

**KANATLI HAYVANLARDA MYCOPLASMA GALLISEPTICUM
VE MYCOPLASMA SYNOVIAE'YA KARŞI OLUŞAN
ANTİKORLARIN TESBİTİNDE SERUM LAM
AGLUTİNASYON (SPA), HEMAGLUTİNASYON-İNİBİSYON
(HI) VE İMMUNOCOMB KATI-FAZ İMMUNOASSAY
YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**COMPARISON OF SERUM PLATE AGGLUTINATION (SPA),
HAEMAGGLUTINATION-INHIBITION (HI) AND
IMMUNOCOMB SOLID-PHASE IMMUNOASSAY METHODS IN
THE DETECTION OF ANTIBODIES PRODUCED IN CHICKENS
AGAINST MYCOPLASMA GALLISEPTICUM AND MYCO-
PLASMA SYNOVIAE**

*Ömer M.ESENDAL * Hakan YARDIMCI ** Nejat AYDIN ****

ÖZET

Bu çalışmada, kanatlı hayvanlarda Mycoplasma infeksiyonlarına karşı oluşan spesifik antikorların ortaya konulmasında rutin olarak kullanılan SPA ve HI testlerinin yanısıra, enzim immunoassay prensibine dayanan **ImmunoComb** test kitinin karşılaştırmalı olarak denenmesi ve rutin uygulamadaki öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır. Denemede kullanılan 70 adet tavuk serumu MG antikorları yönünden SPA testi ile incelendiğinde 26 serumun (%37.14) pozitif, 44'ünün ise (%62.86) negatif olduğu saptanmıştır. Öte yandan, MS antikorları yönünden 21 serumun (%30) pozitif, 49 serumun ise (%70) negatif olduğu görülmüştür. Aynı serumların HI testi ile incelenmesinde MG yönünden 15 adedinin (%21.43) pozitif ve 55 adedinin (%78.57) negatif olduğu; MS yönünden ise 23 serum (%32.86) pozitif ve 47 serum (%67.14) negatif olduğu saptanmıştır. MG yönünden IC ile incelenen serumların 20 adedinin (%28.57) pozitif ve 50 adedinin (%71.43) negatif sonuç verdiği; MS yönünden ise 25 adet serumun (%35.71) pozitif ve 45 adet serumun da (%64.29) negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. Her 3 testin karşılaştırılmasında pozitiflik ve negatiflik yönünden paralellik bulunduğu gözlenmiş özellikle, HI ile IC arasında bu paralelliğin çok

* *AÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA*

** *AÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA*

*** *AÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA*

daha dikkat çekici olduğu ve IC'un biraz daha duyarlı çalıştığı ortaya konmuştur. Bu nedenle, IC test kitinin pratikte uygulanabilir, duyarlı bir test olarak diğer konvansiyonel testlerle birlikte güvenle kullanılabilceği kanısına varılmıştır.

SUMMARY

In this study, the use, efficiency and reliability of **ImmunoComb** test kit, which works according to the enzyme immunoassay principle, together with other conventionally used serological tests, such as SPA and HI, were investigated in the detection of specific antibodies produced against Mycoplasma infections in poultry. SPA test results of 70 field sera revealed that, 26 (37.14%) were positive and 49 (70%) were negative for MS antibodies. In the HI test, 15 (21.43%) samples were found positive and 55 (78.57%) were negative for MG, and 23 (32.86%) samples were found positive and 47 (67.14%) were negative for MS, antibodies. On the other hand, IC test results showed that, 20 (28.57%) samples were positive and 50 (71.43%) samples were negative for MG, and 25 (35.71%) were positive and 45 (67.29%) were negative for MS antibodies. The comparison of these 3 tests indicated that, a good correlation existed among them, particularly, a more pronounced one between HI and IC tests, in the detection of specific antibodies, and IC test was slightly more sensitive than the other two. Therefore, it was concluded that, the IC test kit could be used conveniently, together with other conventional serological tests in the detection of specific antibodies produced against Mycoplasma infections in poultry.

