

Damızlık tavuk işletmelerinde tespit edilen mikoplazma infeksiyonları

Asiye DAKMAN¹, Elçin GÜNAYDIN¹, Mehmet Ali TÜRKYILMAZ², Metin GÜLEÇ¹,
Mustafa COŞAR¹, Ümit ÖZDEMİR²

¹Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı, Ankara; ²Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Mikoplazma Teşhis Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

Özet: Kanatlı hayvanlarda hastalığa neden olan farklı mikoplazma etkenleri bulunmaktadır. Bu etkenlerden *Mycoplasma gallisepticum* (*M. gallisepticum*) ve *Mycoplasma synoviae* (*M. synoviae*) en önemli türler olup OIE listesinde yer almaktadır. *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* vertikal bulaşması nedeniyle damızlık sürülerde ayrı bir öneme sahiptir. Özellikle de vertikal bulaşmanın şekillenmesi ve damızlıkların bu infeksiyonlar yönünden ari olması gerektiği için, bu iki infeksiyon etkeninin hızlı, güvenilir bir testle teşhisi neticesinde acil koruma ve kontrol önlemlerinin alınması şarttır. Bu çalışmada 2009 yılında Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı tarafından denetimi yapılan damızlık işletmelerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve etken izolasyonu ile tespit edilen mikoplazma infeksiyonları ortaya konmuştur. Enstitümüze bağlı illerde bulunan damızlık işletmelerden alınan kan serumu örnekleri *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* yönünden serum pleyt aglutinasyon test (SPAT) ve ELISA ile test edildikten sonra, seroloji ile *M. synoviae* pozitif bulunan damızlık işletmelerden alınan trakeal svap örnekleri PZR ve etken izolasyonu ve identifikasyonu yapılarak incelenmiştir. Damızlık işletmelerin tamamı *M. gallisepticum* yönünden negatif bulunmuştur. İşletmelerin %8.5'i SPAT, ELISA ve PZR ile *M. synoviae* pozitif bulunurken ancak %2.5'inden etken izolasyonu yapılabilmektedir. PZR ve etken izolasyonu karşılaştırıldığında ise; PZR ile pozitif bulunan işletmelerin sadece %33.4'ünde etken izolasyonu yapılabilmektedir. *M. gallisepticum* ve *M. synoviae*'nin teşhisinde PZR tamamen konvansiyonel kültürel yöntemlerin yerini alamamasına rağmen, bakteriyoloji ile desteklendiğinde erken ve kesin teşhis açısından damızlık sürülerde başta olmak üzere kanatlı endüstrisine faydalı olacaktır.

Anahtar sözcükler: Bakteriyoloji, damızlık sürü, ELISA, *Mycoplasma synoviae*, PZR, SPAT

Mycoplasma infections detected in breeder holdings

Summary: Various *Mycoplasma* species which causes illness at poultry exist. Of the all *Mycoplasma* spp. *Mycoplasma gallisepticum* (*M. gallisepticum*) and *Mycoplasma synoviae* (*M. synoviae*) are the most important species and take place in the OIE list. Due to vertical transmission of *M. gallisepticum* and *M. synoviae*, they do have an importance at breeder flocks. Urgent protection and control measurements have to be applied according to the results of the diagnosis of rapid and reliable test due to the vertical transmission and *Mycoplasma*-free required breeder flocks. In this study, *Mycoplasma* infections diagnosed by polymerase chain reaction (PCR) and agent isolation at the breeder flocks which are controlled by Poultry Diagnosis Laboratory of Central Veterinary Control and Research Institute were introduced. After the serum samples which had been taken from the breeder flocks in the provinces under the responsibility of our institute were tested for *M. gallisepticum* and *M. synoviae* by SPAT, ELISA, tracheal swap samples taken from *M. synoviae* positive breeder flocks were examined by PCR, agent isolation and identification. All the breeder flocks were found to be *M. gallisepticum* negative by SPAT and ELISA. Of the holdings, while 8.5% were found to be *M. synoviae* positive by SPAT, ELISA and PCR, agent identification was achieved from 2.5%. Comparison of PCR and bacteriology, agent isolation was done 33.4% solely from the holdings which are found to be *M. synoviae* positive by PCR. Although PCR can not replace the conventional cultural methods totally for the diagnosis of *Mycoplasma* spp. it will be useful for poultry industry, especially, poultry breeders, if it is supported by conventional cultural methods in order to rapid and definite diagnosis of *Mycoplasma* spp.

