

## Associação entre *Mycoplasma* spp. e ácaros do conduto auditivo de bovinos<sup>1</sup>

Sandra B. dos Santos<sup>2\*</sup>, Elmiro R. do Nascimento<sup>3</sup>, João Luiz H. Faccini<sup>4</sup>,  
Maria Lúcia Barreto<sup>5</sup> e Rinaldo A. Mota<sup>2</sup>

**ABSTRACT.**- Santos S.B., Nascimento E.R., Faccini J.L.H., Barreto M.L. & Mota R.A. 2012. [Mycoplasmas species associated with the ear mites in cattle.] Associação entre *Mycoplasma* spp. e ácaros do conduto auditivo de bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32(4):293-296. Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Recife, PE 52171-900, Brazil. E-mail: [sanbsantos@gmail.com](mailto:sanbsantos@gmail.com)

This study was carried out to assess the association between of mycoplasmas species with ear mites *Raillietia auris* and *R. flechtmani* in the external ear canal of 60 bovines at slaughter time from the State of Rio de Janeiro, Brazil. Steril syringes (60ml) loaded with buffer solution (PBS, pH 7.2) were used for the ear canal flushing. Were processed 218 mites for mycoplasma isolation. A pool of mites from each sampled bovine was washed five times sucessively in 1mL of liquid modified Hayflick's medium. The washed mites obtained were diluted up to 10<sup>-1</sup> at 10<sup>-5</sup>, inoculated in liquid and solid Hayflick's media and incubated at 37°C for 2-3 days, being the plates put into jar for the obtention of microaerofilia condition. The Typical colonies were typified by the indirect imunoperoxidase test (IPI) with paper discs saturated with hyperimmune rabbit sera. In the studied bovine high prevalence was verified *Raillietia* spp. 76.7% (46/60). The parasitism by mycoplasmas and mites was verified in 40 animals (74.1%), this association was significant (p<0.001). Among the mites processed for isolation mycoplasmas 193 were female and 25 males. The frequency of *Mycoplasma* in *Raillietia* spp. was of 81.2% (177/218) (p<0.001). Of the females identified 52.3% (101/193) were *R. auris* and 47.7% (92/193) were *R. flechtmani*. The frequency of *Mycoplasma* in the females of *R. auris* was of 75.2% (76/101) and 88% (81/92) in *R. flechtmani* (P<0.05). The mycoplasmas species typified by IPI in the *Raillietia auris* mites were *M. alkalescens* 6.9%, *M. arginini* 3.4%, *M. bovirhinis* 9.2%, *M. conjunctivae* 18.4%, *M. mycoides mycoides* LC 8.0%, *M. capricolum* 5.7%. In the *R. flechtmani* mites mycoplasmas species typified were *M. alkalescens* 12.2%, *M. arginini* 1.0%, *M. bovirhinis* 18.9%, *M. bovis* 2.2%, *M. conjunctivae* 21.0%, *M. mycoides mycoides* LC 11.0% e *M. capricolum* 4.4%. The species of identified mycoplasmas in the external ear canal bovine and mites were exactly the same. The results confirm that the external ear canal cattle's ear canal is also a mycoplasmas source, including potentially pathogenic species for cattle, and these mollicutes are closely related with mites *Raillietia* spp. that is carrier and this agent in your organism.

INDEX TERMS: Mycoplasmas, ear mites, Gamasida, bovine, external ear canal, mycoplasmosis, transmission.

<sup>1</sup> Recebido em 2 de setembro de 2011.

Aceito para publicação em 22 de novembro de 2011.

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Campus Dois Irmãos, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Recife, PE 52171-900, Brasil. \*Autor para correspondência: [sanbsantos@gmail.com](mailto:sanbsantos@gmail.com)

<sup>3</sup> Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, Faculda-

de de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brasil 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24020-150, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. Bolsista do CNPq.

<sup>5</sup> Núcleo de Animais de Laboratório, Departamento de Imunobiologia, UFF, Outeiro São João Batista s/n, Centro, Niterói, RJ 24210-130.

