



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
MİK-YL-2015-0006

**KANATLI KAN SERUMLARINDA *MYCOPLASMA*  
*GALLISEPTICUM* VE *MYCOPLASMA SYNOVIAE*  
ANTİKORLARININ ELISA İLE TESPİTİ**

Yüksek Lisans Tezi

Mehmet Rahmi ÖZGÜN

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ

AYDIN-2015

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**  
**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**MİK-YL-2015 -0006**

**KANATLI KAN SERUMLARINDA *MYCOPLASMA***  
***GALLISEPTICUM* VE *MYCOPLASMA SYNOVIAE***  
**ANTİKORLARININ ELISA İLE TESPİTİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Mehmet Rahmi ÖZGÜN**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ**

**AYDIN-2015**

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğrencisi M. Rahmi ÖZGÜN tarafından hazırlanan “KANATLI KAN SERUMLARINDA *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* VE *MYCOPLASMA SYNOVIAE* ANTİKORLARININ ELISA İLE TESPİTİ” başlıklı tez, 18/08/2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

**Unvanı, Adı ve Soyadı :**

**Kurumu :**

**İmzası:**

Prof. Dr. Şükrü KIRKAN

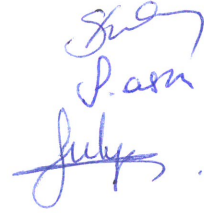
ADÜ, Veteriner Fakültesi

Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ

ADÜ, Veteriner Fakültesi

Yrd. Doç. Dr. Fulya OCAK

CBÜ, Fen Edebiyat Fakültesi



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

*Mycoplasma gallisepticum* ve *Mycoplasma synoviae* kanatlı mikoplazmasına neden olan en önemli türlerdendirler. OIE listesinde yer alan bu etkenlerin yumurtacı, broyler ve damızlık kümeslerde klinik ve ekonomik önemleri bulunmaktadır. Kanatlılarda *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'nin neden oldukları infeksiyonlarda temas yolu ile lateral bulaşabildikleri gibi yumurta yolu ile vertikal olarak da bulaşabilmektedirler. Bu nedenle infeksiyonların önüne geçmenin başlangıç noktası özellikle damızlık sürüleri bu infeksiyondan uzak tutmaktır.

Broyler ve yumurtacı işletmelerde mikoplazma izleme programının oluşturulması, bu hastalığın vermiş olduğu performans kayıplarını ve ilave tedavi masraflarını azalılmasında oldukça etkilidir. Hastalığın tedavisinde kullanılan antibiyotikler bulunmaktadır; ancak, etkenler sürüde verim düşüklüklerine neden olmaları ve tedavi masraflarını artırmaları nedeniyle önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Etken izolasyon ve identifikasyonu; uzun zaman alması, moleküler yöntemlerin de masraflı olmaları ayrıca uzman personel gerektirmesi gibi sebeplerden dolayı pratik değildir. Bu nedenle, kanatlılarda mikoplazma infeksiyonlarının teşhisinde çoğunlukla serolojik testlerden faydalanılır. Enzimle İşaretli İmmun Deneyi (ELISA) teşhiste en çok kullanılan sensitivitesi en yüksek testlerden birisidir.

Bu çalışmada, tavukçuluk sektöründe önemli bir yer işgal eden Türkiye'nin batısındaki illerde (Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın), broyler etlik civciv ve yumurtacı tavuklarda, kanatlı yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açan önemli patojenlerden olan *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* infeksiyonlarının serolojik olarak ELISA ile varlığının ve yaygınlığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: VTF 15004) desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>KABUL VE ONAY</b> .....	i
<b>ÖNSÖZ</b> .....	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	v
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1. 1. Tanım.....	1
1. 2. Tarihçe.....	2
1. 3. Etiyoloji.....	2
1. 4. Epizootiyoloji.....	4
1. 5. Semptomlar.....	5
1. 6. Teşhis.....	7
1. 7. Tedavi.....	9
1. 8. Koruma ve Kontrol.....	11
1. 9. Dünya’da ve Türkiye’de Uygulanan Kontrol Programları.....	12
1. 10. Aşılama.....	14
1. 11. Hastalığın Ekonomik Yönden Önemi.....	18
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	20
2.1. Gereç.....	20
2.1.1. Kan Örnekler.....	20
2.1.2. Örneklerin Alınması.....	21
2. 1. 3. ELISA.....	21
2. 1. 3. 1 ELISA Teçhizatı .....	21
2. 2. Yöntem.....	21
2. 2. 1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kiti ve Test Prensibi	21
2. 2. 1. 1. ELISA Kiti İçeriği.....	22
2. 2. 1. 2. Testin Yapılışı.....	22
2. 2. 1. 3. Sonuçların Değerlendirilmesi .....	25
2. 2. 2. İstatistiksel Değerlendirme.....	26

<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>27</b>
3. 1. Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın illerdeki kümeslerde <i>M. gallisepticum</i> ve <i>M. synovia</i> seropozitiflik oranları.....	27
3. 2. Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın illerdeki kümeslerde <i>M. gallisepticum</i> ve <i>M. synovia</i> seropozitiflik oranlarının birbiriyle ilişkisi.....	28
3. 3. Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın illerdeki kümeslerde <i>M. gallisepticum</i> ve <i>M. synoviae</i> ortalama antikör titreleri .....	29
<b>4. TARTIŞMA.....</b>	<b>31</b>
<b>5. SONUÇ.....</b>	<b>34</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>35</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>36</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>37</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>44</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>45</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ÇLA	Çabuk Lam Aglutinasyon
CRD	Kronik Solunum Yolu Hastalığı
PPLO	Pleuropneumonia-likeorganism
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (Enzimle işaretli immun deneyi)
OIE	World Organization of Animal Health (Uluslararası Salgın Hastalıkları Ofisi)
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
IB	İnfeksiyöz Bronşitis
ND	Newcastle Disease
IBD	İnfeksiyöz Bursal Disease
ILT	İnfeksiyöz Laryngotrecheatis
FAT	Floresan Antikor Tekniği
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
HI	Hemaglütinasyon İnhibisyon
S/P	Örneğin Optik Değerinin Pozitif Kontrolün Optik Değerine Oranı

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 2. 1.</b> İllere göre alınan örnek sayıları ve örneklere ait bilgiler .....	20
<b>Çizelge 2. 2.</b> <i>M. gallisepticum</i> için S/P oranı, titre ve antikor durumu .....	26
<b>Çizelge 2. 3.</b> <i>M. synoviae</i> için S/P oranı, titre ve antikor durumu .....	26
<b>Çizelge 3. 1.</b> Broyles kümeslerindeki <i>M. gallisepticum</i> seropozitiflik oranları.....	27
<b>Çizelge 3. 2.</b> Yumurtacı kümeslerindeki <i>M. synoviae</i> seropozitiflik oranları .....	28
<b>Çizelge 3. 3.</b> Yumurtacı ve broyles kümeslerindeki <i>M. gallisepticum</i> ve <i>M. synoviae</i> seropozitiflik oranlarının birbiriyle karşılaştırılması.....	29
<b>Çizelge 3. 4.</b> <i>M. gallisepticum</i> ve <i>M. synoviae</i> infeksiyonlarında titrelerin karşılaştırması .....	30



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. 1. <i>M. gallisepticum</i> 'da sinuzitis olgusu.....	7
Şekil 1. 2. <i>M. synoviae</i> 'da arhritis ve synovitis olgusu .....	7
Şekil 1. 3. Damızlık sürülerde mikoplazma yönünden yapılan laboratuvar muayeneleri ve değerlendirmesi.....	14
Şekil 1. 4. Broyley ve yumurtacı kümeslerin <i>M. gallisepticum</i> aşıları ile aşılanmaları, sonrasında hastalık oluşturulması ve yapılan nekropsi sonucunda oluşan hava keseleri lezyon skorlamaları .....	18
Şekil 2.1. ELISA pozitif ve negatif kontrollerinin pleytte görünümü .....	23
Şekil 2. 2. Çalışılan bir ELISA pleytinde substrat aşaması sonrası oluşan renk değişikliklerinin görünümü.....	24

# 1. GİRİŞ

## 1.1.Tanım

Solunum sistemi infeksiyonları yumurta tavuklarında ve broylerde ölüm oranı ve ıskarta sayısında artışa, yumurta randımanında düşmeye, yumurta kabuk kalitesinde bozulmaya, kuluçka randımanında düşmeye ve tedavi giderlerinde artışa sebep olmaktadır.

Tavuklarda görülen mikoplazma infeksiyonları, ekonomik kayıplar ve koruma ve kontrol önlemleri açısından en zor tedavi edilen hastalıklardan olduğundan, solunum sistemi patojenleri içerisinde önemli bir yere sahiptir (Arda ve ark. 2002). Kanatlı mikoplazması, evcil kanatlıların *M. gallisepticum* (MG) ve/veya *M. synoviae* (MS) tarafından oluşturulan bir infeksiyonudur (Sareyupoğlu 2013). *M. gallisepticum*'un önemi yıllardır bilinmekle birlikte; *M. synoviae*'nin önemi daha yeni yeni anlaşılabilmiştir. Bu yüzyılın sonlarına doğru, *M. synoviae* orijinli infeksiyonlar oviduktu etkileyerek yumurta kabuğu bozukluğu ve yumurta verimi düşüklüğü sendromu şeklinde dünya genelinde görülmeye başlanmıştır. *M. gallisepticum* varlığı damızlık ve broyler kümeslerinde eradikasyon programları sayesinde azalmaya başlarken; *M. synoviae* sero-pozitiflik oranı yumurtacı tavuklarda %70'e kadar artış göstermiştir. *M. synoviae*'nin oviduktu etkileyen ve eklem-solunum yolu hastalığına yol açan türlerinin ortaya çıkması *M. gallisepticum* türünün neden olduğu salgınları bastırması ve eradikasyon programlarında *M. synoviae*'ye daha fazla yer verilmesi gerektiğini göstermiştir (Landman 2014 ).

Doğal infeksiyonlarda kuluçka süresinin uzayabilmesi, bulaşmanın yavaş olması ve klinik semptomların geç gözlenmesi nedeniyle tarama testlerinin sık sık yapılması gerekmektedir. Etken izolasyonunun uzun sürmesi ve başarılı olma ihtimalinin düşüklüğü bu etkenin teşhisinde önemli bir dezavantaj olarak kabul edilir. Bu nedenle ki; serolojik yoklamalar hastalıktan korunmada esas alınmalıdır. Böylece erken teşhis ile primer odaklar kurutulurak, yayılımın önüne geçilebilir (Gökçelik 2008).

Subklinik infekte hayvanların olduğu kümeslerin belirlenmesi biraz daha farklı ve özen gösterilmesi gereken işlemler dizisine gereksinim gösterir. *M. gallisepticum* ile

infekte sürüleri saptamak için yapılması gereken işlemler dizisi şu şekilde özetlenebilir: Önce en ucuz ve yapılması en kolay olan ve kümeslerde bile uygulanabilen Çabuk Lam Aglutinasyon (ÇLA) testi ile sürüden kan alıp kanda antikorların varlığına bakılmalıdır. Bu test çok duyarlı ve fakat özgünlüğü düşük olduğu için pozitif tavukları yakalayabilir ancak kross reaksiyon sonucu yanlış pozitifliklere neden olabilmektedir. Bundan dolayı ÇLA pozitif olan kümesler mutlaka başka teyit testleri ile doğrulanmalıdır. Aksi takdirde; sadece, ÇLA sonucuna göre kümesin *M. gallisepticum* ile infekte olduğuna karar vermek tamamen hatalı bir yaklaşımdır. ÇLA testi ucuz ve uygulanması en kolay tarama testidir. Diğer tarama testleri Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI)'dir. Daha ileri düzeyde teyit ise etken izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yapılmaktadır (Çarlı 2008).

## 1. 2. Tarihçe

Mollicutes sınıfında yer alan mikoplazmalar ilk kez 1898 yılında sığır kontagiyöz plöropnömoni ajanı olarak tespit edilmiş, daha sonra plöropnömoni benzeri organizmalar olarak adlandırılmıştır. Kanatlı mikoplazmozisi 1926 yılında hindilerde, 1936 yılında ise tavuklarda tanımlanmıştır (Charlton ve ark. 2009). Delaplane ve Stuart (1943) 1943'te mikoplazmozisten Kronik Solunum Yolu Hastalığı (CRD) olarak bahsetmiştir. Markham ve Wong (1952) ise CRD etkenini, hindilerin infeksiyöz sinuzitisinden sorumlu patojen olarak belirtmişlerdir. Daha sonraları PPLO grubun bir üyesi olarak düşünülmüş ve *M. gallisepticum* ismi koyulmuştur (Yoder 1991). *M. synoviae*'nin yol açtığı infeksiyöz sinuzitis ise daha sonra tanımlanmıştır (Olson ve ark. 1956, Kleven ve ark. 1991).

## 1. 3. Etiyoloji

Kanatlı hayvanlarda hastalığa neden olan farklı mikoplazma etkenleri bulunmakla birlikte; bu etkenlerden *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* en önemli türler olup, OIE listesinde yer almaktadır (Anonim 1). Mikoplazmalar doğada yaygın olarak bulunur. Mikoplazma genusunda yer alan yüzden fazla mikoplazma türü insan, memeli, kanatlı, kemirgen, balık, artropod ve bitkilerde kronik infeksiyonlara neden olmaktadır (Stipkovits ve Kempf 1996). Bazı türleri tek bir hayvanı infekte ederken, bazıları da farklı birçok hayvan türünü infekte edebilmektedir. Mikoplazmalar başta insan olmak üzere birçok

hayvan türü, böcekler ve çevrede serbest halde bulunmaktadır. Etkenler, genellikle mukozal yüzeylerde kolonize olur ve çoğu tür invaziv değildir (Kleven 1997).

Mikoplazmalar hücre duvarı olmayan, sadece plazma membranı ile çevrili çok ufak prokaryotik mikroorganizmalardır. Bu durum onların sahanda yumurtaya benzer bir koloni morfolojisine sahip olmalarına neden olur ki; bu nedenle, hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotiklere dirençlidir. Sahanda yumurta tipi spesifik koloni morfolojisi önemli bir özelliktir. Mikoplazmaların hücre duvarı olmamasından dolayı dış ortamda dayanıksızdır. Etkenin eksudat ve soğuk ortamlarda yaşama süresi uzundur. Tavuk dışkısında 1-3 gün canlı kalabilir, ortam ısısı arttıkça yaşama süresi azalır. Etken; konakçı vücudunda yıllarca canlılığını sürdürebilir (Collett ve ark. 2005). Bu durum hastalıkla ilgili kontrol programlarının oluşturulmasında dikkate alınmalıdır (Jordan 1996, Arda ve ark. 2002).