Keywords: Bacteriology, breeder flock, ELISA, *Mycoplasma synoviae*, PCR, SPAT

Giriş

Kanatlı hayvanlarda hastalığa neden olan farklı mikoplazma etkenleri bulunmaktadır. Bu etkenlerden *Mycoplasma gallisepticum* (MG) ve *Mycoplasma synoviae* (MS) en önemli türler olup OIE listesinde yer almaktadır (ANON., 2008). *M. gallisepticum* yaygın olarak tavuklarda kronik solunum yolu hastalığına (CRD) sebep olur. CRD, nazal akıntı, solunum güçlüğü, konjunktivitis, et-tipi kanatlılarda karkas ağırlığının düşmesi, yumurtacı kanatlılarda yumurta veriminin azalmasına neden olan bulaşıcı bir hastalıktır (ANON., 2008; LEY, 2003). *M. synoviae* infeksiyonları genellikle subklinik üst solunum yolu infeksiyonları şeklinde gözükür. *M. synoviae* tavuklarda sinoviyal membranların yangılanması ile karakterize eklem lezyonları, topallık ve bunları takip eden süreçte büyümede gecikme ile ilişkilendirilmiştir (KLEVEN, 2003). *M. synoviae* ve *M. gallisepticum* infeksiyonlarında diğer viral ve bakteriyel etkenlerle komplike olan vakalarda ekonomik kayıplar ve ölüm oranı ciddi düzeyde artar (ANON., 2008; KLEVEN, 2003).

M. gallisepticum ve *M. synoviae* vertikal bulaşması nedeniyle damızlık sürülerde ayrı bir öneme sahiptir (ANON., 2008). Hastalıkta en önemli kayıp mikoplazma ile enfekte damızlıklardan elde edilen civcivlerde performans kaybıdır (AKAN ve ark., 2008). Özellikle de vertikal bulaşmanın şekillenmesi ve damızlıkların bu infeksiyonlar yönünden ari olması gerektiği için bu iki infeksiyon etkeninin hızlı, güvenilir bir testle teşhisi neticesinde acil koruma ve kontrol önlemlerinin alınması şarttır (ESENDAL, 2002).

Türkiye’de tavuklarda mikoplazma yaygınlığı ile ilgili çalışmalar sınırlı düzeydedir. Akan ve ark. (2008), yapmış oldukları serolojik ve moleküler incelemede 43 broyler damızlık işletmesinin % 16.3’ünü MG pozitif, %20.9 MS pozitif olarak saptamışlardır. Bunun dışında hastalığı direkt ve indirekt yöntemlerle varlığını saptayan çalışmalar da bulunmaktadır (ÇARLI ve EYİĞÖR, 2003).

Mikoplazmaların kontrolünde dünyaca önerilen sistemlerde ortak hedef *grand parent stock*’larda eradike edip, *parent stock* seviyesinde ise iyi bir biyogüvenlik sistemi ile hastalıktan ari yapıyı korumaya çalışmaktır (ANON., 1990; ANON., 1996; GÖKÇELİK, 2008).

Ülkemizde aynı amaçla 1989 yılından beri “Kuluçkahane ve Damızlık İşletmelerinin Sağlık ve Kontrol Yönetmeliği” yürürlüğe girmiş son olarak 2007 yılında yönetmelik güncellenmiştir (ANON., 2007a; ANON., 2007b). Bu yönetmelik kapsamında damızlık sürülerin kontrolleri 16 haftalıktan itibaren başlar ve en az yılda iki kez kontrolleri devam eder. Mikoplazma yönünden yapılan kontrollerde çabuk lam aglutinasyon, serum plak dilüsyon, tüp aglutinasyon testi gibi tarama testleri ile taranır pozitif bulunan sürülerde sonuç nispeten spesifitesi daha yüksek ELISA ve Hemaglutinasyon inhibisyon (HI) gibi ikinci bir serolojik testle doğrulanır. Mikoplazma antikorları yönünden pozitif bulunan sürülerde pozitif ya da şüpheli bulguların kültür ve/veya PZR ile doğrulanması gerekir.

Mikoplazmaların oldukça zor üreyen mikroorganizmalar olmaları ve pasajlarla birlikte yaklaşık 3-4 hafta gibi uzun bir inkubasyon süresine ihtiyaç duymaları, kanatlı sürülerinde geçirilen diğer infeksiyonlara karşı kullanılan antibiyotiklerin mikoplazma etkenlerinin üremesini baskılaması gibi olumsuzluklar, teşhis konulduğunda sürünün sağaltımını ve etkili koruyucu önlemlerin alınmasını engellenmektedir (FREY ve ark., 1968; ESENDAL, 2002).