GİRİŞ

Kanatlı hayvanlarda Mycoplasma infeksiyonları başta solunum sistemi bozuklukları olmak üzere çeşitli klinik semptomlara ve bunların yanında yumurta verim düşüklüğü, büyümede gecikme ve karkas telefati sonucunda tavukçuluk endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olur (5,33). Şu ana kadar bilinen yaklaşık 20 adet kanatlı Mycoplasma serotipinden sadece Mycoplasma gallisepticum (MG), M. synoviae (MS) ve M. meleagridis (MM) kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde potansiyel patojenler olarak kabul edilmektedirler. MG, tavuklarda Kronik Solunum Yolu Hastalığı (CRD) ve hindilerde İnfeksiyöz Sinüsitis; MS, tavuklarda İnfeksiyöz Sinovitis ve MM de, hindilerde hava kesesi yangısına neden olurlar (5,12,33).

Kanatlı hayvan sürülerinde MG ve MS infeksiyonlarının kontrol ve eradikasyon programlarının başarılı bir şekilde yürütülebilmesi için periyodik olarak uygulanan serolojik muayenelere gereksinim vardır. Kanatlı hayvanlarda MG

ve MS'ye karşı oluşan spesifik antikorlar serum lam aglutinasyon (SPA) (16,17,22,25), hemaglutinasyon-inhibisyon (HI) (8,9,23,24,32), agar jel presipitasyon (AGP) (6,15,25,26) ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (4,11,18,27,) gibi serolojik yöntemlerle saptanabilir.

Bir sürü tarama testi olarak kullanılan ve IgM grubu antikorları saptayan SPA testi çabuk, duyarlı ve kolay okunan bir test olmasına karşın, kontamine serumlar, dondurulmuş-çözdürülmüş serumlar, MS, S.aureus veya Str. faecalis ile infekte hayvan serumları ile Erysipelas bakterini veya kombine inaktif viral aşı verilmiş hayvanlarda non-spesifik reaksiyonlar meydana getirir (7,10,25,29). Daha çok bir doğrulama testi olarak kullanılan ve IgG yapısındaki antikorları saptayan HI testi ise, SPA'ya oranla daha zaman alıcı ve pahalı bir yöntem olmasına karşın, bir sürünün MG veya MS durumunu ortaya koymada ve MG ve MS ile infekte hayvanların ayırd edilmesinde oldukça duyarlı ve spesifik bulunmuştur (8,22,25,30,32). AGP testi, şüpheli serumlarda spesifik antikorların saptanmasından ziyade, izole edilen şüpheli kültürlerin identifikasyonunda daha duyarlı bulunmuştur (6,15,25,26). Antikorları saptamak amacı ile daha sonraları geliştirilen ELISA yöntemi ise, kullanılan spesifik IgG'ler nedeniyle MG ve MS antikorlarının saptanmasında diğer tüm testlere oranla çok daha spesifik bulunmuştur. Ancak, pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olmasından dolayı saha taramalarında fazla bir uygulama alanı bulamamıştır. (4,11,20,27,). Şu an için Mycoplasma infeksiyonlarının teşhis ve serolojik taramalarında saha koşullarında SPA ve laboratuvar koşullarında da HI testi rutin olarak kullanılmaktadır.

Son yıllarda geliştirilen, katı-faz immunoassay prensibine göre çalışan ImmunoComb test kiti, birçok bakteriyel ve viral etkene (brucella, chlamydia, mycoplasma, newcastle, infeksiyöz bronşitis, gumboro vs) karşı oluşan antikorların saptanmasında başarı ile kullanılmaya başlanmıştır. (2,3,21,28). İnaktive edilmiş MG ve MS antijenleri ile duyarlılaştırılmış ImmunoComb dişleri, her iki etkene karşı meydana gelmiş antikorların enzimimmunoassay yöntemiyle, aynı anda ve diferensiyel olarak saptanmalarına olanak tanır. İlave ekipman veya reaktif ihtiyacı duymadan saha veya laboratuvar koşullarında çalışabilecek şekilde dizayn edilmiş olan ImmunoComb test kiti, kan, serum veya yumurta sarısında bulunan spesifik antikorları 2 saat gibi oldukça kısa bir süre içerisinde ortaya koyabilmektedir (2,3).

Bu çalışmanın amacı, kanatlı hayvanlarda Mycoplasma infeksiyonlarına karşı oluşan spesifik antikorların ortaya konulmasında rutin olarak kullanılan SPA ve HI testlerinin yanısıra, enzim-immunoassay prensibi ile çalışan ticari ImmunoComb test kitinin de denenmesi, sonuçlarının karşılaştırılması ve bu yeni test kitinin rutin uygulamaya dahil edilip edilemeyeceğinin araştırılmasıdır.

