه ماه اخیر، درصد تولید، نتیجه آزمایش سرولوژیک MS به روش آگلوتیناسیون سرم روی صفحه در سن یک روزگی و سابقه واکسیناسیون گله مورد مطالعه و گله مادر آن با واکسن MS نیز اخذ شد. آزمایش آگلوتیناسیون سرم روی صفحه SPA (Serum Plate Agglutination Test): به منظور شناسایی آنتی بادی MS در سرم‌های اخذ شده، از آنتی ژن آبی رنگ مایکوپلازما گالی سیتیکوم (Soleil Co, France) استفاده شد که سوسپانسیونی از اجرام کشته شده MS سویه WVU 1853 با رنگ کریستال ویوله است. ۲۵ میکرولیتر از سرم و از آنتی ژن در دمای اتاق روی صفحه شیشه‌ای مخلوط و بعد از گذشت ۲ دقیقه از نظر وجود یا عدم وجود آگلوتیناسیون در مقایسه با کنترل منفی قرائت شد. نمونه‌های مثبت بعد از رقیق سازی به نسبت ۸:۱ با بافر PBS مجدد آزمایش شده و در صورت آگلوتیناسیون یا عدم آگلوتیناسیون، به ترتیب مثبت یا مشکوک قلمداد شدند. مزارعی که ۱۰٪ نمونه‌های سرمی رقیق شده آن در آزمایش مجدد SPA مثبت بود، طبق دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE)، مثبت در نظر گرفته شدند (۶).

جمع آوری اطلاعات: متغیرهای مورد بررسی به دو دسته کمی و کیفی تقسیم شدند که متغیرهای کیفی شامل استفاده از آنتی بیوتیک، سیستم پرورش (تک سنی، چند سنی)، سویه مرغ تخمگذار، منطقه جغرافیایی و متغیرهای کیفی نیز شامل درصد تولید، تعداد سالن‌ها، ظرفیت و سن بود.

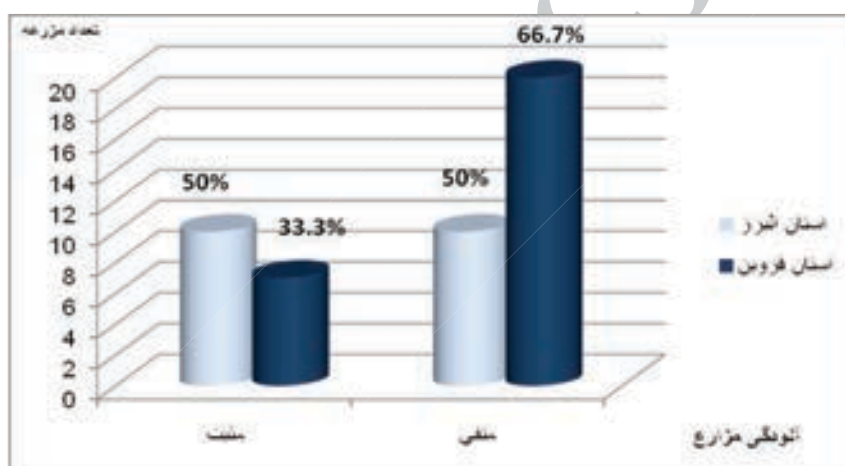
آنالیز داده‌ها: از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۶) برای آنالیز

شده نیز، ۲۰۱ نمونه سرمی (۱۴/۱۹٪) مثبت، ۶ نمونه (۰/۵۷٪) مشکوک و ۸۴۳ نمونه (۲۸/۸۰٪) منفی بود (جدول شماره ۱ و ۲). آنالیز آماری نشان داد که در بین متغیرهای کیفی تنها متغیر معنادار، سویه بود. بطوری که میزان ابتلا به MS در سویه LSL بطور معناداری از سویه هایلاین بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). در بقیه متغیرهای کیفی (مانند مصرف یا عدم مصرف آنتی بیوتیک، تک سنی یا چند سنی بودن مزرعه و منطقه جغرافیایی) این ارتباط غیرمعنی دار بود ( $P > 0.05$ ). در بین متغیرهای کمی تعداد سالن و ظرفیت سالن معنادار بود ( $P > 0.05$ ) بدین معنی که هر چه متوسط تعداد سالن‌ها بیشتر بود یا ظرفیت یک فارم بالاتر بود، میزان ابتلای به MS افزایش یافت ( $P > 0.05$ ).