Kanatlılarda mikoplazma infeksiyonlarının teşhisinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), konvansiyonel bakteriyolojik ve serolojik testlerdeki olumsuzlukları aşabilen, spesifite ve sensitivitesi yüksek, hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (AKAN ve ark., 2008; ÇARLI ve EYİĞÖR, 2003; MAROIS ve ark., 2005).

M. gallisepticum ve *M. synoviae*’nın teşhisi için çok sayıda konvansiyonel PZR (GARCIA ve ark., 1995; KLEVEN, 1997; MAROIS ve ark., 2005) ve *real-time* PZR tekniği (ÇARLI ve ark., 2003; MEKKES ve ark., 2005) kullanılmakta ve bu çalışmalarda adı geçen mikroorganizmaların teşhisi için 16S rRNA genini (KEMPF, 1998; GARCIA ve ark., 2005); yüzey yapışma proteinlerini (*pvpA*, *gapA*, *mgc-2*, *LP*, *msp1*) (GARCIA ve ark., 2005; MAROIS ve ark., 2005) kodlayan genleri ve hemaglutinin proteinlerini kodlayan (*pMGA*, *vlhA*) (NOORMOHAMMADI ve ark., 2000; BEN ABDELMOUMEN ve ark., 2005) genleri çoğaltan çok sayıda primer çifti kullanılmıştır.

Bu çalışmada 2009 yılında Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı tarafından denetimi yapılan damızlık işletmelerinde, *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* infeksiyonları serolojik, bakteriyolojik ve moleküler tekniklerle araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Standart suşlar: Standart *M. gallisepticum* S6 ve *M. synoviae* WU1853 suşları Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Mikoplazma Referans Teşhis Laboratuvarından temin edildi.

Test edilen örnekler: Damızlık işletmelerden 5000 kapasiteye kadar %5, bunun üzerindeki her kümeden 300 kan serum örneği alınmış ve SPAT ile MG ve MS yönünden test edilmiştir. MG ya da MS pozitif bulunan her kümeden 23'er adet serum ELISA ile test edilmiştir. ELISA ile pozitiflik saptanan kümeslerden 30'ar adet trakeal svap örneği alınarak PZR yapılmış ve etken izolasyonuna gidilmiştir.

2009 yılında laboratuvarımızın rutin olarak her altı ayda bir denetimlerini yaptığı Eskişehir, Bolu, Ankara, Kayseri ve Kırıkkale illerindeki 37 damızlık işletmeden toplam 134760 adet serum örneği (Tablo 1) ve serolojik testlerle *Mycoplasma* spp yönünden pozitiflik saptanan 3 işletmeden de 270 adet trakeal svap örneği bakteriyolojik kültür ve PZR ile test edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Örnek alınan il, işletme ve toplam serum sayısı.

Yılı	Örnek alınan il sayısı	Örnek alınan işletme sayısı	Toplam serum sayısı
2009	5	37	134760

Tablo 2. Serolojik olarak *Mycoplasma* spp. pozitif işletmelerden alınan örnekler.

İşletme No	Kan serumu	Svap örneği
0601	1200	120
3801	1200	120
3802	300	30
Toplam	2700	270

Trakeal svap örnekleri Frey's medium içine alınarak 24 saat içerisinde soğuk zincirle laboratuvara ulaştırılmış ve bunu takiben, örneklerden 5'erli havuzlar yapıp, her 5 örnek, vorteksleme işleminden sonra svaplar tüplerin çeperlerine rotasyon hareketleriyle emdikleri trakeal eksudatı bırakacak şekilde gezdirilip atılmıştır. Toplanan eksudatın bir kısmı konvansiyonel kültürel yöntemle bakteriyolojik izolasyon bir kısmı da DNA ekstraksiyonu amacıyla kullanılmıştır.

PZR pozitif bulunan kümeslerden alınan trakeal svap örnekleri aynı zamanda ulusal mikoplazma referans teşhis laboratuvarına da gönderilerek etken izolasyonu çalışması ve tiplendirilmesi sağlandı.

Damızlık tavuk işletmelerinin *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* infeksiyonları yönünden kontrolü 20.03.2007 tarih ve 26468 sayılı Kuluçkahane ve Damızlık İşletmeleri Yönetmeliği ile 30.10.2007 tarih ve 43 sayılı Kuluçkahane ve Damızlık İşletmeleri Yönetmeliği Uygulama Talimatı'na göre gerçekleştirildi.