MATERYAL VE METOT

Test serumları: Çalışmada, AÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na teşhis amacıyla getirilen 70 adet tavuk serumu MG ve MS antikorları yönünden SPA, HI ve ImmunoComb yöntemleri ile incelenmişlerdir.

Pozitif kontrol serumları: Çalışmada, test serumlarının MG ve MS antikorları yönünden SPA ve HI testleriyle incelenmesinde, AÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmış olan MG ve MS antiserumları, pozitif kontrol serumları olarak kullanılmıştır.

Negatif kontrol serumları: Çalışmada, Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü'nden temin edilen, MG ve MS yönünden SPA ve HI negatif olan SPF tavuk serumları, negatif kontrol serumları olarak kullanılmıştır.

Antijenler:

SPA antijeni: Test serumlarının SPA testi ile incelenmesinde Nobilis firması tarafından hazırlanmış boyalı *M.gallisepticum* ve *M.synoviae* ticari lam aglutinasyon antijenleri kullanılmıştır.

HI antijeni: Test serumlarının MG ve MS-HI titrelerini saptamada kullanılan antijen, MG-S6 ve MS-WVU 1853 standart suşlarından Adler ve Yamamoto'nun (1) bildirdikleri yöntemle göre laboratuvarında hazırlanmıştır.

ImmunoComb test kiti: Çalışmada, test serumlarının MG ve MS antikorları yönünden test edilmesinde Pethask firmasından (Kocaeli, Türkiye) temin edilen ve Biogal (Galed Lab., israil) firmasınca üretilmiş ticari ImmunoComb katı-faz immunoassay test kiti kullanılmıştır.

SPA testi: Test serumlarının incelenmesinde SPA testi Timms ve Cullen'in (29) bildirdikleri yöntemle göre yapılmış ve 2 dakika içinde meydana gelen kümelenmeler pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

HI testi: Bu test, Matsuo ve ark.'nın (14) bildirdikleri yöntemle göre mikropate'lerde yapılmıştır. Öncelikle, laboratuvarında hazırlanan antijenin HA titresini belirlenmiş ve bu titre 4HA ünitesinde sabit tutularak test serumlarına HI testi uygulanmıştır. Test sonucunda 1/80 veya daha yüksek serum titreleri MG ve MS yönünden pozitif; 1/40 titreler şüpheli ve 1/20 veya daha düşük titreler ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

ImmunoComb katı-faz immunoassay: Bu yöntem, üretici firmanın direktifleri doğrultusunda (3) kit içinde bulunan Gelişme Plağı'nda inaktive edilmiş MG ve MS antijenleri ile duyarlılaştırılmış ImmunoComb tarağı kullanılarak

uygulanmıştır. Gelişme plağında bulunan 6 bölmede (A-F), tarak üzerinde sırasıyla antijen-antikör kompleksi şekillenmesi; yıkama; konjugat bağlanması; yıkama; kromojenik reaksiyon ve şekillenen rengin tesbit edilmesi. işlemleri gerçekleştirilmiş ve sonunda tarak havada kurutulmuştur.

Sonuçların okunması: Tarak dişleri üzerindeki antijen emdirilmiş bölgelerde mavi renkli noktaların oluşması, antijen ile antikör arasında bir kompleks oluştuğunu enzimatik olarak ortaya koymuştur. Tarakta bulunan 11 no'lu diş (c+) üzerinde altı üstlü 2 mavi noktanın şekillenmesi, MG ve MS'ye karşı serumda spesifik antikörlerin varlığını gösterir. Öte yandan, 12 no'lu diş (C-) üzerinde hiçbir renk noktasının görülmemesi ise serumda spesifik antikör bulunmadığını göstermiştir. Tarak dişleri üzerinde oluşan, test serumlarına ait renk noktaları, pozitif kontrol serumu kullanılarak kit içinde bulunan CombKey kartı yardımıyla değerlendirilmiş ve herbir örneğin CombScore'u C1 ile C6 arasında olacak şekilde kaydedilmiştir. C2 ve üzerinde renk veren serum örnekleri pozitif olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Hiperimmün serum: Denemede, MG ve MS-HI testlerinin uygulanmasında kullanılan MG ve MS pozitif serumların (hiperimmün serumlar) titreleri HI testinde 1/1280 olarak belirlenmiştir.

Hemaglutinasyon testi sonuçları: Denemede kullanılan *M. gallisepticum* S6 ve *M. synoviae* Wvu 1853 suçlarından hazırlanan antijenlerin HA titreleri sırası ile 1/128 ve 1/64 olarak belirlenmiştir.