**RESUMO.**- Esse estudo foi realizado com o objetivo de verificar a associação entre micoplasmas e ácaros (*Raillietia auris* e *R. flechtmani*) no conduto auditivo de bovinos. Foram realizadas lavagens no conduto auditivo externo de 60 bovinos abatidos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Para a lavagem dos condutos auditivos foi utilizada solução salina tamponada (PBS, pH 7.2) em seringas estéreis de 60mL. Para o isolamento de micoplasmas foram utilizados pools de ácaros por animal, lavados sucessivamente em 1mL de meio Hayflick modificado. Os lavados dos ácaros foram diluídos de  $10^{-1}$  até  $10^{-5}$  e repicados em meio Hayflick modificado, sólido e líquido e incubados a 37°C por 48-72 horas em microaerofilia. A identificação das espécies de micoplasmas foi realizada pelo teste da imunoperoxidase indireta (IPI). Verificou-se alta prevalência de ácaros do gênero *Raillietia* spp. 76,7% (46/60). O parasitismo por ácaros e micoplasmas foi verificado em 40 animais (74,1%), sendo esta associação significativa ( $p < 0,001$ ). Dos ácaros processados para isolamento de micoplasmas, 193 foram fêmeas e 25 machos. A frequência de *Mycoplasma* em *Raillietia* spp. foi de 81,2% (177/218) ( $p < 0,001$ ). Das fêmeas identificadas, 52,3% (101/193) foram *R. auris* e 47,7% (92/193) *R. flechtmani*. A frequência de *Mycoplasma* nas fêmeas de *R. auris* foi de 75,2% (76/101) e na espécie *R. flechtmani* foi de 88% (81/92) ( $P < 0,05$ ). As espécies de micoplasmas tipificadas pela IPI nos ácaros *Raillietia auris* foram: *M. alkalescens* 6,9%, *M. arginini* 3,4%, *M. bovirhinis* 9,2%, *M. conjunctivae* 18,4%, *M. mycoides mycoides* LC 8,0%, *M. capricolum* 5,7%. Em *R. flechtmani* as espécies de micoplasmas identificadas foram: *M. alkalescens* 12,2%, *M. arginini* 1,0%, *M. bovirhinis* 18,9%, *M. bovis* 2,2%, *M. conjunctivae* 21,0%, *M. mycoides mycoides* LC 11,0% e *M. capricolum* 4,4%. As espécies de micoplasmas identificadas no conduto auditivo externo dos bovinos foram as mesmas presentes nos ácaros *R. auris* e *R. flechtmani*. Os resultados confirmam que o conduto auditivo externo de bovinos é um habitat de *Mycoplasma* spp., incluindo espécies potencialmente patogênicas para os rebanhos, além dos ácaros *R. auris* e *R. flechtmani* estarem associados com esses mollicutes carregando-os em seu organismo.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Micoplasmas, ácaros, Gamasida, bovinos, conduto auditivo externo, transmissão, micoplasmoses.

## INTRODUÇÃO

Micoplasmas são os menores procariotos conhecidos e estão agrupados na Classe Mollicutes. Caracterizam-se pela ausência de parede celular e pela sua estreita relação com bactérias Gram negativas (Whitford et al. 1994). São microrganismos que podem ser encontrados na natureza como endossimbiontes, comensais e saprófitas de humanos, animais, insetos e plantas (Nienhaus & Sikora 1979, Whitcomb & Davis 1970, Whitcomb & Bové 1983, Rosenbusch 1994). A estreita associação entre mollicutes e insetos é remota, tendo sido relatada por Nocard & Roux (1898). Sabe-se que várias espécies de *Mycoplasma* spp. são encontradas como parasitas de vertebrados; onde colonizam diferentes tecidos dos seus hospedeiros, a exemplo do trato respiratório, urogenital, conduto auditivo, mucosa ocular,

glândula mamária, articulações, placenta, além de cultivos celulares de diferentes linhagens (Thomas et al. 1987, Adeboye et al. 1995).

A microbiota do conduto auditivo de ruminantes é composta por uma ampla diversidade de microrganismos como bactérias e fungos. Alguns ocorrem como saprófitas ou comensais (Barber et al. 1986, Yates et al. 1983, Woldehiwet et al., 1990, Duarte & Hamdan 2004), enquanto outros são potencialmente patogênicos e determinam problemas de otites e outras doenças. Além de microrganismos é comum a presença de ácaros, nematóides e larvas de dípteros, considerados agentes primários de otites (Duarte & Hamdan 2004).

Micoplasmas estão entre as bactérias que fazem parte da microbiota do conduto auditivo dos ruminantes e a relação desses mollicutes com ácaros das famílias Psoroptidae e Raillietidae tem sido relatada por alguns autores, no entanto, as interrelações parasito-hospedeiros ainda são pouco esclarecedoras, sabendo-se que os ácaros das espécies *Psoroptes ovis* e *Raillietia caprae* são potencialmente carreadores e disseminadores de micoplasmas presentes no conduto auditivo entre rebanhos caprinos (Cottew & Yeats 1981, 1982, Damassa 1990, Ribeiro et al. 1995, Mercier et al. 1997, Gil et al. 1999, Otero 2009).