Mikoplazmalar Gram negatif, hareketsiz sporsuz, hücre duvarları olmayan, kapsülsüz, mikroaerofilik koşullarda (% 5-10 CO<sub>2</sub>'li sıvı ve katı ortamlarda, 37°C'de) geç üreyen (katı besiyerlerinde 5-7 günden sonra ancak görülebilen) mikroorganizmalar olmakla birlikte; genellikle ortası düğmeli koloniler oluşturur. Mikroskop altında pleomorfik (yuvarlak, oval, yüzük, yıldız, halka, dallı, kokoid vs formlar) bir morfoloji gösterirler. Bazı suşlar kanlı agarda koloni etrafında dar bir hemoliz alanı (alfa veya beta hemoliz zonu) oluşturur. Etkenleri üretmede genellikle zenginleştirilmiş (kanlı veya at serumu agar) katı veya sıvı besi yerleri kullanılır. Besi yerlerine %10-15 at serumu, %10 maya ekstraktı ve bakteriyel kontaminasyonları önlemek için de tallium asetat 0.25 g/ml katılması izolasyon şansını artırır. Karbondioksit (%5-%10) genellikle ilk izolasyonlar için gerekli olup, izleyen pasajlarda kullanılmayabilir (Arda ve ark. 2002). Maya ekstraktı gibi katkıların besiyerine katılması üremeyi olumlu yönde etkiler. *M. synoviae*'nin üremesi için besiyerine nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) eklenmesi gerekmektedir. Kanatlı mikoplazmalarının kültüre edilmesi için sıklıkla Frey tarafından tanımlanan besiyeri kullanılmaktadır (Frey ve ark. 1968).

Karbonhidratları fermente etme özellikleri değişkendir ancak tüm türler asit üreterek glukozu fermente edenler ve etmeyenler şekilde ikiye ayrılır. Glukoz, karbonhidrat fermente eden türlerin üremesini arttırmak için sıklıkla besiyerine katılmaktadır. Fosfataz ve arjinin dekarboksilaz aktivitesi pozitifdir. Çoğu tür enerji kaynağı olarak aminoasit (arjinin) kullanmaktadır ve bu türler glukozu fermente etmez. *M.*

*gallisepticum*, *M. meleagridis* ve *M. synoviae*'nin bir özelliği, tavuk ve hindi eritrositlerini hemaglutine etmesidir. Hemaglutine edici antikorlar, bu üç patojenik tür ile ilgili hemaglutasyoninhibisyon testinde kullanılmaktadır (Kleven 1997).

*M. synovia*'nın etiyolojik özellikleri genel mikoplazma türleri ile benzerdir. DNA analizleri sonucunda *M. synoviae* suşları arasında heterojenite belirlenmiştir. Suşların virulansları ile solunum sistemi kanalına veya eklemlere karşı olan tropizmlerinde varyasyonlar bulunmaktadır. Hemen hemen bütün *M. synoviae* suşları tavuk eritrositlerini aglutine ederler (Jordan ve Pattison 1996, Arda ve ark. 2002).

#### **1. 4. Epizootiyoloji**

*M. gallisepticum*'un birçok suşu bulunmaktadır. S6 suşu, sinüsitli hindilerin beyninden izole edilen ilk patojenik izolattır. A5969, Van Roekel tarafından patojenik bir kültüre verilen isimdir ve antijen üretiminde kullanılır. Değişik canlı aşı üretimlerinde kullanılan F suşu, Connecticut (ABD) F suşunun ismidir. *M. gallisepticum*'un R suşu ise, Georgia (ABD)'da hava kesesi yangısı bulunan bir tavuktan izole edilmiş ve 'bakterin' üretiminde kullanılmaktadır. Bunların haricinde, *M. gallisepticum*'un 6/85 ve TS-11 suşları canlı aşı üretiminde kullanılan en yeni tiplerdir (Çarlı 2003).

Hastalığın oluşumunda mikroorganizmanın patojenitesi kadar çevresel faktörler de rol oynamaktadır. Beslenme, ısı, hava kalitesi, ışık, altlık, yoğunluk, hastalıklar, yem, su ve ventilasyonda yetersizlik, damızlığın genotipi önemli olduğu kadar tracheal epitelyumda aşı virusunun replikasyonu, amonyak, formalin fumigasyonu, toz da önemlidir. Ayrıca, soğuk hava siliar hücrelerde paraliz meydana getirerek, sıcak hava ise rutubeti düşürerek mukus viskozitesinde artmaya olur ve infeksiyonun şiddetlenmesine yol açar. Stres kortikosteroidlerin salınımını arttırarak humoral ve hücresele bağışıklığı baskıladığı için makrofaj göçünü zayıflatmakta ve fagositozu durdurmaktadır (Razin ve ark. 1998, Ley 2008).

## 1. 5. Semptomlar

Hastalığın semptomları tavuk ve hindilerde birbirine çok benzerdir. Hastalığın ilk aşamasında kanatlarda düşme, topallık, büyümede gerileme gözlenir. Daha sonraki dönemlerde eklemlerde şişlikler belirginleşir, hayvanlar dış etkilere duyarsız hale gelir. Bu dönemde dehidrasyon, dışkı renginin yeşil renk alması ve dışkıda ürik asit kristallerinin görülmesi dikkat çekicidir. Özellikle kış aylarında, havakesesi yangısına bağlı hırıltılı soluma ve ağırlık kayıpları şekillenir. Yumurtacı tavuklarda, yumurta veriminde ve kalitesinde bozulma, damızlıklarda ise kabuk altı ölümlerinde artma olur (Çarlı 2003). *M. synoviae* infeksiyonlarında hastalık genellikle 4-14 haftalık tavuklarla, 10-14 haftalık hindilerde görülmekte ve mortalite %1-10 arasında değişmektedir (Kleven 2003). Piliçlerde synovial membranlarda ödematöz bir infiltrasyon görülür. Hastalıkta nekropsi bulgusu olarak, üst solunum yolunda kataral eksudat dikkati çeker. Hava keseleri yangılıdır ve kazeöz eksudata sıklıkla rastlanır. Pnevmoninin farklı dereceleri görülebilir. Tavuklarda özellikle *Escherichia coli* ile komplike olduğu durumlarda perihepatitis ve perikarditis dikkati çeker (Kleven 2008).

İnkubasyon periyodu ortalama 6-21 gündür. Erişkin tavuk sürülerinde en belirgin tablo tracheal sesler, burun akıntısı, öksürük ve aksırıktır. Yem tüketimi azalır ve buna bağlı ağırlık kaybı oluşur. Yumurtacı sürülerde yumurta verimi düşer. Horozlarda semptomlar daha ağırdır ve kış ayları özellikle tablonun kötüleşmesine yol açar. Salgınlar broyler sürülerinde genellikle 4-8. haftalarda şekillenir. Bazen keratokonjunktivitis gözlemlenebilir. Keratokonjunktivitisin ileri olguları veya komplikasyonları (özellikle viral enfeksiyonlarla) yüzün şişmesine neden olabilir. *M. gallisepticum*, CRD'nin primer etkeni olarak ele alınsa da, diğer organizmalar sıklıkla komplikasyonlara neden olur. İnfeksiyöz Bronşitis (IB) ve Newcastle Disease (ND) *M. gallisepticum* infeksiyonlarına katılabilir. *E. coli* en sık rastlanan komplike edici etkindir. IB, *E.coli* ve *M. gallisepticum* 'un üçlü kombinasyonu şiddetli hava yangısına neden olur. Broyler civcivlerde komplike olmamış vakalarda mortalite düşüktür; ancak soğuk aylarda komplike olgularla birlikte mortalite %30'lara kadar çıkabilir. Hastalığın akut döneminde solunum sisteminde mikroorganizma miktarı en yüksek seviyededir. Kronik infeksiyonlarda ve antibiyotik uygulamasından sonra canlı bakteri sayısı çok azaldığından ancak moleküler yöntemlerle teşhis yapılabilir (Levisohn ve Kleven 2000). İnfeksiyondan 4 hafta sonra vertikal geçiş %25-50'lere kadar

ulaşabilir, daha sonra 8. haftadan itibaren % 3-5'lere kadar geriler (Stipkovits ve Kempf 1996).

*M. gallisepticum* infeksiyonu civcivlerde öksürük, raller, hava kesesi yangısı ve büyümede gerilik ile karakterizedir. Sekonder infeksiyonların (özellikle *E.coli*) olaya karışması ile tablo ağırlaşabilmektedir. Yine viral aşı uygulamaları, kötü bakım besleme, zayıf hijyen koşulları, İnfeksiyöz Bursal Disease (IBD), IB, İnfeksiyöz Laringotracheitis (ILT) ve diğer infeksiyonların varlığı broylerlerde infeksiyonu şiddetlendirerek ekonomik kayıpların artmasına neden olabilir. Broylerlerde ekonomik kayıplar canlı ağırlık artışında azalma (%20-30), yemden yararlanmada düşüş (%10-20), mortalitede artış (%10-20) ve karkas kaybıdır (%10-20)(Stipkovits ve Kempf 1996, Levisohn ve Kleven 2000, Ley 2008). Yumurtacılar da klinik belirtiler çok nadirdir; ancak yumurta kalitesi ve yumurta veriminde düşmeler gözlenebilir. Damızlıklarda transovarian geçişe neden olması sebebi ile kontrol programlarında *M. gallisepticum*'dan ari damızlık kümesler öngörülmekte ancak farklı yaşta hayvanların bir arada tutulduğu işletmelerde bunun gerçekleştirilmesi çok zor olmaktadır. Damızlık ve yumurtacılar da meydana gelen ekonomik kayıplar yumurta veriminde düşme (%10-20) ve embriyo ölümlerinde artış (%5-10) olarak sıralanabilir (Stipkovits ve Kempf 1996, Ley 2008).

*M. synoviae*'nin neden olduğu hastalık tablosunun kötüleşmesini, özellikle solunum sistemi formunda, infeksiyona neden olan suşun virulansı, konakçının türü ve yaşı, diğer patojenlerin varlığı ve bakım besleme koşullarının yetersizliği şekillendirir. Bunların dışında; havalandırma yetersizliğine bağlı olarak kümeste biriken amonyak ve toz, ısıtma noksanlığı, aşırı kalabalık, yetersiz kümes temizliği ve diğer stres faktörleri hayvanları duyarlı hale getirmektedir (Arda ve ark. 2002).



Şekil 1. 1. *M. gallisepticum*'da sinuzitis olgusu



Şekil 1. 2. *M. synoviae*'da arhritis ve synovitis olgusu

## 1. 6. Teşhis

Ard arda pasajlarla birlikte, 3-4 hafta gibi uzun bir inkübasyon süresine ihtiyaç duymaları ve kullanılan antibiyotiklerin mikoplazma etkenlerinin üremesini baskılaması nedeniyle mikoplazmalar oldukça zor üreyen mikroorganizmalardır. Bu durum teşhis konulmuş olsa bile, sürünün sağaltımını ve etkili ve koruyucu önlemlerin alınmasını engellemektedir (Frey ve ark. 1968, Arda ve ark. 2002).

Ne solunum sistemine ait klinik belirtiler ve nekropsı bulguları ne de eklem lezyonları hastalık için patognomik değildir. Hastalığın respiratorik formu; infeksiyöz koriza, kronik kolera, kollibasillozis gibi bakteriyel, Newcastle, İnfeksiyöz Bronşitis) IB, (İnfeksiyöz Laringotracheitis) ILT gibi viral infeksiyonlarla karışır. Hastalığın diğer sinovitislerden (özellikle stafilokokok infeksiyonları) ayrılması için mutlaka ya izole ve



identifiye edilmesi ya da serolojik tekniklerle spesifik antikorların varlığının gösterilmesi gereklidir (Arda ve ark. 2002).

Trachea, hava kesesi, akciğer, sinus içeriği izolasyon materyali olarak kullanılabilir. Ayrıca, treacheadan, özafagustan, damak yarığında ve kloakadan alınan svaplardan da izolasyon yapılmaktadır. Horozlardan alınan semen ve tavukların yumurta folikülleri de izolasyon materyali olarak kullanılmaktadır. Kuluçkada ise, kabuk altı ölü civcivler, kabuğu kırmış fakat çıkamamış olanlar materyal olarak laboratuvara gönderilmelidir. Serolojik teşhis ve izleme programlarının uygulandığı kümeslerden kan serumları teşhis için yeterlidir (Arda ve ark. 2002).

Mikoplazma etkenlerinin direkt teşhisinde ve tiplendirilmesinde izolasyon ve identifikasyon, immunperoksidaz, FAT (Floresan Antikor Tekniği) ve moleküler yöntemler (PZR, PZR/RFLP), kullanılmaktadır. Yıllardan beri, kanatlı mikoplazmalarının teşhisi spesifik antikor üretimi ve mikroorganizmanın izolasyon ve identifikasyonu ile yapılmaktadır. Kanatlı mikoplazmalarının izolasyonu için birçok uygun kültür vasatı geliştirilmiştir (Freundt 1983). Kültür yavaş, zahmetli ve pahalı olup, steril koşullar gerektirir (Yoder 1991). Mikoplazma izolasyonu için katı besiyeri olarak Mikoplazma agar, PPLO agar; sıvı besiyeri olarak Mikoplazma broth ve PPLO broth besiyerleri kullanılmaktadır (Mekkes ve Feberwee 2005). MG in vitro zor ürediği için, %10-15 hayvan serumları ilave edilen besiyerinde çok yavaş ürer ve diğer bakteri ve mantarların üremesini engellemek için ortama katılan belli antimikrobial ajanlara karşı da dirençlidir (Levishon ve Kleven 2000, Arda ve ark. 2002).