SPA test sonuçları: Denemede kullanılan 70 adet tavuk serumu MG ve MS antikörleri yönünden SPA testi ile değerlendirilmiştir. MG-SPA testi sonunda 26 adet serum (%37.14) pozitif bulunurken 44 adet serum (%62.86) negatif olarak değerlendirilmiştir. MS-SPA testinde ise 21 adet serum (%30) pozitif bulunurken 49 adet serum (%70) negatif olarak değerlendirilmiştir. (Tablo-1)

Tablo-1. MG ve MS antikörleri yönünden incelenen tavuk serumlarının serolojik test sonuçları.

MG	SPA		HI		IC	
Serum Sayısı	+	-	+	-	+	-
70	26	44	15	55	20	50
	(%37.14)	(%62.86)	(%21.43)	(%78.57)	(%28.57)	(%71.43)
MS	SPA		HI		IC	
Serum Sayısı	+	-	+	-	+	-
70	21	49	23	47	25	45
	(%30)	(%70)	(%32.86)	(%67.14)	(%35.71)	(%64.29)

HI test sonuçları: Denemede, toplam 70 adet tavuk serumu HI testi ile değerlendirilmiştir. MG-HI testinde serumlardan 52'si (%74.29) 1/20 veya daha düşük titre, 3'ü (%4.29) 1/40 titre ve 15'i de (%21.43) 1/80 veya daha yüksek titreler göstermiştir. MS-HI testinde ise; 70 tavuk serumundan 46'sı (%65.71) 1/20 veya daha düşük titreler, 1'i (%1.43) 1/40 titre ve 23'ü de (%32.86) 1/80 veya daha yüksek titreler göstermiştir (Tablo-2). MG-SPA testinde pozitif bulunan 26 serumdan 15'i (%57.69) HI testinde de pozitif bulunurken 11'i ise (%42.31) negatif bulunmuştur (Tablo-3). HI testi ile negatif bulunan bu 11 serumun SPA testinde non-spesifik reaksiyon verdikleri sonucuna varılmıştır. MS-SPA testinde pozitif bulunan 21 serumun tümü ise (%100) HI testinde de pozitif bulunmuştur (Tablo-3).

Tablo-2. İncelenen tavuk serumlarının MG ve MS antikorları yönünden HI titreleri.

MG	MG-HI titreleri		
Serum Sayısı	$\geq 1/20$	$\geq 1/40$	$1/80 \leq$
70	52 (%74.29)	3 (%4.29)	15 (%21.43)
MS	MS-HI titreleri S		
Serum Sayısı	$\geq 1/20$	$\geq 1/40$	$1/80 \leq$
70	46(%65.71)	1(%1.43)	23(%32.86)

Tablo-3. MG ve MS SPA pozitif olan serumların HI titreleri

MG-SPA (+)	MG-GI titreleri		
Serum sayısı	1/20	1/40	1/80
26	8(%30.77)	3(%11.54)	15(%57.69)
MS-SPA (+)	MS-HI titreleri		
Serum sayısı	1/20	1/40	1/80
21	0	0	21(%100.00)

ImmunoComb sonuçları: Toplam 70 adet tavuk serumunun ImmunoComb test kiti ile incelenmesi sonucunda, MG yönünden 20 adet serum (%28.57) pozitif ve 50 adet serum (%71.43) negatif (Tablo-4); MS yönünden ise 25 adet serum (%35.71) pozitif ve 45 adet serum da (%64.29) negatif (Tablo-5) olarak bulunmuştur (Şekil-1)

Tablo-4. MG yönünden incelenen serumların HI ve IC sonuçlarının karşılaştırılması

MG-IC C değeri		1	2	3	4	5	6
MG-HI	1/10	47	0	0	0	0	0
titresi	1/20	3	2	0	0	0	0
	1/40	0	3	0	0	0	0
	1/80	0	0	1	3	1	0
	1/160	0	0	0	1	2	2
	1/320	0	0	0	0	2	1
	1/640	0	0	0	0	0	2

Tablo-5. MS yönünden incelenen serumların HI ve IC sonuçlarının karşılaştırılması