Espécies patogênicas de micoplasmas têm sido relatadas em caprinos e bovinos (Cottew & Yeats 1981, 1982, Damassa 1990, Nascimento et al. 1998, Gil et al. 1999, Pretto et al. 2001, Francoz et al. 2004, Nascimento et al. 2005) e estão associadas a surtos de doenças nos animais, especialmente casos de otites, mastites e problemas reprodutivos. No Brasil, a associação entre micoplasmas e ácaros de conduto auditivo foi estudada durante um levantamento em caprinos (Ribeiro et al. 1995) e em surto de agalaxia contagiosa onde os animais apresentavam intenso parasitismo por ácaros *P. ovis* (Azevedo et al. 2006). Em rebanhos bovinos, estudos sobre essa problemática são escassos, mas sabe-se que micoplasmas são comumente isolados no conduto auditivo desses animais (Gil et al. 1999, Francoz et al. 2004, Santos et al. 2009).

O presente estudo teve como objetivo verificar a associação entre a presença de *Mycoplasma* spp. no conduto auditivo de bovinos com as duas espécies de *Raillietia* que parasitam bovinos no Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Colheita e processamento dos ácaros para isolamento de *Mycoplasma*

Foram realizadas lavagens no conduto auditivo externo de 60 bovinos de abate com idades e raças variadas e de ambos os sexos, procedentes de municípios da região sudeste do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. A lavagem do conduto auditivo foi realizada com uma solução salina tamponada (PBS, pH 7.2) em seringas estéreis de 60mL com uma sonda acoplada. As amostras coletadas foram transportadas em caixa isotérmica com gelo, sendo posteriormente armazenadas em glicerol (1:2) e congeladas a -20°C até o uso.

Os ácaros obtidos nas lavagens foram contados e sexados para posterior identificação. Uma amostra de ácaro por animal foi lavado sucessivamente cinco vezes em 1mL de meio Hayflick modificado (Whitford et al. 1994), utilizando-se para isto um vórtex (Phoenix At 56) segundo técnica descrita por Cottew & Yeats

(1982). As últimas lavagens (5ª ou 7ª) foram semeadas em meio líquido e sólido para quantificar as UFC/mL, antes e após a maceração dos ácaros. Em seguida a parte opistossomal de cada fêmea de *Raillietia* foi seccionada individualmente e processada para isolamento de micoplasma. Enquanto a porção podossomal de cada ácaro foi armazenada em álcool etílico a 70% e posteriormente processada individualmente em solução de Hoyer para identificação das espécies *Raillietia auris* e *R. flechtmani*.

Os macerados dos ácaros foram diluídos de  $10^{-1}$  até  $10^{-5}$  e também repicados em meio Hayflick modificado. Todas as amostras foram semeadas em meio Hayflick modificado e incubadas a 37°C por 72-96 horas e as placas foram mantidas em dessecador em microaerofilia, sendo examinadas diariamente para visualização de colônias típicas em forma de "ovo-frito" em microscópio estereoscópio (40-100x). A confirmação do isolamento de *Mycoplasma* spp. baseou-se nas provas de Dienes e digitonina (Whitford et al. 1994).

### Tipificação das espécies de micoplasmas

A tipificação das amostras foi realizada pelo teste de Imunoperoxidase Indireta (IPI) de acordo com técnica padronizada na literatura (Imada et al. 1987). Foram utilizados antissoros específicos para cada espécie de micoplasma, a saber: *M. arginini*, *M. agalactiae*, *M. bovis*, *M. conjunctivae*, *M. mycoides mycoides*-Y goat, *M. bovirhinis*, *M. alkalescens*, *M. capricolum*, *M. verecundum* e *M. gallisepticum*. Amostras padrão ATCC (American type culture collection) de caprinos e bovinos foram submetidas às mesmas técnicas de cultivo e tipificação, sendo utilizadas como controle positivo nas reações de imunoperoxidase indireta.

Para análise das associações entre micoplasmas e ácaros foi utilizado o teste do qui-quadrado (Sampaio 2002).