Lam aglütinasyon, hemaglütinasyon inhibisyon ve ELISA gibi serolojik testler mikoplazma infeksiyonlarının teşhisinde en çok kullanılan serolojik yöntemlerdir. Sürüleri muayene etmek için bu testler yararlıdır ancak spesifitesi ve sensitivitesi düşüktür (Yoder 1991, Kleven 1991). Lam aglütinasyon testi hızlı, basit ve pahalı olmayan bir testtir. MG'nin serolojik identifikasyonu üreme inhibisyon, metabolik inhibisyon, immunfloresan, agar jel presipitasyon, immunperoksidaz ve immunelektroforez gibi çeşitli yöntemlerle yapılmaktadır (Talkington ve Kleven 1983). Mikoplazma antikorları yönünden pozitif bulunan sürülerde pozitif ya da şüpheli bulguların kültür ve/veya PZR ile doğrulanması gerekir.

Mikoplazmaların izolasyon ve identifikasyonundaki güçlükler nedeniyle infeksiyonun teşhisinde serolojik testlerden en fazla ÇLA testi kullanılmaktadır (Kleven 1988). ÇLA testini teyit etmek için kullanılabilir en duyarlı test ELISA'dır (Stipkovits ve Kempf 1996). ELISA ile IgG'ler tespit edilmekte ve çabuk sonuç verdiği için tercih edilmektedir. Ticari kitlerin kalitesi iyi olmasına rağmen bazen yanlış pozitiflikler görülebilir. Suşların pleomorfizme yatkın olmaları ve diğer infeksiyonlarla birlikte bulunabilmeleri ELISA'da hatalı sonuçlar oluşturabilmektedir (Kleven ve ark. 1998).

Hastalık yönünden temiz olduğu düşünülen bir sürüde bazı hayvanların serumları serolojik testlerde pozitif reaksiyon gösterebilir. Eğer hayvanlarda klinik belirti yoksa ve infeksiyonunun tek belirleyicisi bu antikorlar ise, seropozitif hayvanlar bir ay sonra yeniden test edilmelidir. İkinci muayenede serumlar büyük çoğunlukla negatif olarak bulunur (Arda ve ark. 2002).

## 1. 7. Tedavi

Mikoplazmalar hücre duvarının bulunmamasından dolayı, penisilin gibi hücre duvarına etkili olan antibiyotiklere dayanıklıdır; fakat tetrasiklinlere (oksitetrasiklin, klortetrasiklin), makrolid grubu antibiyotiklere (eritromisin, tilozin, spiramisin, linkomisin), kinolonlara (enrofloksasin, danofloksasin) duyarlıdır. Bu antibiyotikler içme suyu ve gıdayla verilebildiği gibi, yumurtaların antibiyotiklere batırılması şeklinde de uygulanabilir. Ancak alınacak sonuçlar, hayvanların yaşına ve sürünün mikoplazma ile birlikte seyreden infeksiyonların durumuna göre değişmektedir (Nascimento 1999).

Tiamulin ve enrofloksasin solunum sisteminin mukozal membranlarında ve genitoüriner yollarda yüksek oranda biriken ilaçlar olduğundan sıklıkla tercih edilir. Bu antibiyotikler hazırlanma şekline göre, içme suyu, yem ve yumurtaya enjeksiyon yöntemleri ile uygulanabilir. Kümeslerde hastalığa neden olan etkenlerin duyarlı olduğu antibiyotiklerin seçilmesi, tedavi dozunda uygulanması ve yeterli süreyle verilmesi önem taşır. Değerli grandparent damızlıklara, *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* ile mücadelede, klinik belirtilerin başlangıcında inokulasyon yolu ile antibiyotiklerin verilmesi etkili bir yöntem olabilir. Antibiyotiklerin gıda ve içme suyu ile 5 gün süreli verilmesi sonunda, infeksiyon ve yumurta ile bulaşma oranı oldukça azalmaktadır. Ancak bu uygulama tamamen 'infeksiyondan arı' bir sürü elde etmek için yeterli değildir (Arda ve ark. 2002).

Yumurtaların antibiyotiklerle işlenmesi için iki yöntem kullanılır; bunların ilkinde embriyolu yumurtalara inkübasyonun 8-11. günlerinde hava boşluğuna antibiyotiklerin enjekte edilmesidir. Bu dönemde, hava kesesinin altında gelişmiş olan kan damarlarından dolayı, antibiyotik hızlı bir şekilde absorbe olarak embriyo ve yumurta sarısına ulaşır. İkincisinde ise yumurtalar antibiyotik solusyonları içine batırılır. Bu iki şekilde yapılır; yumurtalar ya 37°C'de 2-4 saat tutularak bir gün ön ısıtma işleminden geçirilir ve 15-20 dk. 5-10°C'deki antibiyotik solusyonunda bekletilir. Bu uygulamayla oluşan negatif basınçla bir miktar antibiyotik solusyonunun yumurta içerisine girmesi sağlanır. Bu yöntemin uygulanması enjeksiyona oranla daha kolay olmasına rağmen, yumurta kabuğunun geçirgenliğinin az olması nedeniyle yeterli miktarda antibiyotik geçişini sağlayamaz (Arda ve ark. 2002).

Gharaibeh ve Al-Rashdan (2011), çalışmalarında 3 yıl ara ile Ürdün'de izole edilen MG saha suşları arasında antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde bir direnç gelişimi gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmalarında tiamulin'in her iki grupta da etkili antibiyotik olduğunu, eritromisine ve gentamisine karşı her iki grupta da direnç geliştiğini, tilmikosin, taylosin, siprofloksasin, enrofloksasin, klortetrasiklin, doksisiklin, oksitetrasikline karşı ise 2. grupta ilk izole edilen gruba oranla verisel olarak önemli ölçüde direnç gelişimi gözlemlemişlerdir.

Pakpinyo ve Sasipreeyajan (2007), Tayland'dan izole edilen *M. gallisepticum* saha suşları ile yaptıkları çalışmada, tüm izolatların linkomisin, oksitetrasiklin, tiamulin ve tylosine duyarlı olduklarını, josamisinin orta düzeyde duyarlılık gösterdiğini, eritromisine ve enrofloksasine karşı ise direnç geliştiğini bildirmektedirler.

2006 yılında; Fransa'da yumurtacı hayvanlarda yapılan bir epidemiyolojik çalışmada; yumurtacı sürülerinde *M. synoviae* infeksiyonunun yüksek düzeyde yaygınlığı doğrulanmıştır. İnfeksiyonun farklı yaşta hayvanları bir arada bulunduran çiftliklerde daha sık görüldüğü bildirilmektedir. İnfekte sürülerle infekte olmayan sürüler karşılaştırıldığında yumurta üretimi düşerken, mortalite yükselir, fakat var olan farklılık istatistiksel bir değer arz etmemektedir. İnfekte sürülerden izole edilen klonların genomik profilleri oldukça homojendir, bu da bulaşmanın rotasının anlaşılmasını kolaylaştıracak bir özelliktir. Tüm izolatlar tetrasiklinler, makrolidler (eritromisin hariç) ve fluorokinolonlara duyarlıdır (Fabienne ve ark. 2006).

## 1. 8. Koruma ve Kontrol

Kanatlılarda *M. gallisepticum* ve *M. synovia*'dan kaynaklanan vertikal yolla bulaşan infeksiyonların önüne geçilmesinde başlangıç noktası, damızlık sürüleri bu infeksiyondan uzak tutmaktır (Stipkovits ve Kempf 1996). Broyler ve yumurtacı işletmelerde mikoplazma izleme programının oluşturulması, bu hastalığın vermiş olduğu performans kayıplarını ve ek tedavi masraflarını azaltmada oldukça etkilidir. Hastalığın yol açtığı ekonomik kayıplar kullanılan antibiyotikler, verim düşüklüğü ve öngörülemeyen diğer bazı kayıplardan oluşmaktadır. Mikoplazma izleme programlarında serolojik teknikler özellikle lam aglütinasyonu ve ELISA oldukça pratik olmakla birlikte; saha koşullarında yeterli sonuç vermemektedir. Kültür ve serolojiyi doğrulama için PZR temelli tekniklerin kullanılması faydalı olabilir (Nascimento ve ark. 1991, Nascimento ve ark. 2000).

Mikoplazmozis hayvan hareketleri, kuluçkalık yumurta veya kontamine materyalin taşınması ile sürüye girer. Biyogüvenlik önlemleri hastalığın yayılmasında ve korunmada önemli rol oynar. İnfeksiyondan kurtulmak için tüm sürüyü elden çıkarmak ve sonrasında bina ve ekipmaları dezenfekte etmek (fenol, hipoklorid, gluteraldehit, v.s.) önemlidir (Akan 2008, Anonim 1)

Mikoplazma infeksiyonlarının kontrolünde pek çok ülkede olduğu gibi ülkemizde de ticari damızlık sürülerin MG infeksiyonundan ari olması gerekmektedir. ABD'de NPIP ile, Avrupa'da 90/539/EEC sayılı AB direktifi ile, ülkemizde de "Damızlık İşletmelerin Sağlık Kontrol Yönetmeliği" ile bu düzenlemeler sağlanmıştır. Bu anlamda çok yüksek düzeyde biyogüvenlik, serolojik olarak rutin izleme ve infekte sürülerin elden çıkarılması gibi ağır kontrol programları uygulanmaktadır. Kanatlı populasyonunun hızla arttığı günümüzde, özellikler yumurtacı işletmelerde farklı yaş gruplarındaki hayvanların bir arada bulunduğu birbirine yakın kümeslerde infeksiyondan korunmak çok mümkün olmamaktadır. Bu gibi durumlarda uygulanacak antibiyotik tedavisi ile klinik belirtilerin azaltılması üretim kayıplarının önüne geçilmesi ve etkenin yumurtaya geçişinin engellenmesi anlamında etkili olacaktır (Levisohn ve Kleven 2000).

Mikoplazmalar penisilin gibi hücre duvarı sentezine engel olan antibiyotiklere dirençli olmalarına rağmen, makrolitler, tetrasiklinle, kinolonlar ve pleuromutiline

duyarlıdır. Antibiyotikler klinik belirtileri ve hastalığın sürü içinde yayılmasını bir miktar durdurabilir fakat yalnızca antibiyotik tedavisi ile etkenin eradikasyonu mümkün değildir. Tekrarlama sıklığı, direnç gelişimi ve kalıntı bırakma riski ise antibiyotik kullanımının bilinen diğer dezavantajlarıdır (Stipkovits ve Kempf 1996).

### **1. 9. Dünya’da ve Türkiye’de Uygulanan Kontrol Programları**

Mikoplazma kontrolünde hedef hastalığı grand parent bazında eradike edip, parent stok bazında iyi bir biyogüvenlikle hastalıktan ari yapıyı korumaya çalışmaktır. Broyler ve yumurtacı işletmelerde mikoplazma izleme programlarının oluşturulması, bu hastalığın vermiş olduğu verim kayıplarını ve ek tedavi masraflarını düşürmede oldukça etkindir (Akan 2008).

Amerika Birleşik Devletleri’ndeki 276,1 milyon yumurtacı tavuğun büyük çoğunluğunun ve damızlık sürülerin %50’den fazlasının infekte olduğu, dolayısıyla yumurtacı tavuk endüstrisinde mikoplazmozisin endemik seyrettiği kabul edilmektedir (Rhorer ve Evans 2004).

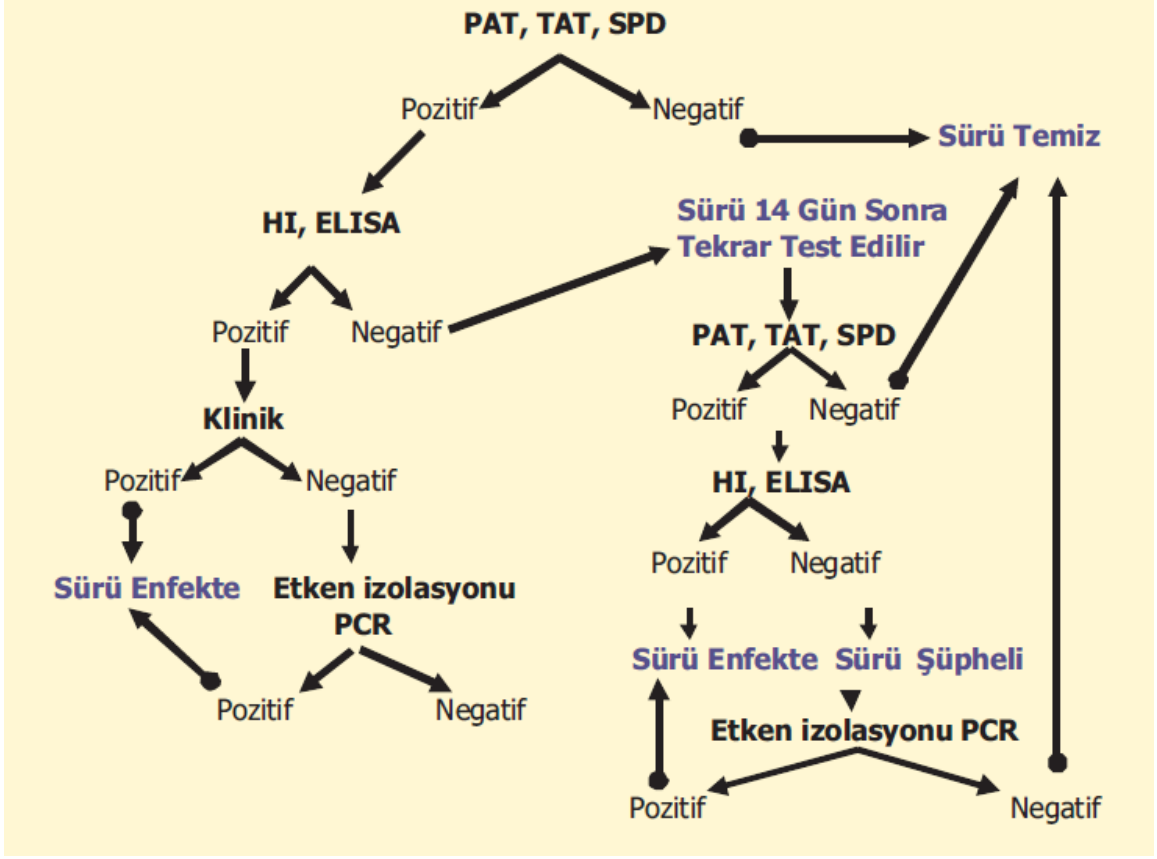
Amerika Birleşik Devletleri’nde mikoplazma infeksiyonları ulusal kontrole tabidir ve 4 aylıktan itibaren kanatlıların hastalıktan ari olmaları istenir. Avrupa Birliği ülkelerinde ise mikoplazma infeksiyonları; 90/539/EEC direktifiyle; birlik içerisindeki ticareti, 3. ülkelerden kanatlı ya da dömlü yumurta ithalatlarında kaliteyi kontrolde tutabilmek üzere, damızlık sürünün yumurtaya başlamasından hemen önce ve devamındaki her üç ayda bir örneklemelerle serolojik takibini şart koşmaktadır (Gökçelik 2008).