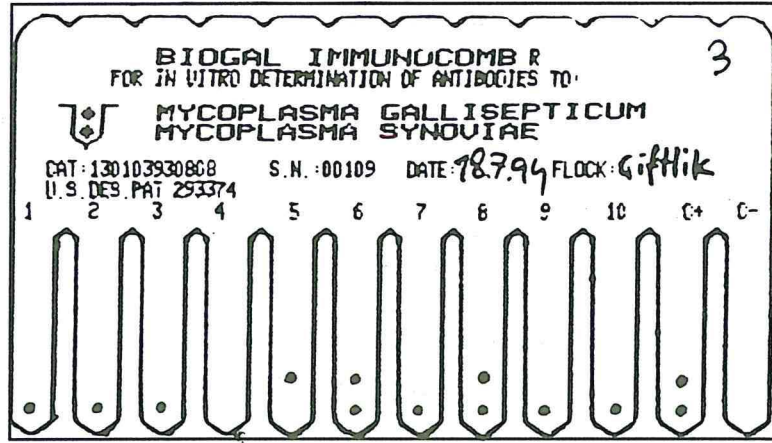
MS-IC C değeri		1	2	3	4	5	6
MS-HI	1/10	35	0	0	0	0	0
titresi	1/20	10	3	0	0	0	0
	1/40	0	1	0	0	0	0
	1/80	0	0	2	4	0	0
	1/160	0	0	0	2	3	2
	1/320	0	0	0	1	3	2
	1/640	0	0	0	0	0	2

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanatlı hayvanlarda Mycoplasma infeksiyonları başta solunum sistemi bozuklukları olmak üzere çeşitli klinik semptomlara ve bunların yanında yumurta verim düşüklüğü, büyümede gecikme ve karkas telefataına yol açarak tavukçuluk endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (3,34).

Kanatlı hayvan sürülerinde MG ve MS infeksiyonlarının kontrol ve eradikasyonlarının başarılı bir şekilde yapılabilmesi ve bir sürünün infeksiyon durumunun ortaya konulabilmesi için düzenli serolojik muayenelerin uygulanmasına gereksinim vardır. Hayvanların serumlarında MG ve MS'ye karşı oluşan antikorları saptamak amacıyla SPA, HI, AGP ve ELISA gibi çeşitli serolojik yöntemler geliştirilmiş ve uygulamaya konulmuştur (16,23,25,27).

Şekil-1: ImmunoComb Testi



Hayvanların serumlarında infeksiyon sonrası 1.haftada şekillenen ve genellikle IgM yapısında olan antikorları saptamaya yarayan SPA testi çabuk, duyarlı ve kolay okunan bir test olmasıyla Mycoplasmosis'de bir sürü tarama testi olarak kullanılmaktadır (16,17,29). SPA testinde serumda oluşan spesifik antikorlar homolog antijenlerle %100 oranında belirlenirken, heterolog antijenler antikorları %8-25 oranlarında saptayabilirler ve homolog antikorlarla daha yüksek titreler elde edilir (22,29). Sahu ve Olson (24), MG yönünden inceledikleri 43.040 adet saha serumundan 53 (%0,12) adedinin SPA testi ile pozitif bulunduğunu bildirmişlerdir. Olson ve ark. (16), inceledikleri 68 tavuk serumundan 33'ünü (%48,53) SPA testi ile pozitif bulduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları başka bir çalışmada ise (17), homolog MS antijeni ile denyesel infekte hayvanlarda %100 pozitiflik saptarlarken, MG ile infekte hayvanlarda MS antijeni ile reaksiyon saptayamamışlardır. Sahu ve Olson (25), 69 serumdan 39'unda (%56,52) pozitif MS-SPA reaksiyonu elde ettiklerini, bu 39 serumdan 36'sının (%92,31) MS-HI testinde de pozitif ve 3'ünün de (%7,69) negatif bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar meydana gelen bu non-spesifik reaksiyonların 1/5 serum sulandırması veya negatif HI test sonuçları ile doğrulanabileceğini açıklamışlardır. Spesifik reaksiyonlarda ise 1/80 veya daha yüksek mikro HI titreleri elde etmişlerdir.