## RESULTADOS

Verificou-se uma alta frequência de ácaros do gênero *Raillietia* spp. 76,7% (46/60) nas amostras estudadas. O parasitismo por ácaros associados à micoplasmas foi verificado em 74,1% (40/54) dos animais, sendo significativamente ( $p < 0,001$ ) maior que as ocorrências isoladas de *Raillietia* spp. e *Mycoplasma* spp. de 11,1 e 14,8%, respectivamente (Quadro 1).

### Quadro 1. Ocorrência de ácaros *Raillietia* spp. e *Mycoplasma* spp. no conduto auditivo de bovinos no estado do Rio de Janeiro

Parasitas do conduto auditivo	Lavados de ouvido de bovinos		
	Positivos	Negativos	Total
<i>Raillietia</i> + <i>Mycoplasma</i>	40 (74,1)	14 (12,9)	54
<i>Raillietia</i> spp.	6 (11,1)	48 (44,4)	54
<i>Mycoplasma</i> spp.	8 (14,8)	46 (42,6)	54
Total	54	108	162

\* $\chi^2 = p < 0,001$ . \* Na análise estatística considerou-se um  $n=54$  (presença de um ou dos dois agentes testados).

Dos ácaros processados para isolamento de micoplasmas, 193 foram fêmeas e 25 machos. A frequência de *Mycoplasma* em *Raillietia* spp. foi de 81,2% (177/218) ( $p < 0,001$ ) (Quadro 2). Das fêmeas identificadas, 52,3% (101/193) foram *R. auris* e 47,7% (92/193) *R. flechtmani*. A frequência de *Mycoplasma* nas fêmeas de *R. auris* foi de 75,2% (76/101) e em *R. flechtmani* foi de 88% (81/92) ( $P < 0,05$ ) (Quadro 3).

As espécies de micoplasmas tipificadas pela IPI nos ácaros *Raillietia auris* foram: *Mycoplasma alkalescens* (6,9%),

### Quadro 2. Frequência de *Mycoplasma* em macerados de ácaros *Raillietia* spp. em conduto auditivo externo de bovinos no estado do Rio de Janeiro

Macerado do ácaro	Isolamento <i>Mycoplasma</i> spp.
Positivo	177 (81,2%)
Negativo	41 (18,8%)
Total	218 (100%)

\* $\chi^2 = p < 0,001$ . \* Considerando teste de aderência e proporção (1:1).

### Quadro 3. Frequência de *Mycoplasma* spp. em fêmeas de *Raillietia auris* e *R. flechtmani* parasitos de conduto auditivo de bovinos no estado do Rio de Janeiro

Espécies de ácaros	<i>Mycoplasma</i> spp.		
	Positivo	Negativos	Total
<i>R. auris</i>	76 (75,2)	25(24,8)	101(52,3)
<i>R. flechtmani</i>	81 (88,0)	11(11,9)	92 (47,7)
Total	157(81,3)	36(18,7)	193

$\chi^2 = p < 0,05$ .

*M. arginini* (3,4%), *M. bovirhinis* (9,2%), *M. conjunctivae* (18,4%), *M. mycoides mycoides* LC (8,0%), *M. capricolum* (5,7%). Em *R. flechtmani* as espécies de micoplasmas identificadas foram: *M. alkalescens* (12,2%), *M. arginini* (1,0%), *M. bovirhinis* (18,9%), *M. bovis* (2,2%), *M. conjunctivae* (21,0%), *M. mycoides mycoides* LC (11,0%) e *M. capricolum* 4,4% (Quadro 4). As espécies de micoplasmas identificadas no conduto auditivo externo dos bovinos foram as mesmas presentes nas espécies *R. auris* e *R. flechtmani*.

### Quadro 4. Espécies de *Mycoplasma* isoladas de ácaros *Raillietia auris* e *R. flechtmani*

Espécie de <i>Mycoplasma</i>	Espécie de ácaro			
	<i>R. auris</i>		<i>R. flechtmani</i>	
	(N°)	(%)	(N°)	(%)
<i>M. alkalescens</i>	6	6,9	11	12,2
<i>M. arginini</i>	3	3,4	1	1,0
<i>M. bovirhinis</i>	8	9,2	17	18,9
<i>M. bovis</i>	0	0	2	2,2
<i>M. conjunctivae</i>	16	18,4	19	21,0
<i>M. capricolum</i>	5	5,7	4	4,4
<i>M. mycoides mycoides</i> (Y-goat)	7	8,0	10	11,0

## DISCUSSÃO

A frequência elevada de *Raillietia* spp. no conduto auditivo de bovinos está de acordo com os resultados obtidos por Faccini et al. (1992) que atribuem uma ampla distribuição geográfica das espécies desse gênero em várias regiões do País.