İngiltere kanatlı sağlığı programında mikoplazma infeksiyonları ile ilgili testlerin, kanatlılar yumurtaya girmeden 4 hafta öncesinden başlayıp, sonrasında her 12 haftada bir yapılması istenmektedir. Önerilen örnekleme; 4000 ve daha yukarı sayıdaki sürü için 60 hayvan ile %95 güvenirlikle, %5 prevalansı ifade etmektedir. %99 güvenirlilikle gözlemek için örnek sayısı 90 olmalıdır. Ülkemizde koruma ve kontrol amacıyla; 1989 yılından beri “Kuluçkahane ve Damızlık İşletmelerinin Sağlık ve Kontrol Yönetmeliği” yürürlüğe girmiş son olarak 2007 yılında yönetmelik güncellenmiş olup, damızlıkların *M. synoviae* ve *M. gallisepticum*’dan ari olması gerekliliği ve gerekliliğin devamlılığı için izlenmesi gereken identifikasyon yöntem ve yolları açıklanmıştır. Bu yönetmelik

kapsamında damızlık sürülerin kontrolleri, 16 haftalıktan itibaren başlar ve en az yılda iki kez tekrarlanır. Ülkemizde mikoplazma yönünden yapılan kontrollerde çubuk lam aglutinasyon, serum plak dilusyon, tüp aglutinasyon testi gibi tarama testleri kullanılır ve pozitif bulunan sürülerde sonuç nispeten spesifitesi daha yüksek ELISA ve hemaglutinasyon inhibisyon (HI) gibi ikinci bir serolojik doğrulama testi ile doğrulanır. Mikoplazma antikorları yönünden pozitif bulunan sürülerde pozitif ya da şüpheli bulguların PZR ile doğrulanması oldukça faydalıdır. Mikoplazma infeksiyonlarının varlığının belirlendiği sürülerde tedavi uygulaması ile verim kayıpları önlenmektedir (Anonim 2).

Serolojik testlere, tavuklar 16 haftalıkken başlanır. Pure-linelarda sürüdeki dişi ve erkeklerin %5'i, grand parentların %5'i, parent stoklarda, sürü 16 haftalık olduğunda, mevcudu 5000'den az olan sürülerde, sürünün %5'i, 5000 ve daha fazla ise en az 300 kanatlıdan alınan kan serum örnekleri serolojik yönden muayene edilir (Dakman 2008).

İthal damızlık yumurtalarda; 10000 yumurtaya kadar 30, 10000'den büyük popülasyonlarda ise 60 rastgele seçilmiş yumurta, bakteriyolojik ve serolojik yöntemlerle muayene edilir. Şüpheli durumlarda, örnek alınan yumurta partisinden çıkan civcivler bakteriyolojik yönden incelenir (Dakman 2008).



Şekil 1. 3. Damızlık sürülerde mikoplazma yönünden yapılan laboratuvar muayeneleri ve değerlendirmesi (Dakman 2008).

### 1. 10. Aşılama

*M. gallisepticum*' un tüm dünyada yaygın bir infeksiyon olması, lateral bulaşabilme özelliği ve ticari yumurtacı işletmelerde farklı yaşlardaki kanatlıların birarada tutulması hastalığın kontrolünde önemli dezavantajlar olarak görünmektedir. Aşılamamanın amacı sürüyü solunum sistemi hastalığından korumak, yumurta verimindeki düşmeyi önlemek, *M. gallisepticum*' un yumurta yolu ile yayılımını önlemek, farklı yaşlardaki kanatlıların bir arada bulunduğu işletmelerde rezervuarların sayısını azaltmaktır. Bu amaçla bakterin aşılar veya canlı aşılar kullanılmaktadır (Whithear ve ark. 1996, Evans ve Hafez 2005).

Birçok mikoplazma aşısı hastalığın durumuna göre klinik bulguları yok edebilir veya durdurabilir (Whithear ve ark. 1990, Evans ve Hafez 1995). Yüksek virulent olmayan saha suşlarının neden olduğu hastalıklarda bu aşılar fazla etki gösterebilir. Aşının seçilmesinde kümesin genel sağlık durumu etkili bir faktördür. Yüksek virulent solunum yolunu etkileyen saha suşları ile immunosupresyona uğramış olan kümeslerde daha güvenli

bir aşı seçimi etkili olmaktadır. Bazı aşılar, saha virulent suşlarını baskılayıp yayılmasının önüne geçebilir (Kleven 1998).

Aşılama biyogüvenlik önlemleri ile kanatlı sürülerindeki mikoplazma enfeksiyonunun engellenmesinde başarısız olduğu durumlarda iyi bir seçenektir. *M. gallisepticum* aşıları yumurta veriminde düşmeye ve solunum sistemi enfeksiyonlarına karşı korunmak için ticari yumurtacılar, solunum enfeksiyonlarına karşı korunmak için broylerlere ve yeni nesillere enfeksiyonun bulaşmasını azaltmak ve elimine etmek amacıyla da damızlıklara yapılabilir. Cansız aşılar ve canlı attenüe aşılar kanatlı sektörde CRD'na neden olan *M. gallisepticum*'un kontrolünde ticari olarak etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, aşılar lezyonların şiddeti ve yumurta verimindeki kayıp azaldığında solunum sistemini, etkenin kolonizasyonundan veya heterolog değişimlerin şekillenmesinden tam anlamı ile koruyamaz. İnaktif aşılar, genellikle yağ emülsiyon bir adjuvan içerir ve subkutan veya intramuskuler enjeksiyon şeklinde uygulanır. Ayrıca bu aşılar, solunum sistemi virusları (NewCastle ve IB virus) veya *E. coli* ile sinerjik etki göstermez, dolayısıyla, bu enfeksiyonların seyrettiği kümeslerde rahatlıkla kullanılabilir. Ancak, bu aşıların immunojeniteleri düşüktür. Bu aşılar enfeksiyon riski olmaması ve *M. gallisepticum* tespitini etkilememesi bakımından tercih edilirler (Whithear ve ark. 1996).

Bakterin aşılar canlı aşılara göre daha güvenli olmakla birlikte, yüksek maliyetli olup, hayvanlara bireysel uygulama zorlukları vardır. Son yıllarda, canlı attenüe aşılar cansız aşıların yerine geçmektedir ve bu aşılar 3 suştan köken alır: F-suşu, TS-11 ve 6/85. Canlı aşılardan 'F' şusu ile hazırlanmış aşılar en virulent türlerdir. Son yıllarda TS 11 ve 6/85 gibi daha az virulent aşılar geliştirilmiştir. TS-11 *M. gallisepticum*'un Avustralya suşundan geliştirilmiş ısıya duyarlı bir mutanttır. TS-11, F suşuna kıyasla; daha düşük bir koruma sağlar, ancak aşılama dozuna bağlı olarak uzun süreli immunitenin oluşturulmasında etkin bir aşıdır. Bu suş, göz damlası şeklinde uygulanır, tavuklarda değişken antikor yanıt şekillenmesine rağmen uzun süre devam eden bir uyarım şekillenir. TS-11 suşu respiratorik virus aşıları ile kombine edilerek güvenle kullanılabilir. 6/85 suşu ise modifiye edilmiş bir saha suşudur. Ancak bu aşılar yumurtacı tavuklar için uygundur. 6/85 suşu F suşu ile karşılaştırıldığında hem daha zayıf bir koruyucu immun yanıt oluşturur hem de daha düşük virulens ve infektiviteye sahiptir. Bu suş aerosol yolla uygulanır, aşı kanatlılarda etkisinin uzun sürmediği ve belirgin bir sistemik antikor yanıt uyarmakta başarısız olduğu düşünülmektedir (Whithear 1996). 'F Suş' kullanılarak hazırlanan aşıların



mekanizması tam açıklanmamıştır. Aşılı yumurtacı tavukların infekte sürülerden daha çok yumurta verdiği gözlenmiş, ancak *M. gallisepticum* G temiz sürülerden daha fazla yumurta vermediği saptanmıştır (Çarlı 2003 ). Ülkemizde de ruhsatlı olan 6/85 ve TS-11 suşları ile hazırlanmış canlı aşılar yumurtacı sektörde kullanılmakta olup, civciv ve hindiler için avirülettir, hayvandan hayvana yayılma özelliği göstermezler ve virulent *M. gallisepticum* epruvasyonuna direnç gösterirler (Whithear ve ark. 1996, Evans ve Hafez 2005).

Bu aşılar ticari olarak üretilmekte olup *M. gallisepticum*'un neden olduğu infeksiyonların bulaşması üzerine yüksek oranda etkili olabilmektedir. Bununla beraber immun korumayı sağlama mekanizmaları hala bilinmemektedir. Ticari *M. gallisepticum* aşıları genellikle damızlık sürülerde kullanılmasına rağmen yumurtacı sürülerde de kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Yumurta kayıplarını azaltmada canlı *M. gallisepticum* aşıları etkili bir şekilde kullanılır. Mevcut *M. gallisepticum* aşılarının dezavantajı doğal infekte sürü ile aşılı olanları doğru olarak tespit eden bir serolojik testin olmamasıdır (Nicholas ve ark. 2009).

Aşılama sonrasında oluşan humoral immun yanıtın koruma süresi kısadır ve bu nedenle uzun süreli bir bağışık yanıtın oluşumunda etkin bir rol oynayamaz. Bununla birlikte, Feberwee ve ark. (2005) yaptıkları deneysel çalışmada aşılamanın *M. gallisepticum*'un yayılımını ve bulaşımını engellemediğini bildirmişlerdir. Canlı aşılar, hastalığın kümese girmesinde tehlikelidir. Aşılama kullanılan F suşu, hindiler için virulenttir. Bu nedenle, bu aşıların kullanımı yakındaki hindi sürüleri için tehlike arz eder. Ayrıca, aşılanmış kanatlılar, mikroorganizmanın taşınmasına neden olur. F suşu içme suyunda veya aerosol olarak uygulanır. Bu suş; yumurta verimindeki düşüşü azaltmanın yanı sıra farklı yaş gruplarında hayvanların bulunduğu çiftliklerde endemik suşların yayılımını da engeller. Aşı suşu solunum sistemi virusları ve *E. coli* ile sinerjik etki gösterebilir. Ancak, canlı aşılar invaziv *M. gallisepticum* suşlarına karşı koruma sağlar ve solunum kanalında nonpatojenik bir *M. gallisepticum* suşunun (Örneğin; F suşu) bulunması, yerel bağışıklığı uyararak, patojenik suşların dereceli olarak elimine edilmesinde yardımcı olur (Whithear ve ark. 1996).

Papazisi ve ark. (2002) üç membran proteinine sahip olan aşağıdaki Rhigh suşunun pasajlanmasına dayanan yeni bir attenuue suş geliştirmiştir. Bileşenleri hücre bağlayan protein GapA, hücre bağlayan ile ilişkili molekül CrmA ve ABC taşıma sisteminin bileşeni

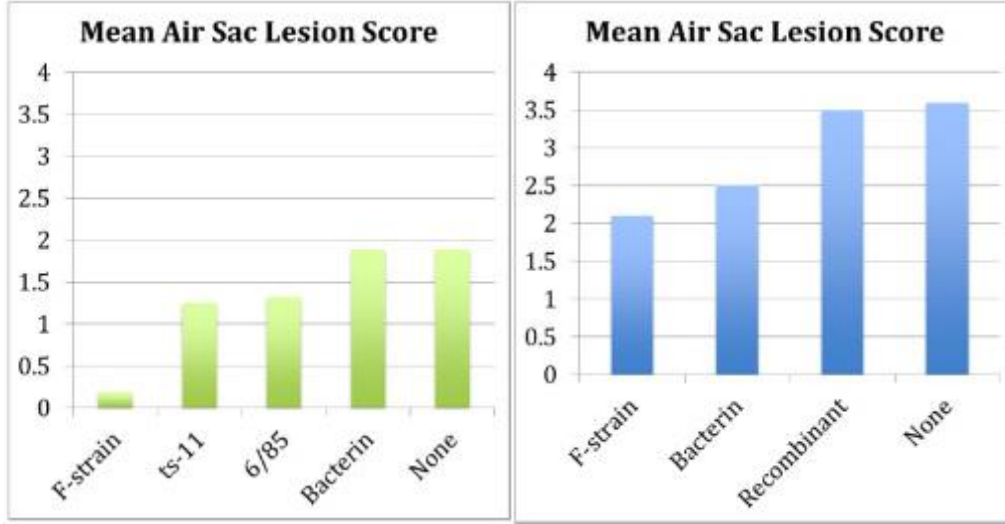
HatA'dır. Bu suşun (GT5) hücrelere bağlı kalması imkânsızdır, bu nedenle avirülettir, ancak patojenik Rlow suşu ile tavuklarda oluşan bağışıklığın koruyucu düzeyde olduğu belirlenmiştir. Aşılansız tavuklarda; serum IgG düzeyleri yükselir, IgA'nın düşük mukozal konsantrasyonları tracheal lezyonların şiddetini ve etkenin kolonizasyonunu azaltmaktadır (Papazisi ve ark 2002). Tavukların GT5 aşılması ile korunması B, CD4+ ve CD8+ hücre infiltrasyon sayılarının indirgenmesi eşliğinde gerçekleşmiştir. Kontrol yöntemleri ile karşılaştırıldığında *M. gallisepticum* infeksiyonunun neden olduğu ilerleyen lenfositik inflamatuvar yanıtta azalma dikkati çekmektedir. GT5-aşılı tavuklarda; mikoplazma spesifik antikor oluşturan hücrelerin sayısı bağışıklığın oluşmasından bir gün sonra artışa geçer (Javed ve ark 2005). Bu, şu sonucu doğurmaktadır ki; GT5 aşılansızlarının neden olduğu yüksek IgG yanıtı *M. gallisepticum*'un kolonizasyonunun blokasyonundan sorumludur, böylece mikroorganizma hızla eradike edilir (Javed ve ark. 2005).