Mycoplasma kontrol programlarında SPA testinin yanısıra duyarlılığı daha az fakat spesifitesi oldukça fazla olan HI testi de bir doğrulama testi olarak kullanılmaktadır (10,13,23,31). Vardaman ve Yoder (31) hazırladıkları HI antijenleri ile MG ve MS infeksiyonlarını başarı ile ayırd edebildiklerini bildirmişlerdir. Cullen ve Timms (10), MG yönünden inceledikleri 1558 piliç

serumundan 226 adedini (%14.5) HI testi ile pozitif bulurlarken, 266 adedini (%17.1) SPA testi ile pozitif olarak saptamışlar ve SPA testinin HI testine göre %4.33 oranında yanlış pozitif ve %1.42 oranında da yanlış negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Lin ve Kleven (13), antikorların saptanmasında SPA ve HI testlerini karşılaştırmışlar, inceledikleri 162 tavuk serumundan 115 adedini (%70.99) SPA, 56 adedini (%34.57) ise HI testi ile pozitif bulmuşlar ve HI testinin SPA testine oranla çok daha spesifik olduğunu bildirmişlerdir. Roberts ve Olesiuk (23) ise, yaptıkları karşılaştırmalı çalışmalarda MG ile infekte hayvan serumlarının MS-SPA antijeni ile non-spesifik reaksiyon oluşturmadığını ancak, MS ile infekte hayvan serumlarının MG-SPA antijeni ile reaksiyon verdiklerini, fakat bu serumların MG-HI testi ile negatif bulduklarını açıklamışlardır.

Mycoplasma infeksiyonlarının teşhisi amacıyla kullanılan ELISA, son yıllarda gündeme gelmiş ve çeşitli araştırmacılar tarafından diğer tüm testlere oranla daha duyarlı ve spesifik bulunmuştur (18,19,27). Opitz ve ark.(18). MG ve MS infeksiyonlarında oluşan antikorları ELISA, SPA ve HI testleriyle inceleyerek, ELISA ile %100, SPA ile %98 ve HI ile de %80 oranlarında pozitiflik belirleyerek antikorları saptamada ELISA tekniğinin SPA ve HI testlerinden daha duyarlı olduğunu ayrıca, ELISA ile SPA testine göre daha az non-spesifik reaksiyon oluştuğunu bildirmişlerdir. Patten ve ark.(19), ELISA tekniğinin SPA ve HI testlerine oranla daha duyarlı ve spesifik olduğunu açıklamışlar ve inceledikleri 99 serum örneğinden 74 adedini (%74.75) ELISA ve SPA ile pozitif bulduklarını, infeksiyonun saptanmasında HI testinden daha kısa bir sürede ELISA ile antikorları saptadıklarını açıklamışlardır. Talkington ve ark. (27), ELISA ve SPA ile infeksiyon sonrası 7. günden itibaren antikorların saptanabildiğini, HI testinde ise ancak 10.günden sonra antikorların diagnostik bir düzeye gelebildiklerini açıklamışlardır.

IC ile ilgili yapılan çalışmalarda ise Rivetz ve ark (21), modifiye ELISA prensibiyle çalışan IC kitini Newcastle hastalığına karşı oluşan antikorları saptamada kullanmışlar ve yöntemin hem lokal bağışıklığı hem de geçici humoral bağışıklığı belirlemede oldukça duyarlı olduğunu açıklamışlardır. Özel ekipmana veya laboratuvar koşullarına ihtiyaç duymayan bu yöntem araştırmacılar tarafından hayvanların bağışıklık durumunu ve aşılardan etkinliğini ölçmede saha koşullarında rahatlıkla uygulanabilir, güvenilir bir yöntem olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca HI ile IC arasında pozitifliği belirlemede yüksek bir korelasyon bulmuşlardır. Thayer ve ark. (28) ise, hayvanlarda Newcastle ve İnfeksiyöz Bronşitis'e karşı oluşan antikorları HI, ELISA ve IC ile karşılaştırmalı olarak saptamaya çalışmışlar ve serumların CombScore'larının HI titreleri ile doğru orantılı olarak artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, teşhis amacıyla laboratuvara getirelen 70 adet tavuk serumu MG ve MS antikorları yönünden SPA, HI ve IC yöntemleriyle incelenmişlerdir. SPA testinde 2 dakika içinde meydana gelen aglutinasyon; HI testinde 1/80 veya daha yüksek serum titreleri ve IC yönteminde de CombScore'u 2 veya daha yüksek olan serumlar pozitif olarak değerlendirilmişlerdir. Buna göre, incelenen 70 adet tavuk serumundan MG antikorları yönünden SPA'da 26 (%37.14), HI'de 15 (%21.43) ve IC'de de 20 (%28.57) serum, MS antikorları yönünden ise SPA'da 21 (%30.00), HI'de 23 (%32.86) ve IC'de de 25 (%35.71) serum pozitif bulunmuştur (Tablo-1) Serumların HI titreleri ise Tablo-2'de gösterilmiştir. SPA testi pozitif olan serumlar HI testi ile incelendiğinde ise MG yönünden pozitif bulunan 26 serumdan 15'i (%57.69) ve MS yönünden pozitif bulunan 21 serumdan tümünün (%100) HI testi ile de pozitif bulunduğu saptanmıştır (Tablo-3). Bu sonuçlara göre SPA testi ile MG yönünden pozitif bulunan 26 serumdan 11'i (%42.31) HI testi ile negatif bulunarak non-spesifik reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. MS yönünden ise SPA testinde non-spesifik reaksiyon saptanmamıştır. IC yönteminde ise MG yönünden incelenen 70 serumdan 20'si (%28.57); MS yönünden ise 25'i (%35.71) pozitif bulunmuştur. Serumların CombScore değerleri HI titreleri ile doğru orantılı olarak bir artış göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlar IC yönteminin pozitifleri belirlemede HI testi ile paralellik gösterdiğini ortaya koymuştur.