Serum pleyt aglutinasyon testi (SPAT): OIE'de (ANON., 2008) bildirildiği şekilde, *M. gallisepticum* ve *M. synoviae* SPAT antijeni (Pendik) kullanılarak yapıldı.

ELISA: *M. synoviae* için geliştirilmiş ticari bir kit kullanılarak (Idexx; 06728-GE652) firmanın önerdiği prosedüre göre yapıldı.

Etken izolasyon ve identifikasyonu: Frey's broth ve Frey's agar kullanılarak OIE manüelde tanımlanan mikoplazma izolasyon prosedürüne göre gerçekleştirildi (FREY, 1968; ANON., 2008). İzole edilen mikoplazma kültürleri, ulusal mikoplazma referans teşhis laboratuvarına gönderilerek isimlendirildi.

PZR: Marois ve ark. (2005), bildirdikleri yöntem modifiye edilerek yapıldı. Trakeal svap örneklerinden ticari bir kit kullanılarak (Roche; High Pure PCR Template Preparation Kit, 11796828001) DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA'dan 2 µl kullanıldı. PZR aşaması PZR kiti (Fermentas, E402) kullanılarak yapıldı. *M. synoviae* PZR'da reaksiyon hacimleri şu şekildedir: 2.5 µl 10×PCR buffer (MgCl₂), 3 µl MgCl₂ (25 mM), 0.5 µl dNTP (10 mM), 1'er µl MS-Primer F (20 pmol/µl) ve MS-Primer R (20 pmol/µl), 0.5 µl Taq DNA Polymerase, 13.5 µl deiyonize su (PCR grade), 2

ül templeyt olmak üzere total reaksiyon hacmi 25 µl'dir. *Thermal cycler*'da uygulanan ısı döngüleri: 95°C'de 2 dk ön denaturasyon, 35 siklus; 94°C'de 30 sn denaturasyon, 55°C'de 30 sn hibridizasyon, 72°C'de 30 sn ekstensiyon ve 72°C'de 10 dk final ekstensiyon şeklindedir. Reaksiyon sonunda %1.5'lük agaroz jelde (Seakem LE agarose, 50004L), 1000 V'da 30 dk sürüyle DNA ürünlerinin göçü sağlandı ve oluşan bantlar UV transilluminatör (Ultra-violet products/UVP) ve jel dokümantasyon sistemi (Biotech Image Master-VDS+Fujifilm Termal Imagine System FTI-500) yardımı ile görüntülendi. Oluşan PZR ürünlerinin büyüklüğü yaklaşık 400 bp olarak belirlendi.

Primerler: Çalışmada kullanılan *M. synoviae* primerlerinin baz dizilimi şu şekildedir:

Ms-pcl5: 5'-TCA TTC AGC GCC AGC TGG TTC-3' ve Ms-pcl4: 5'-GCT TGA GTC TCC ATT AAC TTG TTG TTC-3'.

Bulgular

Çalışmada 2009 yılında kontrolleri yapılan 37 damızlık işletmesinin 3 (%8.1)'ünde *M. synoviae* pozitif bulunmuştur (Tablo 3). Bu işletmelerden 1'i Ankara, 2'si Kayseri ilinde bulunan damızlık işletmelerdir. MS pozitif bulunan kümeslerden alınan kan serumu ve trakeal svap örneklerinin SPAT, ELISA, PZR ve bakteriyel kültür yöntemi ile etken izolasyonu sonuçları sırasıyla Tablo 4, 5 ve 6'da yer almaktadır.

Çalışmada bütün işletmelerden alınan serumlar *M. gallisepticum* yönünden de test edilmiş ancak negatif bulunmaları nedeniyle sonuçlar ayrıntılı

lı verilmemiştir. Ayrıca bakteriyolojik kültür yöntemleri ile hem *M. gallisepticum* hem de *M. synoviae* yönünden ekimler yapılmış sadece 1 (%2.5) işletmenin 2 kümesinden *M. synoviae* izolasyonu gerçekleşmiştir.

Tablo 3. *Mycoplasma* spp. pozitif işletmelerin illere göre dağılımı.