Sıcaklığa karşı hassasiyeti olan bir *M. synoviae* suşu olan *M. synoviae*-H'nin, tavuklarda güvenilirliği ve etkinliği incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Bu suş; kimyasal mutasyonlar ile üretilmiştir ve in vivo pasajlandığı zamanlarda bile virulensini geri kazanmamıştır. Aşı uygulamasından sonra hiçbir lezyon görülmemiştir ve aşı lateral bulaşmaya neden olabilmektedir. Aşının etkinlik çalışmaları sınırlı olmasına rağmen, dünyada pek çok ülkede kullanılmaktadır. Jones ve ark. (2006) aşının koruma süresinin 40 haftadan az olduğunu bildirmiştir. Bu gibi durumlarda, *M. synoviae*-H, virulansını geri kazanmadan ısıya duyarlı fenotipini yitirdiğinden, suşun attenüasyonu sadece ısı duyarlılığına bağlı değildir. *M. synoviae* -H canlı aşısı çoğu kez TS-11 suşu ile birlikte kullanılmaktadır (Noormohammadi ve ark 2003).

Pek çok attenüe aşının attenüasyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Virulans faktörü giderilmiş olarak bilinen Knockout mutant suşların kullanımının aşılansız yararlılığının gelişiminde etkin olabileceği düşünülmektedir. Açıkçası, böyle bir yaklaşıma güvenmek sadece virülens faktörlerinin belirlenmesi ile mümkün değildir (Nicholas ve ark. 2009). Ülkemizde ruhsatlı olmayan canlı aşılansız, Connecticut F ve ısı mutant 6/85 ve TS-11 suşlarından hazırlanmaktadır (Akan 2008).

Ferguson ve ark. (2012) broyler ve yumurtacı kümesleri MG aşılansız ile aşılansızlar ve sonrasında virulent R-suş *M. gallisepticum* ile hastalık oluşturmuşlardır. Çalışmada

nekropsinin onuncu gününde hava keselerinde lezyon skorlamaları yapılmıştır (Çizelge 1. 1.). Patojenden ari yumurtacı kümeslerde yapılan çalışmalarda; *M. gallisepticum* bakterin ve F-Strain aşılarının ikisinin de koruma gösterdiği ve diğer rekombinant aşılardan farklı olarak hava kesesi, trechea ve ovaryum bulgularının olduğu saptanmıştır. Ovaryum regresyonunun *M. gallisepticum* aşılamaalarında kullanışlı bir yöntem olduğundan bahsedilmiştir (Ferguson ve ark. 2012).



**Şekil 1. 4.** Broyler ve yumurtacı kümeslerin MG aşuları ile aşılamaaları, sonrasında hastalık oluşturulması ve yapılan nekropsi sonucunda oluşan hava keseleri lezyon skorlamaları

### 1. 11. Hastalığın Ekonomik Yönden Önemi

Hastalıkla mücadelede en önemli faktör, özellikle damızlık sürülerde görülen bu infeksiyonun üretimin tüm aşamalarında verim kaybına neden olmasıdır. Broyler sürülerde özellikle üçüncü haftadan sonra başlayan verim düşüşleri özellikle canlı ağırlık hedeflerinde gerileme ve komplike durumlarda artan mortalitedir. Yumurtacı sürülerde ise, oluşan infeksiyonlarda yumurta veriminde azalma ve kabuk kalitesinde bozulma görülür. Damızlıklarda görülen *M. gallisepticum* infeksiyonu, verim ve kuluçka randımanında azalmaya neden olur. Buna ek olarak bakım yönetim koşullarının yetersiz olduğu durumlarda ölümler görülebilir. Hastalığın vertikal olarak bulaşması ayrı bir öneme sahiptir (Arda ve ark. 2002, Akan 2008).

Hastalıkta görülen ekonomik kayıpların nedenleri şunlardır:

- Canlı ağırlık hedeflerinde geri kalma,
- Yemden yararlanmada düşme,
- Komplike vakalarda ölüm oranlarında artış,
- Damızlık sürülerinde kuluçka randımanında düşme,
- Tavuklarda CRD ve sinuzitis nedeni ile kesimhanede imha oranında artış,
- Yumurta veriminde düşme ve toplam yumurta sayısında azalma,
- Tedavi giderleri,
- Bazı işletmeler için aşı giderleri,
- Koruma ve kontrol programlarının yeniden organizasyonu,

Yukarıda açıklanan kayıpların rakamsal ifadesi ortalama olarak; broyler sürülerde %5-10 canlı ağırlık kaybı ve %1 ek mortalite; yumurtacı sürülerde 10-15 adet yumurta/tavuk ve tüm verim döneminde %3-5 ek mortalite ve damızlık sürülerde ise yaklaşık %3 kuluçka randımanında düşme ve %2-3 ek mortalitedir (Akan 2008).

Türkiye’de tavuklarda mikoplazma infeksiyonlarının yaygınlığı konusunda yapılmış çalışmalar sınırlı sayıdadır. Akan ve ark. (2008), broyler damızlık ve ticari broyler kümeslerden sağlanan kan serumlarında (1320 kümeden 23768 adet) ELISA ile *M. gallisepticum* pozitifliğini %25,5; *M. synoviae* pozitifliğini ise %42,1 olarak saptamışlardır. Bu çalışma dışında hastalığın direkt PCR ve indirekt yöntemlerle varlığını saptayan çalışmalar da bulunmaktadır. Genel olarak, pratikte bu hastalığın hem broyler hem de yumurtacı sürülerde varlığı iyi bilinmekte ve bu vakalara uygun antibiyotiklerle tedavi edilmektedir. Ancak, genel olarak işletme veya entegrasyon düzeyinde hastalığın kontrolü ile ilgili detaylı işlemler yapılmamaktadır. Bu çalışmada, tavukçuluk sektöründe önemli bir yer işgal eden Türkiye’nin batısındaki illerde (Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın), broyler etlik civciv ve yumurtacı tavuklarda, kanatlı yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açan önemli patojenlerden olan *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* infeksiyonlarının serolojik olarak ELISA ile varlığının ve yaygınlığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GEREÇ YÖNTEM

### 2. 1. Gereç

#### 2. 1. 1. Kan Örnekleri

Çalışma materyalini özel bir işletmeye ait Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın İlleri'nde aşısız Ross 308 broyler ve Brown Nick yumurtacı tavuk barındıran 60 kümeden tesadüfi örnekleme yolu ile alınan 1060 kan örneği oluşturmaktadır. Örneklemeler 2014 yılında gerçekleştirilmiştir. İllere göre alınan örnek sayıları ve örneklere ait bilgiler (üretim şekilleri, örnekleme yapılan kümeslerdeki kanatlıların yaşları, işletme ve kümes sayıları) Çizelge 2.1.'de gösterilmektedir.

**Çizelge 2. 1.** İllere göre alınan örnek sayıları ve örneklere ait bilgiler

Şehir	Üretim Şekli	Kanatlı Yaşı	İşletme/Kümes Sayısı	Örnek Sayısı
Denizli	Yumurtacı	45-60 Hafta	1/20	360
İzmir	Broyler	1-48Gün	1/18	313
Manisa	Broyler	1-48Gün	1/11	226
Aydın	Broyler	1-48Gün	1/11	161
TOPLAM			1/60	1060

Bir işletmeye ait 60 kümesteki *M. gallisepticum*/*M. synoviae* yönünden aşısız 1060 tavuktan kan örnekleri toplandı. Bunların 360 tanesini Denizli'den 45-60 haftalık yaş aralığındaki yumurtacı tavuklardan alınan kan örnekleri oluştururken; geri kalan örnekler 1-48 gün arası yaştaki broylerlere ait olup, 313 tanesi İzmir, 226 tanesi Manisa ve 161 tanesi Aydın'dan alınmıştır.

## **2. 1. 2. Örneklerin Alınması**

Toplam 1060 tavuktan alınan kan örnekleri steril ependorflara konuldu. Kan örnekleri Kuluçkahane ve Damızlık İşletmeleri Sağlık Kontrol Yönetmeliği uyarınca sürülerin yaklaşık %5'inden, 1-2 cc miktarında alınmasına özen gösterildi (Anonim 2). Alınan kanlardan serum çıkması için, kanlar 1000 rpm de 2 dakika santrifuj edildi. Bu işlem sonrasında ayrılan serumlar tekrar steril ependorflara aktarılarak ELISA yapılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

## **2. 1. 3. ELISA**

### **2. 1. 3. 1. ELISA Teçhizatı**

ELISA teçhizatı olarak; tek ve çok kanallı pipetler (Socorex), ELISA okuyucu (BioTekElx 808 (USA), 405 nm filtrelili), serumda *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* antikor miktarını ölçmek için ELISA kiti (BioCheck, CK128, USA) kullanıldı.

## **2. 2. Yöntem**

### **2. 2. 1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kiti ve Test Prensibi**

İncelenecek olan serum örneklerinde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'e karşı spesifik antikor varlığı ve antikor titreleri ayrı ayrı olarak ticari bir ELISA kiti (*M. gallisepticum* Kit ve *M. synoviae* test Kit (BioChek, Gouda, Hollanda)) ile test edildi.

Testin prensibi: Pleyt kuyucuklarına eklenen serum içerisinde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'e karşı antikor var olması durumunda, pleyt kuyucuklarında var olan inaktif *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* antijeni ile antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Spesifik olmayan tavuk antikorları yıkama işlemi ile uzaklaştırılmakta; bu aşamadan sonra, alkalın fosfataz enzimi ile işaretli anti-tavuk antikorları anti-*M. gallisepticum*/*M. synoviae* antikorlarına bağlanmaktadır. Testin son aşamasında enzim ve pNPP kromojen olan substrat ile meydana gelen renk değişiminin optik yoğunluğu ELISA okuyucusunda okutulur. Oluşacak rengin yoğunluğu direkt olarak serum içerisindeki antikor titresi ile doğru orantılıdır.

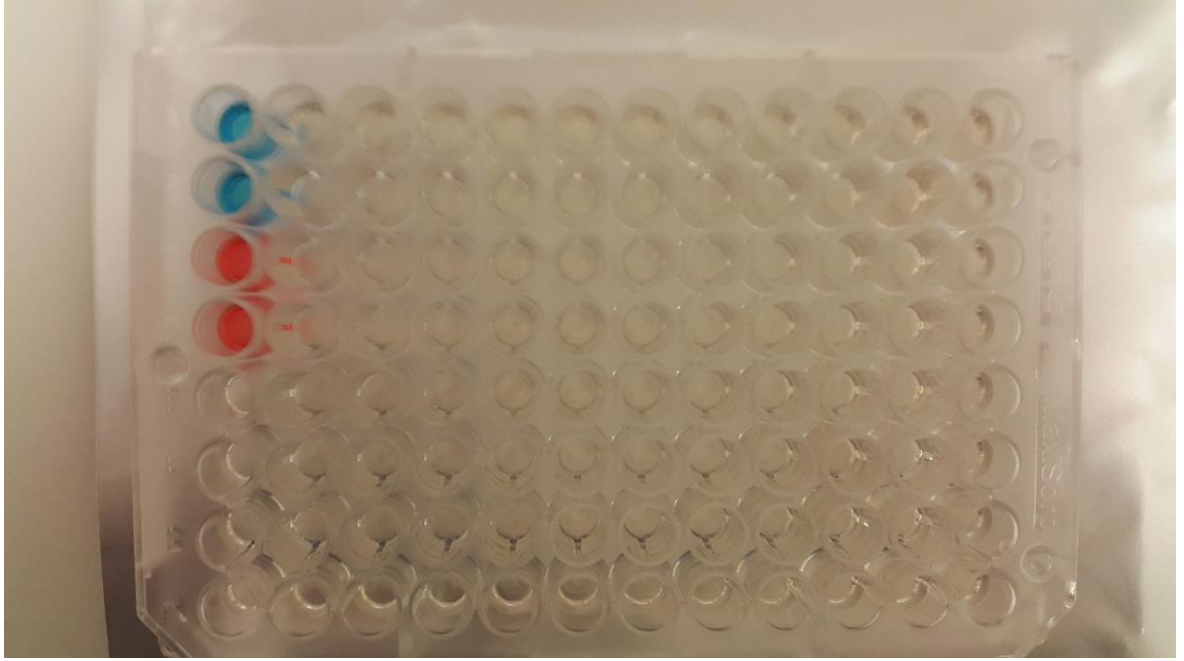
### **2. 2. 1. 1 ELISA Kiti İçeriği**

1. İnakrive edilmiş mikoplazma antijeni ile kaplanmış pleytler,
2. Konjugat solusyonu (Koyun anti-tavuk: Tris tamponu içinde protein stabilizör ile alkalın fosfataz, inert kırmızı boya, koruyucu olarak sodyum tasit % 0,1 w/v),
3. Substrat tabletleri (Substrat tamponu ile çözmek üzere p-NitrophenylPhosphat (pNPP) tabletleri),
4. Substrat tampon solusyonu: Enzim ko-faktörleri ile dietanolamin tamponu,
5. Stop solusyonu: Dietanolamin tamponu içinde sodyum hidroksit,
6. Serum örneklerinin sulandırıcısı: Protein stabilizörlü ve koruyucu sodyum asitli fosfat tamponu,
7. Yıkama solusyonu: Tweenli toz halinde fosfat tampon solusyonu,
8. Negatif kontrol: Protein stabilizörlü ve koruyucu sodyum asitli fosfat tamponunda spesifik patojenlerden ari serum,
9. Pozitif kontrol: Protein stabilizörlü ve koruyucu sodyum asitli fosfat tamponunda spesifik *M. gallisepticum*/*M. synoviae* antikorları.

### **2. 2. 1. 2. Testin Yapılışı**

Analizi yapılacak serum örneklerinin bilgisayar girişleri yapıldıktan sonra, pleytler, tavuk serumları ELISA test kiti oda ısısına gelinceye kadar (yaklaşık 22-24 °C) yaklaşık bir saat bekletildi. Tavuk serum örnekleri 1/500 oranında sulandırıldı. ELISA aşağıdaki gibi gerçekleŐtirildi:

\*A1 ve B1 kuyucuklarına negatif kontrol, C1 ve D1 kuyucuklarına pozitif kontrol serumları 100'er µl konuldu.



**Şekil 2. 1.** ELISA pozitif ve negatif kontrollerinin pleytte görünümü

Diğer kuyucuklara 1/500 oranında sulandırılmış serum örnekleri 100'er µl olacak şekilde *M. gallisepticum*/*M. synoviae* antijeni ile kaplanmış playtlere ayrı ayrı usulüne uygun olarak eklendi.