A presença das espécies de micoplasmas em *R. auris* e *R. flechtmani* é semelhante aos achados em rebanhos caprinos (Cottew & Yeats 1981, 1982, Damassa 1990, Ribeiro et al. 1995, Barbosa et al. 2000). Indicam ainda que estes ácaros podem atuar como disseminadores de micoplasmas nos rebanhos bovinos no Brasil. Apesar de os bovinos estudados não apresentarem sinais clínicos de micoplasmoses, as espécies de micoplasmas identificadas nos ácaros (*R. auris* e *R. flechtmani*) são consideradas patogênicas, tendo sido identificadas, cepas do Grupo *Mycoides mycoides*, além de espécies não incluídas neste grupo como *M. conjunctivae*, *M. bovis*, *M. bovirhinis*, *M. arginini* e *M. alkalescens*, mas

que em outras ocasiões já foram implicadas em surtos de micoplasmoses tanto em caprinos quanto em bovinos (Gil et al. 1999, Pretto et al. 2001, Francoz et al. 2004, Nascimento et al. 2005, Azevedo et al. 2006, Otero 2009, Santos et al. 2009).

A diversidade de espécies de micoplasmas identificadas nos ácaros *R. auris* e *R. flechtmanni* demonstra que o conduto auditivo de bovinos é um sítio preferencial desses mollicutes, uma vez que oferece condições nutricionais (esteróis) e temperatura favoráveis (Yates et al. 1983, Barber et al. 1986, Woldehiwet et al. 1990) para manutenção e disseminação de *Mycoplasma spp.* A importância epidemiológica de micoplasmas no interior de ácaros *R. auris* e *R. flechtmanni* necessita de estudos adicionais sobre a possibilidade de transmissão transovariana desses mollicutes, o que esclareceria aspectos da cadeia de transmissão das micoplasmoses no Brasil.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo confirmam que o conduto auditivo externo de bovinos é uma fonte de micoplasmas para os animais, incluindo espécies potencialmente patogênicas para os rebanhos e que os ácaros *Raillietia auris* e *R. flechtmanni* estão estreitamente associados com esses mollicutes carregando-os em seu organismo.