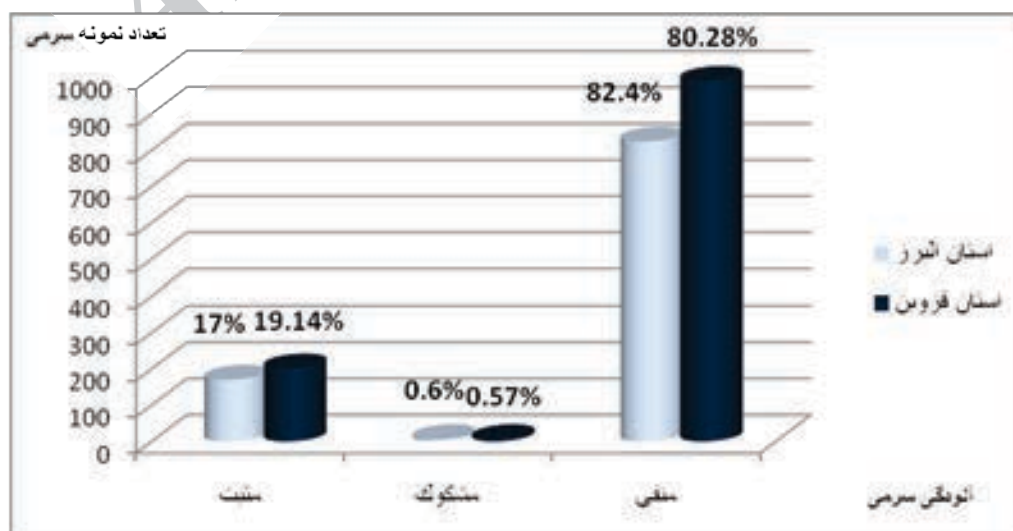
داده‌ها استفاده شد. برای متغیرهای کیفی از آزمون مربع کای و برای متغیرهای کمی از آزمون t-student استفاده گردید. سطح معناداری برابر ۰/۰۵٪ در نظر گرفته شد.

#### نتایج

نتایج نشان داد که از نظر آلودگی سرمی به MS، در استان البرز ۱۰ از ۲۰ مزرعه (۵۰٪) مثبت و ۱۰ مزرعه (۵۰٪) نیز منفی بودند. از مجموع هزار سرم مورد مطالعه این استان، ۱۷۰ نمونه (۱۷٪) مثبت، ۶ نمونه (۰/۶٪) مشکوک و ۸۲۴ نمونه (۸۲/۴٪) منفی بود. در استان قزوین ۷ از ۲۱ مزرعه (۳۳/۳٪) مثبت و ۱۴ از ۲۱ مزرعه (۶۶/۷٪) منفی بودند. از ۱۰۵۰ نمونه سرم اخذ



نمودار شماره ۱: میزان آلودگی مزارع تخمگذار تجاری مورد مطالعه در استانهای البرز و قزوین به مایکوپلازما سینویه



نمودار شماره ۲: میزان آلودگی سرمی مزارع تخمگذار تجاری مورد مطالعه در استانهای البرز و قزوین به مایکوپلازما سینویه

بحث

از آنجا که سیاست اصولی در پیشگیری و کنترل عفونت MS حذف گله‌های آلوده می باشد تشخیص دقیق و سریع آلودگی با MS در پاکسازی صنعت طیور کشور از این آلودگی مسئله‌ای مهم می باشد. تست های سرولوژیکی برای شناسایی آنتی بادی علیه MG هر کدام مزایا و معایب خاص خود را دارند با اینحال سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE) سه تست آگلوتیناسیون سرم روی صفحه، ممانعت از هم‌آگلوتیناسیون و الیزا را برای بررسی آنتی بادی علیه MG در سرم ماکیان پیشنهاد داده است (۶). در این مطالعه از SPA استفاده شد که نسبت به دو تست دیگر حساسیت بالاتر و ویژگی پایین تری دارد و لذا موارد مثبت کاذب در این آزمایش در مقایسه با تست های HI و الیزا بیشتر است. این مطلب در تجربیات لین و کلیون نیز آورده شده است (۸). باکستون معتقد است که تست SPA اگرچه دارای واکنش های مثبت کاذب است ولی به علت قابلیت انجام سریع و آسان و ارزان به عنوان یک آزمایش اولیه جهت ردیابی مایکوپلازما ها در طیور مطلوب می باشد و استفاده از آنرا توصیه کرده است (۴). این تست سریع، کم هزینه و بسیار حساس می باشد. ممکن است در خلال ۷ تا ۱۰ روز پس از عفونت، آنتی بادی را شناسایی کند و در مواقعی بکار می رود که هدف تعیین تقریبی میزان آلودگی و یا شناسایی گله‌های آلوده می باشد (۱۷، ۱۳). در مطالعه مقایسه ای که توسط عثمان روی ۲۷۹ نمونه انجام شد، نتیجه گرفت که در روش کشت ۱۹/۷% مثبت، در روش PCR ۴۷/۵% مثبت، در روش SPA ۵۴/۸% مثبت و در روش الیزا ۴۱/۹% مثبت بود که نشان دهنده بالا بودن مثبت کاذب آزمایش SPA بوده و باید با روش های مولکولی تأیید گردد (۱۱).