Damızlık işletmelerin bulunduğu iller	<i>Mycoplasma</i> spp. yönünden kontrol sonuçları	
	Pozitif işletme sayısı	Negatif işletme sayısı
Ankara	1	12
Bolu	-	12
Eskişehir	-	7
Kayseri	2	-
Kırıkkale	-	1

Ankara'daki 1 damızlık işletmesine (İşletme kodu: 0601) ait 4 kümeden alınan toplam 1200 serum örneğinin %81'i SPAT ile, her kümeden 23'er adet olmak üzere toplam 92 adet serumun %88'i ELISA ile *M. synoviae* yönünden pozitif sonuç alınmıştır. Her kümeden 30'ar olmak üzere toplam 120 trakeal svap örneğinden 114'ü (%95) PZR ile pozitif bulunmuştur. Etken izolasyonu çalışmasında ise sadece 4 no'lu kümeden alınan 30 (%25) örnekten *Mycoplasma* spp. izole edilmiş ve ulusal mikoplazma referans teşhis laboratuvarında *M. synoviae* olarak isimlendirilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. 0601 no'lu damızlık işletmesinden alınan serum ve trakeal svap örneklerinin test sonuçları.

Ankara 0601 no'lu damızlık işletmesi	SPAT		ELISA		PZR		Etken izolasyonu	
	MS	MS	MS	MS	MS	MS	MS	MS
	+	-	+	-	+	-	+	-
1. kümes	210	90	15	8	24	6	-	30
2. kümes	267	33	23	-	30	-	-	30
3. kümes	255	45	23	-	30	-	-	30
4. kümes	240	60	20	3	30	-	30	-
Toplam %	972 %81	228 %19	81 %88	11 %12	114 %95	6 %5	30 %25	90 %75

Kayseri'de bulunan 3801 no'lu damızlık işletmesine ait 4 kümeden toplam 1200 adet serum örneği alınmış ve bunların tamamı MS yönünden SPAT ile pozitif bulunmuştur. MS yönünden yapılan ELISA testi ile kümeslerin tamamı ve test edilen örneklerin %97.8'i pozitif bulunmuştur. Trakeal örneklerden yapılan PZR da kümeslerin tamamı ve alınan örneklerin %87.5'inin MS yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. Ancak aynı trakeal örneklerden yapılan bakteriyolojik kültür yöntemi ile örneklerin hiçbirinden mikoplazma izolasyonu yapılamamıştır (Tablo 5). Kayseri'de bulunan diğer damızlık işletmesinde (3802 no'lu işletme) ise tek bir kümede bulunan damızlık tavuklardan alınan 300 kan serum örneğinin tamamı SPAT ile MS pozitif bulunmuş bunlardan 23'üne ELISA yapılarak yine tamamının MS pozitif olduğu belirlenmiştir. Alınan 30 trakeal örneğin tamamı PZR ile pozitif bulunurken, bu trakeal örneklerin hiçbirinden *Mycoplasma* spp. izole edilememiştir (Tablo 6).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada SPAT ile *Mycoplasma* spp. yönünden kontrolleri yapılan 37 işletmenin 3'ü (%8.5) *M. synoviae* yönünden pozitif bulunmuştur. 0601 no'lu işletmede test edilen serumların %81'i, 3801 ve 3802 no'lu işletmelerde ise tamamı pozitif bulunmuştur. SPA testi çabuk ucuz ve duyarlılığı (sensitivite) yüksek olması sebebiyle sürü izleme programlarında bir tarama testi olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (ANON.,1996; KLEVEN ve LEVISOHN, 1996; KLEVEN, 1998). Bununla birlikte hemolizli ve kontamine serumlar, yakın zamanda diğer hastalıklar için inaktif aşı uygulamaları nonspesifik reaksiyonlara sebep olabilir (CULLEN ve TIMMS, 1972; GLISSON ve ark., 1984; YODER, 1989). Ayrıca Robert ve Olesuik (1967), doku reaksiyonunun situmule ettiği rematoid faktörün bulunmasının *M. synovia* ile kros reaksiyona sebep olduğunu bildirmişlerdir. SPA ile test edilen kan serumlarında yüksek pozitiflik nonspesifik reaksiyonlara bağlı olabilir. Ancak aynı serum örneklerinin *M. gallisepticum* yönünden negatif bulunması yanlış pozitiflik ihtimalinin düşük olduğunu göstermektedir.

Tablo 5. 3801 no'lu damızlık işletmesinden alınan serum ve trakeal svap örneklerinin test sonuçları.