Buna göre, değişik Ig sınıfları ile çalışan ve rutin olarak uygulanan SPA ve HI gibi konvansiyonel testlerin yanısıra, IC gibi duyarlı, pratik, kısa sürede sonuç veren ve hem saha hem de laboratuvar koşullarında uygulanabilecek bir yöntemin rutin teşhis amacıyla kullanılmasının, daha fazla reaktörü ortaya koyması ve diğer testleri desteklemesi açısından yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. ADEL, H.E. and YAMAMOTO, R. (1956). Preparation of a new pleuropneumonia-like organism antigen for the diagnosis of chronic respiratory disease by the agglutination test. *Am. J. Vet. Res.*, 17:290-293.
2. ANON (1994). Kanatlı ve çiftlik hayvanlarının bazı hastalıklarında pratik teşhis metodlarıyla ilgili yeni ürünler. Pethask A.P., Biogal (Galed Lab.), İSRAİL
3. ANON (1994). ImmunoComb-Mycoplasma gallisepticum-synoviae antikor test kiti kullanma talimatları. Pethask A.P., Biogal (Galed Lab.), İSRAİL
4. ANSARI, A.A., TAYLOR, R.F. and CHANG, T.S. (1983). Application of enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibody to Mycoplasma gallisepticum in poultry. *Avian Dis.*, 27:21-35.
5. ARDA, M., MİNBAŞ, A., AYDIN, N., AKAY, Ö ve İZGÜR, M (1990). Kanatlı hayvan hastalıkları. Pfizer ilaçları A.P., Ortaköy-İSTANBUL
6. AYCARDI, E.R., ANDERSON, D.P. and HANSON, R.P. (1971). Classification of avian mycoplasmas by gel-diffusion and growth inhibition tests. *Avian Dis.*, 15:434-447.
7. BRADBURY, J.M. and JORDAN, F.T.W. (1973). Non-specific agglutination of Mycoplasma gallisepticum. *Vet. Rec.*, 92:591-592.
8. CRAWLEY, J.F. and FAHEY, J.E. (1957). The use of the hemagglutination inhibition test for the control of PPLO infection in poultry. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 130:187-190.
9. CULLEN, G.A. and SNELL, G.C. (1976). A cell-free haemagglutinating antigen of Mycoplasma synoviae and its use in haemagglutination inhibition tests. *Bio. Stand.*, 4:203-207.
10. CULLEN, G.A. and TIMMS, L. (1972). Diagnosis of Mycoplasma infections in poultry previously vaccinated with killed adjuvant vaccines. *Bri. Vet. J.* 128:94-100.
11. HIGGINS, P.A. and WHITHEAR, K.G (1986). Detection and differentiation of Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae antibodies in chicken serum using enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Dis.*, 30:160-168.
12. JORDAN, F.T.W. (1985). Gordon memorial lecture: people, poultry and pathogenic Mycoplasmas. *Bri. Poult. Sci.*, 26:1-15.

13. LIN,M.Y.and KLEVEN,S.H(1983). Evaluation of the microagglutination test in the diagnosis of Mycoplasma gallisepticum infection in the chickens. Avian Dis., 28:289-294.