**Agradecimentos.**- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Adegboye D.S., Halbur P.G., Cavanaugh D.L., Werdin R.E., Chase C.C.L., Miskimins D.W. & Rosenbusch R.F. 1995. Immunohistochemical and pathological study of *Mycoplasma bovis*-associated lung abscesses in calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:333-337.
- Azevedo E.O., Alcântara M.D.B., Nascimento E.R., Tabosa I.V., Barreto M.L., Almeida J.F., Araújo M.D'O., Rodrigues A.R.O., Riet-Correa F. & Castro R.S. 2006. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. *Braz. J. Microbiol.* 37:576-581.
- Barber D.M., Jones G.E. & Wood A. 1986. Microbial flora of the eye of cattle. *Vet. Rec.* 118(8):204-206.
- Barbosa V.P., Nascimento E.R., Danelli M.G.M., Nascimento M.G.F., Santos M.A.J., Lignon G.B. & Ribeiro V.R. 2000. Differentiation of *Mycoplasma mycoides* types on the etiopathogeny of goat mycoplasmosis. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária.* 7(1): 33-36.
- Cottew G.S. & Yeats F.R. 1981. Occurrence of mycoplasmas in clinically normal goats. *Aust. Vet. J.* 57:52-53.
- Cottew G.S. & Yeats F.R. 1982. Mycoplasmas and mites in the ear of clinically normal goats. *Aust. Vet. J.* 59(3):77-81.
- Damassa A.J. 1990. The ear canal as a culture site for demonstration of mycoplasmas in clinically normal goats. *Aust. Vet. J.* 67:267-269.
- Duarte E.R. & Hamdan J.S. 2004. Otitis in cattle, an aetiological review. *J. Vet. Med. B* 51:1-7.
- Faccini J.L.H., Fonseca A.D., Costa A.L. & Leite R.C. 1992. Distribuição geográfica e prevalência das espécies do gênero *Raillietia* Trouessart em bovinos no Brasil. *Revta Bras. Parasitol. Vet.* 1(2):109-110.
- Francoz D., Fecteau G., Desrochers A. & Fortin M. 2004. Otitis media in dairy calves: A retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). *Can. Vet. J.* 45:661-666.
- Gil M.C., Mendoza H., Rey J., Alonso M., Poveda J.B. & Mendoza H. 1999. Isolation of *Mycoplasmas* from the external ear canal of goats affected with contagious agalactia. *Vet. Journal* 158:152-154.
- Imada Y., Uchida I. & Hashimoto K. 1987. Rapid identification of *Mycoplasma* by indirect immunoperoxidase test using small square filter paper. *J. Clin. Microbiol.* 25:17-21.
- Mercier P., Pellet M.P., Morignat E., Calavas D. & Poumarat F. 2007. Prevalence of mycoplasmas in the external ear canal of goats: Influence of the sanitary status of the herd. *Small Rumin. Res.* 73:296-299.
- Nascimento M.G.F., D'angelis F.H.F., Nascimento E.R., Resende O.A. & Lignon G.B. 1998. *Mycoplasma bovirhinis* em muco vaginal de novilhas. *Revta Bras. Med. Vet.* 20(5):210-214.
- Nascimento M.G.F., D'Angelis F.H.F., Nascimento E.R. & Resende O.A. 2005. Envolvimento de micoplasmas em vacas com distúrbios reprodutivos. *Acta Scient. Vet.* 33(2):195-199.
- Nienhaus F. & Sikora R.A. 1979. Mycoplasmas, spiroplasmas and rickettsia-like organisms as plant pathogens. *Annual Rev. Phytopathol.* 17:37-58.
- Nocard E. & Roux E. 1898. Le microbe de la péripneumoniae. *Annual Institute Pasteur* 12:240-262.
- Otero N.J., Jaramillo M.L., Miranda M.R.E., Navarro H.J.A. & Quintero M.M.T. 2009. Association of *Raillietia caprae* with the presence of mycoplasmas in the external ear canal of goats. *Prev. Vet. Med.* 92:150-153.
- Pretto L.G., Muller E.E., Freitas J.C., Mettífogo E., Buzihani M. & Yamaguti M., Salvador R. 2001. Mastite bovina por *Mycoplasma bovis* em rebanhos leiteiros. *Pesq. Vet. Bras.* 21(4):143-145.
- Ribeiro V.R., Nascimento E.R., Faccini J.L.H., Nascimento M.G.F. & Lignon G.B. 1995. Presença de micoplama em exemplares de *Raillietia caprae* coletados do conduto auditivo externo de caprinos. *Revta Bras. Med. Vet.* 17:122-124.
- Rosenbusch R.F. 1994. Biology and taxonomy of the mycoplasmas, p.3-11. In: Whitford H.W., Rosenbusch R.F. & Lauerman L.H. (Eds), *Mycoplasmosis in Animals: Laboratory diagnosis.* Iowa State University, Ames. 150p.
- Sampaio I.B.M. 2002. Estatística Aplicada a Experimentação Animal. 2ª ed. Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte. 264p.
- Santos S.B., Nascimento E.R., Faccini J.L.H., Barreto M.L. & Pereira V.L.A. 2009. Potentially pathogenic mycoplasmas in the external ear canal of clinically normal cattle in Southeast Brazil: First report. *Braz. J. Microbiol.* 40:455-457.
- Thomas L.H., Howard C.J., Parsons K.R. & Anger H.S. 1987. Growth of *Mycoplasma bovis* in organ cultures of bovine foetal trachea and comparison with *Mycoplasma dispar*. *Vet. Microbiol.* 13:189-200.
- Whitford H.W., Rosenbusch R.F. & Lauerman L.H. 1994. Mycoplasmosis in Animals: Laboratory diagnosis. Iowa State University, Ames. 150p.
- Whitcomb R.F. & Davis R.E. 1970. Mycoplasmas and phytarboviruses as plant pathogens persistently transmitted by insects. *Annual Rev. Entomol.* 15:405-464.
- Whitcomb R.F. & Bové J.M. 1983. Mycoplasma-plant-insect interrelationships, p.21-25. In: Razin S. & Tully J.G. (Eds), *Methods in Mycoplasmaology.* Vol.1. Academic Press, New York, 589p.
- Woldehiwet Z., Mamache B. & Rowan T. G. 1990. Effects of age, environmental temperature and relative humidity on the colonization of the nose and trachea of calves by *Mycoplasma spp.* *Brit. Vet. J.* 146:419-424.
- Yates W.D.G., Kingscote B.F., Brandley J.A. & Mitchell D. 1983. The relationship of serology and nasal microbiology to pulmonary lesions in feedlot cattle. *Can. J. Comp. Med.* 47:375-378.