Pleyt oda ısısında, analiz masasının üstüne temas etmeyecek şekilde, hava sirkülasyonu sağlanmış biçimde 30 dakika bekletildi. Böylece, serum örneklerinde *M. gallisepticum*/*M. synoviae* antikorunun bulunması durumunda pleyt kuyucuklarındaki *M. gallisepticum*/*M. synoviae* antijenlerine bağlanarak, antijen-antikor komplekslerinin oluşmasına olanak sağlandı.

\*Yukarıdaki işlem devam ederken kullanılacak kadar konjugat çıkartılıp oda ısısında bekletilmesi sağlandı.

\*Pleyt ters çevrilip hızlı bir şekilde boşaltılarak 4 kez yıkama solüsyonu, herbir kuyucuk için en az 350 µl yıkama solüsyon ile kuyucukların içlerinin iyice yıkanması sağlandı. Pleytler ters çevrilip kurutma kâğıdı ile dövülerek ve bastırılarak kurutuldu. Bu işlem esnasında pleytin arkasına el ile temas edimemesine özen gösterildi. Pleytin yıkanması sonucunda nonspesifik antikorlar ve diğer serum proteinleri ortamdaki uzaklaştırıldı. Pleytlerin herbir kuyucuğuna 100'er µl konjugat eklenerek oda ısısında 30

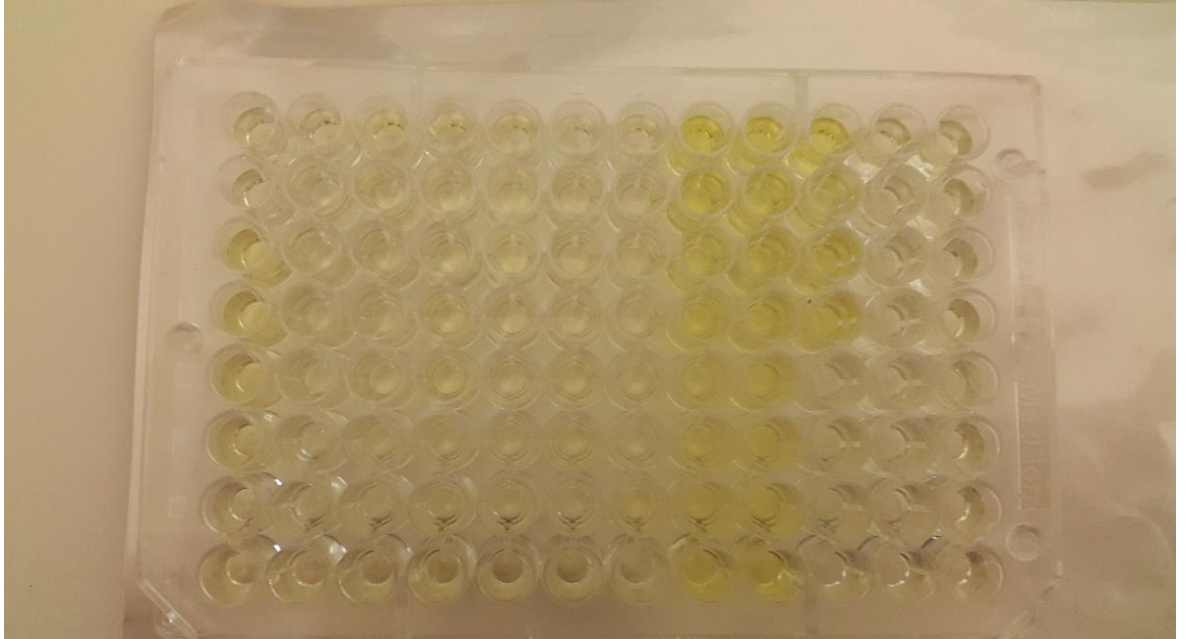


dakika bekletildi. Böylece enzimle işaretli konjugatın orijinal tavuk *M. gallisepticum*/*M. synoviae* antikorlarına bağlanması sağlandı.

\*Yukarıdaki işlem esnasında 1 pleytlik olan 11 ml substrat tampon solüsyonuna 2 tane substrat tableti eklenip karanlık ortamda bekletilerek karışması sağlandı.

\*Otuz dakika sonunda pleytler ters çevrilip hızlı bir şekilde boşaltıldı. Tekrar herbir kuyucuk 4 kez, herbir kuyucuk için 350 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu yıkama işlemi ile *M. gallisepticum*/*M. synoviae* antikorlarına bağlanmayan konjugat ortamdaki uzaklaştırıldı. Yıkama işleminin ardından sonra tekrar pleyt bastırılıp kurutulmuş her kuyucuğa 100 µl substrat eklenerek, 15 dakika oda ısısında bekletildi.

\*On beş dakika sonunda reaksiyonun durdurulması için her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde stop solüsyonu eklendi. Oluşan sarı rengin, serum örneklerindeki antikor miktarına bağlı olarak değişik yoğunluklar gösterdiği görüldü.



**Şekil 2. 2.** Çalışılan bir ELISA pleytinde substrat aşaması sonrası oluşan renk değişikliklerinin görünümü

### 2. 2. 1. 3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Testi değerlendirmek ve antikor titrelerini hesaplamak için oluşan rengin optik yoğunluğu ELISA okuyucusunda (Biotek Absorbance Microplate Reader, ELx808) okundu.

Aşısız damızlıkların yumurtalarından elde edilmiş olan broyler ve yumurtacı tavuk serumlarına ait ELISA sonuçları ve antikor titreleri ELISA kitini üreten Biochek Firması'na ait yazılım programı ile hesaplandı. Üretici firmanın öngördüğü üzere, testin geçerli olması için ortalama negatif kontrol absorbansı 0,30'un altında ve ortalama negatif kontrol ile ortalama pozitif kontrol farkının 0,15'ten büyük olması gerekmektedir. Serum numunelerindeki antikorların rölatif miktarları, pozitif kontrol referans alınarak, örneğin optik değerinin pozitif kontrolün optik değerine oranı (S/P oranı) şeklinde hesaplandı.

S/P oranının hesaplanması:

S: (Örneklerin optik yoğunluk ortalaması-Negatif kontrolün optik yoğunluk ortalaması)

P: (Pozitif kontrolün optik yoğunluk ortalaması-Negatif kontrolün optik yoğunluk ortalaması)

Test prosedürüne göre, S/P oranı 0,500 veya daha büyük olan numunelerin anti- *M. gallisepticum* ve anti- *M. synoviae* antikorları içerdiği ve pozitif olduğu kabul edildi.

*M. gallisepticum* için antikor titresinin hesaplanması:

(Aşağıdaki formül 1/500 sulandırılmış bir örneğin S/P değerinin en yüksek titreye oranı ile ilişkisini göstermektedir.)

$$\text{Log10 Titre} = 1,1 * (\text{Log10 S/P}) + 3,156$$

*M. synoviae* için antikor titresinin hesaplanması:

(Aşağıdaki formül 1/500 sulandırılmış bir örneğin S/P değerinin en yüksek titreye oranı ile ilişkisini göstermektedir.)

$$\text{Log10 Titre} = 1,27 * (\text{Log10 S/P}) + 3,156$$

Antilog = Titre değeri (1/500 sulandırmasındaki bir örneğin)

**Çizelge 2. 2. *M. gallisepticum* için S/P oranı, titre ve antikor durumu**

S/P Oranı	Titre	Antikor Durumu
0,349 veya daha düşük	450 veya daha düşük	Negatif
0,350 ile 0,500	451-667	Şüpheli
0,500 veya daha büyük	668 veya daha büyük	Pozitif

**Çizelge 2. 3. *M. synoviae* için S/P oranı, titre, antikor durumu**

S/P Oranı	Titre	Antikor Durumu
0,350 veya daha düşük	378 veya daha düşük	Negatif
0,350 ile 0,499	379-593	Şüpheli
0,500 veya daha büyük	594 veya daha büyük	Pozitif

Tüm S/P, titre ve genel sürü profili değerleri üretici firmanın özel bilgisayar programı (BioChek Software Programme, Gouda, Hollanda) kullanılarak hesaplandı. Üretici firmanın bildirdiğine göre aşısız hayvanlarda antikor titre değerleri *M. gallisepticum* için 668 veya daha büyük, *M. synoviae* için 594 veya daha büyük olası alınan serumlarda antikor durumunun pozitif olduğunu göstermektedir.

### 2. 2. 2. İstatistiksel Değerlendirme

İzmir, Manisa ve Aydın illerindeki aşısız 700 broyler tavukta *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranlarının gruplar arası istatistiksel karşılaştırılması için Ki-Kare testi (Steel ve Torrie 1980) kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak yapıldı (Özdamar 2004, SPSS 1999). Gruplar arası farklılıklar için aynı paket programın ilgili modüllerinden yararlanıldı.

### 3. BULGULAR

#### 3. 1. Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın İlleri' ndeki kümeslerde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranları

Çalışmada İzmir, Manisa ve Aydın İlleri'ndeki 700 broyler ve Denizli İli'nden alınan 360 yumurtacı tavuk kan serumundaki *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* antikorı seropozitiflik oranları sırası ile Çizelge 3. 1. ve 3. 2.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3. 1.** Broyler kümeslerindeki *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranları

	n	<i>M. gallisepticum</i>			<i>M. synoviae</i>		
		Pozitif	Negatif	%	Pozitif	Negatif	%
<b>İzmir</b>	<b>313</b>	18	295	5,7 <sup>c</sup>	176	137	56,2 <sup>b</sup>
<b>Manisa</b>	<b>226</b>	146	80	<b>64,6<sup>a</sup></b>	165	61	<b>73,0<sup>a</sup></b>
<b>Aydın</b>	<b>161</b>	21	140	13,0 <sup>b</sup>	81	80	50,3 <sup>b</sup>
<b>Toplam</b>	<b>700</b>	185	515	26,4	422	278	60,2
		X <sup>2</sup> =2,53; P<0,001			X <sup>2</sup> =24,12; P<0,001		

a,b,c: Aynı sütunda farklı üstel ifade taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

Çizelge 3.1'de görüldüğü gibi, daha önce aşılammış broyler kümeslerde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* antikor varlığı saptandı. Her üç ildeki aşısız 700 broylerin %26,4'ü *M. gallisepticum*, %60,2'si ise *M. synoviae* antikorları yönünden pozitif olarak tespit edildi. İllere göre *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* ait seropozitiflik oranları arası fark istatistiksel olarak önemli (P<0,001) bulundu. *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* yönünden incelenen iller arasında seropozitiflik açısından en yüksek değere sahip ilin Manisa (sırası ile %64,6 ve %73,0) olduğu belirlendi.

**Çizelge 3. 2.** Yumurtacı kümeslerdeki *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranları

	<i>M. gallisepticum</i>			<i>M. synoviae</i>			
	n	Pozitif	Negatif	%	Pozitif	Negatif	%
<b>Denizli</b>	360	234	126	65,0	298	62	82,7

Denizli İli'ndeki yumurtacı kümeslerde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'e ilişkin seropozitiflik durumunun sırasıyla %65,0 ve %82,7 gibi yüksek bir oranda olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre toplam 60 kümesin tamamının (%100) hem *M. gallisepticum* hem *M. synoviae* yönünden antikor pozitif bulundu. Üretim şekline göre yapılan değerlendirmede broylerlerden alınan 700 serum örneğinin %26,4'ünün *M. gallisepticum*, %60,2'sinin *M. synoviae*; yumurtacı tavuklardan alınan 360 serum örneğinin %65,0'inin *M. gallisepticum*, %82,7'sinin *M. synoviae* antikorları yönünden seropozitif olduğu belirlendi. Serum bazında değerlendirildiğinde ise broyler ve yumurtacıardan alınan toplam 1060 serum örneğinin 419'unun (%39,5) *M. gallisepticum*, 720'sinin (%67,9) *M. synoviae* seropozitif olduğu belirlendi.

### **3. 2. Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın İlleri' ndeki kümeslerde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranlarının birbiriyle ilişkisi**

Toplam 60 broyler ve yumurtacı kümeden alınan 1060 kan serumu örneğinin *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranlarının birbirlere ile karşılaştırılması Çizelge 3. 3.'de verilmiştir.

**Çizelge 3. 3.** Yumurtacı ve broyler kümeslerindeki *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranlarının birbiriyle karşılaştırılması

Toplam Broyles				Toplam Yumurtacı					
		MS		TOPLAM			MS		
		+	-				+	-	
		(%)	(%)			(%)	(%)		
MG	+	<b>105</b> (15,0)	80 (11,5)	185 (26,5)	MG	+	<b>201</b> (55,8)	33 (9,2)	234 (65,0)
	-	317 (45,3)	<b>198</b> (28,2)	515 (73,5)		-	97 (26,9)	<b>29</b> (8,1)	126 (35,0)
TOPLAM		422 (60,3)	278 (39,7)	700 (100,0)	TOPLAM		298 (82,7)	62 (17,3)	360 (100,0)
				$X^2=1,31; P>0,05$					
						$X^2=4,56; P>0,05$			

Çizelge 3. 3’de görüldüğü üzere, *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* açısından seropozitiflik durumları açısından broyler kümesler arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilirken ( $P>0,05$ ); yumurtacı kümesler arasında önemli farklılıkların bulunduğu saptanmıştır ( $P<0,05$ ).

Hem *M. gallisepticum* hem *M. synoviae* yönünden seropozitiflik oranı broylerlerde %15 (105’i), yumurtacılar da %55,8 (201’i) olarak tespit edilirken, seronegatiflik oranı broylerlerde % 28,2 (198’i), yumurtacılar da %,8,1 (29’u) olarak belirlenmiştir.

### 3. 3. Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın İlleri’ndeki kümeslerde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* ortalama antikor titreleri

Broyler ve yumurtacı kümeslerden alınan 1060 serum örneğinin *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* yönünden titrelerin karşılaştırması Çizelge 3. 4’ de verilmiştir.