در این مطالعه آلودگی سرمی مایکوپلازما سینوویه در ۴۱ مزرعه تخمگذار به روش RSA در دو استان مهم در صنعت پرورش طیور (البرز و قزوین) از دیماه ۸۸ تا خرداد ماه ۸۹ صورت پذیرفت و نتایج نشان داد که بطور کلی در دو

استان، ۱۷ مزرعه از ۴۱ (۴۱/۵%) مزرعه مثبت و ۲۴ مزرعه از ۴۱ مزرعه (۵۸/۵%) منفی بودند. از ۲۰۵۰ نمونه سرم نیز ۳۷۱ نمونه (۱۸/۱%) مثبت، ۱۲ نمونه (۰/۶%) مشکوک و ۱۶۶۷ نمونه (۸۱/۳%) منفی بودند. این نتایج در هر استان به تفکیک تقریباً مشابه بود بطوری که در استان البرز ۵۰% مزارع و ۱۷% سرم ها مثبت بود و در استان قزوین ۳۳% مزارع و ۱۹/۴% نمونه ها مثبت بود. در گله های تخمگذار چند سنی آنتی بادی علیه عفونت های مایکوپلازمایی تا مدت ها می تواند دوام داشته باشد و مایکوپلازما سینوویه از سرعت انتشار بالایی نیز برخوردار است، با اینحال چون شیوع بیماری در سن بالا و فصول سرد بیشتر اعلام شده است در مطالعه حاضر سن نمونه گیری ۴۰ هفته به بالا و فصل نمونه گیری زمستان و بهار در نظر گرفته شد (۷)، (۹). بوتوس و همکاران شیوع سرمی MS و MG به روش الیزا را در گله‌های طیور کشور رومانی ۸۰% اعلام کردند و نشان دادند که در گله‌های بالای ۳۶ هفته MS نسبت به MG شیوع بیشتری داشته است (۲). فبروی و همکاران شیوع سرمی MS چندین گله تخمگذار را در هلند در طول مدت ۱۲ ماه از سال ۲۰۰۵ الی ۲۰۰۶ به روش RSA، ۷۳% اعلام کردند (۵). محامد و همکاران در سال ۱۹۸۵، شیوع سرمی MS را در کالیفرنیا مرکزی ۳۲% و جنوبی ۹۱% گزارش کردند (۱۰). در پرو در سال ۲۰۰۹، شیوع سرمی MS ۵۰% تخمین زده شد که با استفاده از آزمایش ELISA این میزان به ۵۳% افزایش یافت (۱۵). بیوم و همکاران در سال ۲۰۰۹ و با استفاده از PCR شیوع MS را بر روی ۱۰۴۶ سواب نایی، ۶۰/۶% اعلام کردند (۳). بطور کلی آگلوتیناسیون روی صفحه خود بعنوان یک آزمون غربالگر (Screen test) مطرح است و در معرض واکنش های مثبت کاذب قرار دارد این تست در مقایسه با آزمون الیزا حساسیت بالاتر و ویژگی پائین تری دارد (۱۶، ۱۴، ۱۲، ۴). واکنش مثبت کاذب در مایکوپلازما گالی سپتیکم متداول تر از مایکوپلازما سینوویه است. واکنش های مثبت کاذب مربوط به اجزای