14.MATSUO,K., KUNİYASU,C., YAMADA,S., SUSUMI,S. and YAMAMOTO,S.(1978). Suppression of immunoresponses to Haemophilus gallinarum with nonviable Mycoplasma gallisepticum in chickens. Avian Dis., 22:520-561.

15. NONOMURA,I.and YODER,H.W.Jr (1977). Identification of avian Mycoplasma isolates by the agar-gel precipitin test. Avian Dis., 21:370-381.

16.OLSON,N.O., KERR,K.M. and CAMPBELL,A. (1963). Control of Infectious synovitis. 12.Preparation of an agglutination test antigen. Avian Dis., 7:310-317.

17. OLSON,N.O., KERR, K.M. and CAMPBELL,A. (1964): Control of Infectious synovitis. 13.The antigen study of three strains. Avian Dis., 8:209-214.

18. OPITZ,H.M., DUPLESSIS,J.B. and CYR,M.J. (1983).-Indirect micro-enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to Mycoplasma synoviae and M. gallisepticum. Avian Dis., 27:773-786.

19. PATTEN,B.E., HIGGINS, P.A. and WHITHEAR, K.G.(1984). A urease-ELISA for the detection of Mycoplasma infections in poultry. Aust. Vet. J., 61:151-155.

20. PIELA,T.H., GULKA,C.M., YATES, V.J.and CHANG ,P.W (1984). Use of egg yolk in serological tests (ELISA and HI) to detect antibodies to Newcastle Disease, Infectious Bronchitis and Mycoplasma gallisepticum. Avian Dis., 28:877-883.

21. RIVETZ;B., WEISMAN,Y., RITTERBAND,M., FISH,F.and HERZBERG, M.(1985). Evaluation of a novel rapid kit for the visual detection of Newcastle Disease virus antibodies. Avian Dis., 29:929-942.

22. ROBERTS,D.H.(1969). Serological response produced in chickens by three strains of Mycoplasma gallisepticum. J.Appl.Bact., 32:395-401.

23. ROBERTS,D.H. and OLESIUK,O.M. (1967). Serological studies with Mycoplasma synoviae. Avian Dis., 11:104-109.

24. SAHU,S.P.and OLSON, N.O.(1974). Hemagglutination-inhibition versus serum plate agglutination in detecting *Mycoplasma gallisepticum* in broiler flocks. *Avian Dis.*, 19:370-374.

25. SAHU,S.P. and OLSON, N.O.(1976). Evaluation of broiler breeder flocks for nospecific *Mycoplasma synoviae* reaction. *Avian Dis.*, 20:49-64.

26. SAHU, S.P. and OLSON,N.O. (1976). Use of the agar -gel precipitin test to evaluate broiler breeder and commercial layer flocks for *Mycoplasma gallisepticum* infection. *Avian Dis.*, 20:563-573.

27. TALKINGTON,F.D., KLEVEN,S.H. and BROWN, J. (1985). An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* in experimentally infected chickens. *Avian Dis.*, 29:53-70.

28. THAYER,S.G., NERSESIAN, B.N., RIVETZ,B. and FLETCHER,O.J (1987). Comparison of serological tests for antibodies against Newcastle Disease virus and Infectious bronchitis virus using ImmunoComb solid phase immunoassay, a commercial enzyme-linked immunosorbent assay, and the hemagglutination-inhibition assay. *Avian Dis.*, 31:459-463.

29. TIMMS,L. and CULLEN,G.A. (1972). Comparative efficiency of four *Mycoplasma gallisepticum* strains as antigens in detecting heterologous infection. *Res.Vet.Sci.*, 13:523-528.

30. TIMMS,L.and Cullen, G.A.(1974). Detection of *M.synoviae* infection in chickens and its differentiation from *M. gallisepticum* infection. *Bri.Vet.J.*,130:75-84.

31. VARDAMAN,T.H.and YODER,H.W.(1969). Preparation of *Mycoplasma synoviae* hemagglutinating antigen and its use in the hemagglutination-inhibition test. *Avian Dis.*, 13:654-661.

32. VARDAMAN,T.H.and YODER,H.W. (1970). *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* infections: differentiation by the hemagglutination-inhibition test. *Avian Dis.*, 13:654-661.

33. YODER,H.W.Jr. (1984). Avian Mycoplasmosis. In: HOFSTAD;M.S, BARNES,H,J., CALNEK; B.W., REID; W.M and YODER, H.W Jr.: Diseases of Poultry. 8th ed., Iowa State Univ.Press, Ames, Iowa. pp.187.220.