**Çizelge 3. 4.** *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* infeksiyonlarında titrelerin karşılaştırması

	Toplam Broyler		Toplam Yumurtacı	
	n	Ortalama Titre	n	Ortalama Titre
<i>M. gallisepticum</i>	700	1319	360	1855
<i>M. synoviae</i>	700	1988	360	2884

İzmir ve çevre illerde broyler kümeslerinden alınan 700 serum örneğindeki ortalama antikor titresi *M. gallisepticum* yönünden 1319, *M. synoviae* yönünden 1988 olarak tespit edilirken; yumurtacı kümeslerden alınan 360 serum örneğindeki ortalama antikor titresi *M. gallisepticum* yönünden 1855, *M. synoviae* yönünden 2884 olarak belirlenmiştir.

## 4. TARTIŞMA

Tavuklarda görülen en önemli mikoplazma etkenlerinden olan *M. gallisepticum* “Kronik Solunum Yolu” infeksiyonuna; *M. synoviae* ise “Tenosynovitis” ve “Airsacculitis” tablolarına sebep olmaktadır. Bu hastalıklarda klinik semptomların gözlemlendiği vakaları tespit etmek kolay olmasına rağmen; subklinik kanatlıların bulunduğu kümeslerin izlenmesinde serolojik tekniklerden sıkça faydalanılmaktadır (Çarlı 2008). Kanatlı mikoplazma infeksiyonları, hem ekonomik kayıpları hem koruma kontrol önlemleri yönünden değerlendirildiğinde, üzerinde en çok durulması gereken infeksiyonlardandır. Damızlıklarda görülen *M. gallisepticum* infeksiyonu, verim ve kuluçka randımanında düşmeye neden olmaktadır. Bu damızlıklardan elde edilen civcivlerde görülen verim kayıpları üçüncü haftadan sonra ortaya çıkmakla birlikte, komplike vakalarda artan ölüm oranı ile kendini göstermektedir (Akan 2008). Mikoplazma kontrol programlarının oluşturulmasında kullanılacak testin belirlenmesi en önemli aşamadır. Serolojik tekniklerden ELISA yaygın olarak laboratuvarlarda tarama testi olarak kullanılmaktadır. Damızlık sürüler ve bu sürülerin civcivlerinin mikoplazma infeksiyonları gibi vertikal bulaşan hastalıklardan arı olup olmadıklarının periyodik olarak incelenmesi, böylece ülke genelinde infeksiyon durumu hakkında bilgi sahibi olunması sektör açısından oldukça önemlidir (Dakman 2008). Bu çalışmada, Türkiye’nin batısındaki bazı illerde broyler etlik civciv ve yumurtacı tavuklarda görülen *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* infeksiyonlarının ELISA ile varlığının ve yaygınlığının tespit edilmesi amaçlanmıştır

*M. gallisepticum*’un kanatlılarda neden olduğu Kronik Solunum Sistemi Hastalığı genel olarak solunum sistemi bozuklukları ile seyreder. Hastalık ülkemizde özellikle büyük ölçekli işletmelerde karkas ağırlığında düşme ve yumurta veriminde azalmaya bağlı ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Yoder 1979). Kronik solunum yolu hastalığı tek başına önemli klinik ve patolojik bulgu oluşturmazken; işletmelerdeki stres faktörlerinin olumsuz etkileri, Newcastle veya Infeksiyöz Bronşitis gibi diğer infeksiyonlarla birlikte seyretmesi, canlı aşıların uygulanması, *E. coli* ile komplike olması gibi durumlar hastalığın şiddetini arttırmaktadır (Yoder 1979).



*M. synoviae* infeksiyonu çoğunlukla subklinik üst solunum yolu hastalığı olarak meydana çıkar ancak sinovitise de neden olabilmektedir. Ekonomik açıdan yumurta verimini, büyümeyi ve kuluçka randımanını düşürmesi önemli faktörlerdir. Diğer taraftan, aerosakkulitis ve artrit lezyonları nedeniyle karkas kalite ve miktarını etkilemektedir (Kleven 1997).

Dünyada yapılan çalışmalarda, ülkelere göre infeksiyonun yaygınlığı farklı oranlarla bildirilmiştir. Örneğin ABD'de yumurtacı sürülerin %50'den fazlasının infekte olduğu, dolayısıyla yumurta tavukçuluğunda *M. gallisepticum*'un endemik olduğu bildirilmektedir (Evans ve Rhorer 2004). Asya'da yapılan çalışmalarda *M. gallisepticum* prevalansı %17,2-%79,0 arasında (Malezya'da %17,2, Filipinlerde % 29,5-% 35,9, Japonya'da % 40, Kore'de % 20-% 67, Çin'de % 79) değişirken (Sato 1996); İran'da %10 (Payam Haghghi-Khoshkhou ve ark. 2011), Mısır'da %33,3 (Osman ve ark. 2009) olarak bildirilmiştir. Brezilya'da yapılan çalışmada, 2001-2004 yılları arasında, ticari yumurtacılardan alınan örneklerin sadece 2'sinde %0,19 oranında *M. gallisepticum* pozitif bulunmuştur. Araştırmacılar, uzun yıllardan beri Brezilya'da uygulanan yoğun aşılama sonucu bu oranın düşük olduğunu iddia etmektedirler (Buim ve ark. 2009). Sırbistan'da *M. gallisepticum* prevalansının 2000 yılında %9,01 ve 2009 yılında %11,59 olduğunu bildirmişlerdir (Kapetanov ve ark. 2010).

Türkiye'de tavuklarda mikoplazma yaygınlığı ile ilgili çalışmalar sınırlı düzeydedir. Ülkemizde kronik solunum yolu infeksiyonu varlığı ilk kez 1956 yılında Özkal tarafından bildirilmiştir (Anonim 3). Yapılan serolojik çalışmalarda genellikle lam aglütinasyon testi kullanılmış ve yörelere göre farklı oranlar elde edilmiştir. Ankara'da %20,22 (Esendal 1991), Bursa'da % 48,4 (Ülgen 1991), Konya'da %60,6 (Güler 1992) ve %42,3 (Gürbüz 1998) olarak bildirilmiştir. Akan ve ark. (2008), yapmış oldukları serolojik ve moleküler incelemede 43 broyler damızlık işletmesinin %16,3'ünü *M. gallisepticum*, %20,9 *M. synoviae* pozitif olarak bildirmişlerdir. 2008 yılında yapılan başka bir çalışmada; yumurtacı kümeslerde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* varlığının polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmesi amacıyla, 15 farklı kümeden 365 sıvap alınmıştır. Kültürde üç *M. gallisepticum* saptanırken; *M. synoviae* pozitif örnek bulunmamıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu ile 9 (%2,46) *M. gallisepticum* pozitif, 3 (%0,82) *M. synoviae* pozitiflik saptanmıştır (Gürbüz 2008). 2012 verilerine göre; Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü'nün ticari yumurtacılardan %12,5, Konya VKE %9,6, Etlik VKMAE %24,2

serumun pozitif bulunduğu bildirilmektedir (Anonim 3). Bu alışmada Türkiye'nin batısında bulunan ve kanatlı sektöründe önemli yeri olan Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın İlleri'ndeki broyler ve yumurtacılarından alınan toplam 1060 serum örneğinin 419'u (%39,5) *M. gallisepticum*, 720'si (%67,9) *M. synoviae* seropozitif olarak belirlenmiştir. Yukarıda bildirilen çalışmalarda *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranlarının çalışmanın yapıldığı coğrafi bölgelere göre farklılık gösterdiği ve değişik oranlarda seropozitiflikler belirlendiği görülmektedir.

Yapılan alışmalar kanatlılarda mikoplazma infeksiyonlarının yaygınlığını ortaya koymakla birlikte; tahminlerin aksine *M. synoviae* infeksiyonlarının prevalansının daha yüksek olduğunu ortaya karmıştır. Örneğin Amerika-Kaliforniya'da yapılan bir çalışmada serum ve yumurta sarısı örnekleri incelenmiş *M. gallisepticum* prevalansı güneyde %73 iken, merkezde %3; *M. synoviae* prevalansı ise güneyde %91 iken, merkezde %32 olarak belirlenmiştir (Mohammed ve ark. 1985). 2009 yılında Merkez ve Pendik Veteriner Kontrol ve diğer araştırma ensittlerinin ortaklaşa yaptıkları bir çalışmada incelenen damızlık işletmelerin tamamının *M. gallisepticum* negatif, %8,1'inin ise *M. synoviae* pozitif olduğunu bulunmuştur. Ayrıca bakteriyolojik kültür yöntemleri ile hem *M. gallisepticum* hem *M. synoviae* yönünden ekimler yapılmış sadece bir (%2,5) işletmenin iki kümesinden *M. synoviae* izolasyonu gerçekleşmiştir (Dakman ve ark 2009). Bu çalışmada, benzer şekilde incelenen illerde hem broylerlerde hem yumurtacılarında *M. synoviae* seroprevalansının *M. gallisepticum*'dan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmamız İzmir, Denizli, Manisa ve Aydın İlleri'nde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'nın serolojik varlığının hızlı bir şekilde tespiti konusunda yapılmış ilk saha tarama çalışmadır ve bu yörelerdeki *M. synoviae* ile *M.gallisepticum* infeksiyonlarının yaygınlığı hakkında bilgi vermektedir. Çalışma sonuçlarına göre mikoplazma infeksiyonlarına karşı yeterli mücadele yapılmadığı ve özellikle *M. synoviae* seropozitiflik oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Daha kapsamlı bakteriyolojik ve molekuler araştırmaların yapılıp, uygun aşılama ve korunma tekniklerinin geliştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada, kanatlı sektöründe önemli solunum sistemi semptomlarına ve verim kayıplarına yol açan mikoplazma infeksiyonlarının Türkiye'nin batısındaki bazı illerde (Denizli, İzmir, Manisa, Aydın) broyler ve yumurtacı tavuk kümeslerindeki varlığı ve yaygınlık durumu ELISA kiti kullanılarak (*M. gallisepticum* Kit ve *M. synoviae* test Kit, BioChek, Gouda, Hollanda) incelenmiş; 1060 serum örneğinin %39,5'u (419 serum) *M. gallisepticum*, %67,9'si (720 serum) *M. synoviae* seropozitif olarak belirlenmiştir. *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* açısından seropozitiflik durumları açısından broyler kümesler arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilirken ( $P>0,05$ ); yumurtacı kümesler arasında önemli farklılıkların bulunduğu saptanmıştır ( $P<0,05$ ). Hem *M. gallisepticum* hem *M. synoviae* yönünden seropozitiflik oranı broylerlerde %15 (105'i), yumurtacılar da %55,8 (201'i) olarak saptanırken, seronegatiflik oranı broylerlerde % 28,2 (198'i), yumurtacılar da %,8,1 (29'u) şeklinde tespit edilmiştir.

Geçmiş yıllarda *M. gallisepticum*'un gölgesinde kaldığı düşünülen ve genelde subklinik seyreden *M. synoviae*'nin seropozitiflik oranının *M. gallisepticum*'a göre çok daha yüksek çıktığı görülmüştür. Hastalıktan kaynaklanan ekonomik kayıpları en aza indirmede vertikal bulaşma riskine karşın öncelikle broyler ve yumurtacı damızlık kümeslerde "Mikoplazma Kontrol Programları"nın oluşturulması önerilmektedir. Bu kapsamda damızlık sürüler belli aralıklarla izlenmeli, ticari işletmelerde infeksiyonu özellikle ilk aşamada yakalayabilmek için en fazla 4-6 hafta aralıklarla taramalar yapılmalı, biyogüvenlik uygulamaları eksiksiz yerine getirilmeli, infeksiyon olduğu belirlenen kanatlılar tedavi edilmeli ve son olarak mikoplazma infeksiyonlarının aşılama programlarına eklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

## ÖZET

### **Kanatlı Kan Serumlarında *Mycoplasma gallisepticum* Ve *Mycoplasma synoviae* Antikorlarının ELISA İle Tespiti**

Bu çalışmada Denizli, İzmir, Manisa ve Aydın İlleri'ndeki broyler civciv ve yumurtacı tavuklarda *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* infeksiyonlarının serolojik olarak varlığının ve yaygınlığının tespit edilmesi amaçlandı. Çalışma materyalini, aşısız Ross 308 broyler ve Brown Nick yumurtacı tavuklardan, tesadüfi örnekleme yolu ile 60 kümeden alınan toplam 1060 kan örneği (700 broyler ve 360 yumurtacı ) oluşturdu. Serum örneklerinde *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'e karşı spesifik antikor varlığı ve antikor titreleri ayrı ayrı olarak ELISA kiti (*M. gallisepticum* Kit ve *M. synoviae* test Kitleri, BioChek, Gouda, Hollanda) ile incelendi. Antikor titreleri ELISA kitini üreten Biochek Firması'na ait yazılım programı ile hesaplandı. İzmir, Manisa ve Aydın İlleri'ndeki 700 broyler tavukta *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* seropozitiflik oranlarının gruplar arası istatistiksel karşılaştırılması için Ki-Kare testi kullanıldı. Her üç ildeki 700 broylerin %26,4'ü *M. gallisepticum*, %60,2'si *M. synoviae* antikorları yönünden pozitif olarak tespit edildi. İllere göre *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'ye ait seropozitiflik oranları arası fark istatistiksel olarak önemli ( $P<0,001$ ) bulundu. *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* yönünden incelenen iller arasında seropozitiflik açısından en yüksek değere sahip ilin Manisa olduğu belirlendi. Çalışma sonuçları alınan serumlara göre değerlendirildiğinde: broyler ve yumurtacılar arasında alınan toplam 1060 serum örneğinin 419'u (%39,5) *M. gallisepticum*, 720'si (%67,9) *M. synoviae* seropozitif olarak belirlendi.

Bu sonuçlar, işletmelerde özellikle *M. synoviae* infeksiyonlarının yaygın olarak görüldüğünü ortaya koydu. İşletmelerde mikoplazma negatifliğinin belirlenmesi amacı ile tarama testlerinin belirli aralıklarla yapılması ve "Mikoplazma Kontrol Programları"nın oluşturulması gerektiği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** *M. gallisepticum*, *M. synoviae*, kanatlı, ELISA, seroprevalans

## SUMMARY

### **The Determination of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* Antibodies in Poultry Blood Sera with ELISA**

The determination of the presence and the prevalence of *M. gallisepticum* and *M. synoviae* infections in broiler and layer poultry houses at around Denizli, İzmir, Manisa, and Aydın provinces was aimed in this study. The material was consisted of 1060 blood samples (700 broiler and 360 layer chickens) that had been randomly collected from 60 poultry houses rearing Ross 308 and Brown Nick chickens with no vaccines. The presence of specific antibody and antibody titers for *M. gallisepticum* and *M. synoviae* in sera samples were separately investigated with ELISA (BioCheck, Gouda, Holland). Antibody titers were calculated with a software provided by BioCheck. Chi-Square test was used for seropositivity ratio comparisons between groups. For all broilers in three provinces, seropositivity ratio for *M. gallisepticum* and *M. synoviae* was found as 26,4% and 60,2%, respectively. Seropositivity ratios of these provinces were showed statistically significant differences ( $P < 0,001$ ). It was determined that Manisa has the highest seropositivity ratio among all provinces. On the other hand, seropositivity ratios for all sera samples (for both broiler and layer poultry houses) were found as 39,5% and 67,9% for *M. gallisepticum* and *M. synoviae*, respectively.