با اینحال برای انجام آزمایش بهتر است ملاحظات خاصی صورت گیرد مانند: آزمایش در محیط تمیز بدور از نور مستقیم خورشید و گرد غبار باشد. درجه حرارت محیط آزمایش ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد و سرم های مورد آزمایش نیز تازه باشد زیرا سرم های منجمدی که ذوب شده یا دمای بالای محیط، احتمال بروز واکنش های مثبت کاذب را افزایش می دهند. کنترل منفی نیز در هر پلیت لحاظ شود. از عوامل شیوع MS ضعف مدیریت و امنیت زیستی می باشند. همچنین نگهداری طولانی مدت گله مادر و جایگزینی گله توسط جوجه های همان مادر می تواند از علل دیگر شیوع MS باشد. تراکم زیاد گله و نزدیکی فارم ها موجب چرخش زیاد پاتوژن در بین مرغان یک گله و گله های مختلف می شود که منجر به شیوع بیشتر MS در منطقه می شود. تهویه ضعیف، عفونت بستر، عدم محدودیت در ورود و خروج کارگرها و بازدیدکنندگان در شیوع عفونت MS مؤثرند. در مطالعه حاضر، آنالیز آماری نشان داد که در بین متغیرهای کیفی تنها متغیر سویه معنادار بود ( $P < 0.05$ ) بطوری که میزان ابتلا به مایکوپلازما در سویه LSL بطور معناداری از سویه های پایین تر بود. در بقیه متغیرهای کیفی مانند مصرف یا عدم مصرف آنتی بیوتیک، تک سنی یا چند سنی بودن مزارع، منطقه جغرافیایی این ارتباط غیرمعنی دار بود ( $P < 0.05$ ). در بین متغیرهای کمی تعداد سالن و ظرفیت سالن معنادار بود ( $P < 0.05$ ) بدین معنی که هر چه متوسط تعداد سالن ها بیشتر بود یا ظرفیت یک مزرعه بالاتر بود، میزان ابتلا به MS افزایش یافت. شیوع سرمی MS در مطالعه حاضر بالا بود. بی تردید رعایت اصول امنیت زیستی در کنترل این بیماری در مزارع طیور بسیار حائز اهمیت است با اینحال ضرورت استفاده از واکسن زنده MS در مزارع تخمگذار تجاری با توجه به اطلاعات بدست آمده، نیاز به بررسی بیشتری دارد. بر این اساس مطالعات تکمیلی با روش های ملکولی در سطح مزارع تخمگذار تجاری پیشنهاد می شود.

تشکیل دهنده محیط و اصولاً سرم می باشند که به سطح مایکوپلازماهای مورد استفاده برای تهیه آنتی ژن می چسبند، با این حال اغلب ممکن است علت این واکنش های کاذب نامشخص باشد. از عوامل مؤثر در ایجاد واکنش مثبت کاذب می توان این موارد را نام برد: (۱) استفاده از واکسن های غیرفعال یا واکسن های ویروسی که از کشت های سلولی غنی شده با سرم پستانداران بدست آمده اند که بدین علت نمونه ها نمی بایستی بعد از واکسیناسیون اخذ گردند. این واکنش های ممکن است ۴ الی ۸ هفته بعد از واکسیناسیون تداوم داشته باشد. (۲) آلودگی در سرم که باعث کدورت سرم شود. (۳) نمونه های سرمی منجمد شده که قبل از استفاده، سرم ها بایستی ذوب شود. (۴) واکنش متقاطع بین آنتی بادی مایکوپلازما سینوویه با آنتی ژن مایکوپلازمای گالی سپتیکوم، گالوپا و ونیس یا آلودگی با اریزوپیلوتریکس رزیوپاتیایا، استرپتوکوکوس فکالیس و استافیلوکوکوس اورئوس و عوامل آنتی گلوبولین و (۵) واکنش های مثبت کاذب در مرغ هایی که دارای فاکتور روماتوئید آرتریت هستند بیشتر است (۱،۷،۹). معمولترین راهکار کاهش واکنش های مثبت کاذب، حرارت دهی سرم به میزان ۵۶ درجه سانتیگراد برای ۳۰ دقیقه و یا تهیه رقت های سرم مانند ۱/۸ می باشد. در اینحال اگر سرم رقیق شده نیز آگلوتینه شود، نتیجه مثبت و در غیر اینصورت مشکوک خواهد بود و بایستی با دیگر آزمایشات تایید گردد. استفاده از رقت های مختلف سرم در آزمایش آگلوتیناسیون سرم روی صفحه، عملکرد خوبی به همراه دارد اما باید بخاطر داشت پرنده گانی که در این آزمایش بطور ضعیف ولی اختصاصی واکنش می دهند ممکن است هنگام آزمایش بر روی رقت های مختلف سرم منفی باشند و پرنده گانی که واکنش های مثبت کاذب قوی دارند ممکن است در رقت های ۱/۸ به بالا نیز واکنش نشان دهند. بنابراین حتی در بهترین شرایط نیز نباید این آزمایش را به عنوان تعیین آلودگی یک پرنده دانست بلکه آن را به عنوان مشخص کننده وضعیت آلودگی گله در نظر داشت (۹).

## References

1. Bradbury, J.M., Morrow, C., Avian mycoplasmosis. In: Pattison, m., McMullin, P.F., Bardbury, J.M., Alexander, D.J. (2008) Poultry Disease, 6<sup>th</sup> ed., Bailliere Tindal, London, 220-234
2. Botus, D., Popa, V., Stratulat, G.H., Catana, N. (2008) Epidemiological aspects of avian mycoplasmosis during 2007, *Lucrari Scientific Veterinary Medicine*, 536-543
3. Buim, M.R., Mettifofo, E., Timenetsky, J., Kleven, S., Ferreira, A.J.P. (2009) Epidemiological survey on *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* by multiplex PCR in commercial poultry, *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 29(7) 552-556
4. Buxton, A., Fraser, G. (1977) *Mycoplasma*, *Acoloplasma* and L-form of bacteria, *Animal Microbiology*, 267-282 :9
5. Feberwee, A., Vriessa, T.S., Landmana, W.J.M. (2008) Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae* in Dutch commercial poultry farm, *Avian Pathology*, 37(6) 629-633
6. Kleven, S.H., Bradbury, J.M. (2008) Avian mycoplasmosis (*M. gallisepticum*, *M. synoviae*). OIE Standards Commission eds. OIE manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). Office International des Epizooties, Paris, 482-496.
7. Kleven, S.H. *Mycoplasma synoviae* infection, In: Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., Dougald, M.C., Swayne D.E. (2003) *Disease of Poultry*, 11<sup>th</sup> ed., Iowa state press, USA, 759-766
8. Lin, M.Y., Kleven, S.H. (1984) Evaluation of the micro agglutination test in the diagnosis of MG infection in chickens, *Avian Diseases*, 28:286-294.
9. Kleven, S.H., Mycoplasmosis. In: Swayne, D.E., Glisson, J.R., Jackwood, M.W., Pearson, J.E., Read, W.M. (1998) *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*, 4<sup>th</sup> ed., American Association for Avian Pathologists, USA, 74-80
10. Mohammed, H.O., Carpenter, T.E., Yamamoto R., McMartin D.A. (1983) Prevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* in Commercial Layers in Southern and Central California, *Avian Disease*, 30(3) 519-526
11. Osman, K.M., Aly, M.M., Amin, Z.M.S. (2009) *Mycoplasma gallisepticum*: an emerging challenging to the poultry industry in Egypt. *Rev. Sci. Tech. Int. Epiz*, 28(3) 1015-1023
12. Roberts, D.H. (1970) Nonspecific agglutination reactions with *Mycoplasma gallisepticum* antigens. *Veterinary Record*, 87:125-126
13. Salami, J.O., Umoh, J.U., Adegboye, D.S. (1992) Chicken Mycoplasmosis, a review with special reference to *Mycoplasmosis gallisepticum* and *M. Synoviae*. *Veterinary Bulletin*, 62511-520 (6)
14. Stipkovits, L., Kempf, I. (1996) Animal mycoplasmosis and control: control of avian mycoplasmosis by vaccination, *Rev. Science Technology*, 15:1527-1553
15. Suzuki, K., Origlia, J., Alvarez, F., Faccioli, M., Silva, M., Caballero, J., Nunrez, L., Castro, L. (2009) Relative Risk Estimation for *Mycoplasma synoviae* in Backyard Chickens in Paraguay, *International Journal of Poultry Science*, 8(9) 842-847
16. Talkington, F.D., Kleven, SH., Brown, J. (1985) An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detection of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* in experimentally infected chickens, *Avian Disease*,

29 (1) 53-70.

17. Yoder, H.W.Jr., Hofstad, M.S. (1964)

Characterization of avian mycoplasma, Avian

Disease, 8:481-513.

Archive of SID