It concluded that *M. synoviae* infection was common in these farms. For further investigations, it was recommended that related tests should be used for detection of mycoplasma negativity and Mycoplasma Control Programs should also be formed.

**Key Words:** *M. gallisepticum*, *M. synoviae*, poultry, ELISA, seroprevalance

## KAYNAKLAR

Akan M. Tavuklarda Mikoplazma İnfeksiyonları: Koruma ve Kontrol. Veteriner Tavukçuluk Derneği Mektup Ankara, 2008; 6: 21-24.

Anonim 1. Avian Mycoplasmosis

Erişim Adresi:

[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.03.05\\_%20AVIAN\\_MYCO.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.05_%20AVIAN_MYCO.pdf)

Erişim Tarihi: 01. 06. 2015

Anonim 2. Kuluçkahane ve Damızlık Kanatlı İşletmeleri Yönetmeliği Uygulama Talimatı, 2007.

Anonim 3. *M. gallisepticum*, *M. synoviae* İnfeksiyonu

Erişim adresi: [www.protekt.com.tr/.../AVIAN\\_MYCOPLASMA\\_Guney\\_bey.ppt](http://www.protekt.com.tr/.../AVIAN_MYCOPLASMA_Guney_bey.ppt)

Erişim Tarihi: 27. 04. 2015

Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Yardımcı H, Esenal ÖM, Erdeğer J, Akan M. Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara, 2002.

Buim MR, Mettifogo E, Timenetsky J, Kleven S, Ferreira AJP. Epidemiological survey on *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* by multiplex PCR in commercial poultry. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2009; 29: 552-556.

Charlton BR, Bermudez AJ, Boulianne M, Eckroade RJ, Jeffrey JS, Newman LJ, Sander JE, Wakenell PS, In: Charlton BR, editor. *Avian Disease Manual*. Kennett Square, Pennsylvania, USA: American Association of Avian Pathologists 2009; 115-125.

Collett SR, Thomson AD, York A.D.B., Bisschop S.P.R. Floorpen study to evaluate the serological response of broiler breeder safter vaccination with TS-11 strain *Mycoplasma gallisepticum* vaccine. *Avian Diseases* 2005; 49: 133–137.

Çarlı T. Kanatlı Hayvanların İnfeksiyöz Hastalıkları. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 2003.

Çarlı T. Tavuklarda *Mycoplasma* İnfeksiyonlarında Real Time PCR ve *Mycoplasma gallisepticum* infekte sürülerin durumu. Veteriner Tavukçuluk Derneği Mektup Ankara 2008; 6: 3-5.

Dakman A, Günaydın E. Türkyılmaz MA, Güle. M, Coşar M, Özdemir Ü. Damızlık tavuk işletmelerinde tespit edilen mikoplazma infeksiyonları. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 2009; 20: 27–34.

Dakman A. Türkiye’de Damızlıklarda Mikoplazma İzleme Programı. Türkiyede Mikoplazma Mevzuatı ve Ülkemizde Yapılan Uygulamalar. Veteriner Tavukçuluk Derneği Mektup Ankara 2008; 6: 12-20.

Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS, Wood WB. Infecções bacterianas e micóticas. São Paulo (SP): EDART, 1973.

Delaplane JP, Stuart HO. The propagation of a virus in embryonated chicken eggs causing a chronic respiratory disease of chickens. American Journal of Veterinary Research 1943; 4: 325-332.

Esendal ÖM. Tavuklarda *Mycoplasma gallisepticum*’a karşı oluşan antikorların çeşitli serolojik yöntemlerle (lam aglutinasyon, hemaglutinasyon-inhibisyon, agar-jel presipitasyon, ELISA) saptanması ve sonuçlarının karşılaştırılması, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 1991.

Evans RD, Hafez YS. Evaluation of a *Mycoplasma gallisepticum* strain exhibit in greduced virulence for prevention and control of poultrymycoplasmosis. Avian Diseases 1992; 36: 197-201.

Evans JD, Leigh SA, Branton SL, Collier SD, Pharr GT, Bearson SMD. *Mycoplasma gallisepticum*: current and devoloping means to control the avian pathogen. Poultry Science 2005; 14: 757-763.

Fabienne D, Alexandra D, Corinne M, Kempf I. Epidemiological study on *Mycoplasma synoviae* infection in layers. *Veterinary Microbiology* 2006; 114: 148-154.

Feberwee A, Mekkes D.R, de Wit JJ, Hartman EG, Pijpers A. Comparison of culture, PCR, and different serologic tests for detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infections. *Avian Diseases* 2005; 49, 260-268.

Ferguson NM, Leiting VA, Kleven SH. Safety and efficacy of the avirulent *Mycoplasma gallisepticum* strain K5054 as a livevaccine in poultry. *Avian Diseases* 2004; 48: 91-99.

Ferguson N, Cookson K, Laibinis V, Kleven SH. The efficacy of Three commercial *Mycoplasma gallisepticum* vaccines in laying hens. *Avian Disease* 2012; 56: 272-275.

Freundt EA. Culture media for classic mycoplasmas. In: *The Mycoplasmas*, Vol. 1, Razin S, Tully JG. Academic Press, New York, USA and London, UK. 1983 1; 127–135.

Frey ML, Hanson RP, Anderson DPA. Medium for the isolation of avian mycoplasmas. *American Journal of Veterinary Research* 1968 29; 2163-2171.

Gharaibeh S, Al-Rashdan M. Change in antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma gallisepticum* field isolates. *Veterinary Microbiology* 2011 150; 379-383.

Gökçelik G. Mikoplazma infeksiyonlarının teşhisi ve serolojik izleme programlarının önemi. *Veteriner Tavukçuluk Derneği Mektup Ankara* 2008; 6, 6-11.

Güler L. Konya bölgesindeki kümes hayvanlarında serolojik yoklamalarla müspet bulunan CRD vakalarından etken izolasyon çalışmaları. *Uzmanlık Tezi Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya*, 1992.

Gürbüz E. Tavuklarda *Mycoplasma gallisepticum* ve *Mycoplasma synoviae* 'nın Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Kullanımı Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2008.



Javed MA, Frasca S, Rood D, Cecchini K, Gladd M, Geary SJ. Correlates of immune protection in chickens vaccinated with *Mycoplasma gallisepticum* strain GT5 following challenge with pathogenic *M. gallisepticum* strain R(low). *Infection and Immunity* 2005; 73: 5410-5419.

Jones JF, Whithear KG, Scott PC, Noormohammadi AH. Duration of immunity with *Mycoplasma synoviae*: comparison of the live attenuated vaccine MS-H (Vaxsafe MS) with its wild-type parent strain, 86079/7NS. *Avian Diseases* 2006; 50: 228-231.

Jordan FTW, Pattison M. *Poultry Diseases*. 4. Ed. Saunders Company Ltd, London, 1996.

Kapetanov M, Orlic D, Potkonjak D, Velhner M, Stojanov I, Milanov D, Stojanovic D. *Mycoplasma* in poultry flocks in the year 2009 compared to the year 2000 and significance of the control measures. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara* 2010; 1: 249- 253.

Kleven SH, Rowland GN, Olson NO. *Mycoplasma synoviae* infection. In: Calnek BW, Burnes HJ, Beard CW, Yoder Jr. HW, editors. *Diseases of Poultry*. Ames, Iowa, USA. Ames: Iowa State University Press; 1991; 9th, p: 223-31.

Kleven SH. Mycoplasmosis. In: *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*. Fourth Ed., Ed: Swayne, D.E. American Association of Avian Pathologists Pennsylvania, 1998; USA, 3th, 74-80.

Kleven SH, Fan HH, Turner KS. Pen trial studies on the use of live vaccines to displace virulent *Mycoplasma gallisepticum* in chickens. *Avian Diseases* 1998, 42: 300-306.

Kleven SH. *Mycoplasma synoviae* infection. In: *Diseases of Poultry*, Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR. & Swayne DE. eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 2003; 756– 766.

Kleven SH. Control of avian mycoplasma infections in commercial poultry. *Avian Diseases* 2008; 52: 367–374.

Landman WJ. Is *Mycoplasma synoviae* out running *Mycoplasma gallisepticum*? A view point from the Netherlands. GD-Animal Health Service, Deventer, the Netherlands, Avian Pathology 2014; 43: 2-8.

Levisohn S, Kleven SH. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties 2000; 19: 425-442.

Ley D L. *Mycoplasma gallisepticum* infection. In Diseases of Poultry, Edited by Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE. Ames, IA: Blackwell 2008; 807-834.

Markham FS, Wong SC. Pleuropneumonia-like organisms in the etiology of turkey sinusitis and chronic respiratory disease of chickens. Poultry Science 1952; 31: 902-904.

Mekkes DR, Feberwee A. Real-Time Polymerase chain reaction for the qualitative and quantitative detection of *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Pathology 2005; 34: 348-354.

Mohammed HO, Carpenter TE, Yamamoto R, McMartin DA. Prevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* in commercial layers in southern and central California. Avian Diseases 1985; 30: 519-526.

Nascimento ER, Yamamoto R, Herrick KR, Tait RC. Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Diseases 1991; 35: 62-69.

Nascimento ER. Mycoplasmoses. In: Macari M, Berchieri Jr. A, editores. Doenças das aves. Campinas: FACTA 2000; p: 217-24.

Nicholas RAJ, Ayling RD, McAuliffe L. Vaccines for mycoplasma diseases in animals and man. Journal of Comparative Pathology 2009; 90-91.

Noormohammadi AH, Jones JF, Harrigan KE, Whithear KG. Evaluation of the non-temperature-sensitive field clonal isolates of the *Mycoplasma synoviae* vaccine strain MSH. Avian Diseases 2003; 47, 355-360.

Olson NO, Shelton DC, Bletner JK, Munro DA, Anderson GC. Studies of infectious synovitis in chickens. *American Journal of Veterinary Research* 1956; 17: 747-54.

Osman KM, Aly MM, Amin ZM, Hasan BS. *Mycoplasma gallisepticum*: an emerging challenge to the poultry industry in Egypt. *Revue scientifique et technique* 2009 28: 1015-23.

Özdamar K. Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizi. 5. Baskı. Eskişehir: Kaan Kitabevi. 2004.

Pakpinyo S, Sasipreeyajan J. Molecular characterization and determination of antimicrobial resistance of *Mycoplasma gallisepticum* isolated from chickens, *Veterinary Microbiology* 2007; 125: 59-65.

Papazisi L, Frasca S, Gladd M, Liao X, Yogev D, Geary SJ. GapA and CrmA coexpression is essential for *Mycoplasma gallisepticum* cytoadherence and virulence. *Infection and Immunity* 2002; 70: 6839-6845.

Payam Haghghi-Khoshkhou, Gita Akbariazad, Masood Roohi, Javad Inanlo, Mehran Masoumi and Pedram Sami-Yousefi. Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in the commercial layerflocks of the Centernorth of Iran. *Journal of Microbiology Research* 2011; 5: 2834-2837.

Razin S, Yogev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62, 1998; 1094-1156.

Rhorer AR. USDA, APHIS, National Poultry Improvement Plan, Conyers, GA. Personal communication, 2002.

Sareyupoğlu B. Kanatlı Hastalıkları. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Teşhiste Method Birliği, 2014.

Sato S. Avian mycoplasmosis in Asia. Zen-Noh Institute of Animal Health, Chiba, Japan 1996; 15: 1555-1567.

Stipkovits L, Kempf I. Mycoplasmoses in poultry. Scientific and Technical Review, Office International des Epizooties. 1996; 15: 1495-1525.

SPSS. Statistical Package for the Social Sciences, Release 10.0. Chicago, IL., USA: SPSS Inc. 1999.

Steel RGD, Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach, 2nd Ed. New York. 1980.

Talkington FD, Kleven SH. A classification of laboratory strains of avian *Mycoplasma* serotypes by direct immunofluorescence. Avian Diseases 1983; 27: 422–429.

Ülgen M, Kanatlıların Kronik Solunum Yolu enfeksiyonu üzerinde karşılaştırılmalı bakteriyolojik ve serolojik araştırmalar. U.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, Bursa, 1991.

Whithear KG, Soeripto S, Harrigan KE, Ghiocas E. Immunogenicity of a temperature sensitive mutant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine. Australian Veterinary Journal 1990; 67: 168-174.

Whithear KG. Control of avian mycoplasmoses by vaccination. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties. 1996; 15: 1527-1553.

Yoder JR HW. *Mycoplasma gallisepticum* infection. In: Calnek BW, Burnes HJ, Beard CW, Yoder Jr HW, editors. Diseases of Poultry. Ames, Iowa, USA. Ames: Iowa State University Press 1991; p: 198-212.

## ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Bursa’da doğdu. İlk ve orta öğrenimi sonrasında Bursa Erkek Lisesine yerleşti. Lisans eğitimini Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde 2007 yılında tamamladı. İş yaşamı öncesinde çeşitli tavukçuluk işletmelerinde kısa süreli stajlar yaptı. Sonrasında CP tavukçuluk işletmesinde üç yıl süreyle damızlık sorumlusu olarak görev yaptı. 2011 yılından itibaren Abalıoğlu Yem-Soya Tekstil A.Ş.’ye ait “Kanatlı Hastalıkları Teşhis ve Analiz Laboratuvarı’nda” Veteriner Hekimlik görevini sürdürmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, tecrübesi ve sabrı ile bana destek olan danışman hocam Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ'a ve Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şükrü KIRKAN'a ve Anabilim Dalı'nın tüm diğer Öğretim Üyeleri'ne, desteklerini esirgemeyen aileme, eşime ve minik kızıma sonsuz teşekkür ederim.