Kayseri 3801 no'lu damızlık işletmesi	SPAT		ELISA		PZR		Etken izolasyonu	
	+	-	+	-	+	-	+	-
1. kümes	300	-	23	-	30	-	-	30
2. kümes	300	-	22	1	15	15	-	30
3. kümes	300	-	23	-	30	-	-	30
4. kümes	300	-	22	1	30	-	-	30
Toplam %	1200 %100	-	90 %97.8	2 %2.2	105 %87.5	15 %12.5	-	120 %100

Tablo 6. 3802 no'lu damızlık işletmesinden alınan serum ve trakeal svap örneklerinin test sonuçları.

Kayseri 3802 no'lu damızlık işletmesi	SPAT		ELISA		PZR		Etken izolasyonu	
	+	-	+	-	+	-	+	-
Tek kümes	300	-	23	-	30	-	-	30

Çalışmada 0601 no'lu işletmeden alınan serum örneklerinin %81'i SPAT ile MS pozitif bulunmuştur. SPA ile pozitif bulunan serumların 92'si ELISA yapılmış ve %88'inin pozitif olduğu tespit edilmiştir. 3801 no'lu işletmede SPAT ile pozitif bulunan 92 serum örneğinin %97.8'i ve 3802 no'lu işletmede ise SPA ile MS pozitif 23 serumun tamamı ELISA ile de pozitif bulunmuştur. Ewing ve ark. (1996), yapmış oldukları bir çalışmada 71 adet ticari tavuk kümesinden 3'ünü (%4.2) seropozitif olarak tanımlamış, bu sürülerden alınan serum örneklerinin %74'ü SPA ile pozitif bulunmuştur. SPA ile pozitif bulunan serum örneklerinin %98.6'sı ELISA ile de pozitif sonuç vermiştir. Çalışmada enfeksiyonun erken safhasında SPA ve HI testlerinin başarısız olduğu ancak ELISA ve PZR ile yeni başlamış enfeksiyonları yakalayabildiklerini bildirmişler ELISA'yı tarama testi PZR'yi konfirmasyon testi olarak kullanılmasını önermişlerdir. Bu çalışmada kontrolü yapılan damızlık sürülerinde enfeksiyonun hangi safhasında olduğu bilinmemektedir.

Bu çalışmada sonuçlarla örtüşür şekilde; Marois ve ark. (2000) deneysel ve doğal infekte kanatlıların yem, içme suyu, tüy ve kümes tozlarından aldıkları svap örneklerinden bakteriyoloji ve PZR ile yaptıkları *M. synoviae* taramasında; inceledikleri 96 adet deneysel infekte kanatlılarda bakteriyoloji ile 10/96, PZR ile 46/96 *M. synoviae* pozitiflik tespit ederken, doğal infekte kanatlılarda bakteriyoloji ve PZR ile sırasıyla, 7/28 ve 17/28 oranında *M. synoviae* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Heidelberg ve ark. (1997) bakteriyoloji ile düşük pozitifitenin tespit edilmesini *Mycoplasma* spp.'nin nazlı üreyen mikroorganizma olmasına veya svap örneklerinde canlı fakat kültürleri yapamayan bir durumda bulunmalarına dayandırmışlardır. Ayrıca kanatlı sürülerinde geçirilen diğer enfeksiyonlara karşı kullanılan antibiyotiklerin mikoplazma etkenlerinin üremesini baskılaması, etken izolasyonunu engelleyen faktörlerden biridir (FREY ve ark., 1968). Ankara ilindeki 1 adet işletmenin toplam 4 adet kümesinin sadece birinde bakteriyoloji ile pozitiflik tespit edilirken, Kayseri ilindeki her iki damızlık işletmede kültür ile pozitiflik tespit edilememiştir. Buna karşın seroloji ile pozitiflik tespit edilen 3 damızlık işletmenin tamamı PZR ile *M. synoviae* pozitif bulunmuştur.

PZR ile *M. synoviae* teşhisi 1-2 gün içinde tamamlanırken, etken izolasyonu 3-4 haftalık bir zaman dilimini gerektirmektedir.

Sonuç olarak, PZR mikoplazmaların rutin teşhisinde, SPAT, ELISA gibi primer tanı testlerinin konfirmasyonunda bakteriyoloji ile birlikte yürütüldüğü takdirde, hızlı ve güvenilir bir test metodu olarak acil koruma ve kontrol önlemlerinin alınmasına fayda sağladığı ortaya konulmuştur.

Kaynaklar

1. **Akan M, İzgür M, Sareyyüpoğlu B, Çiftçi A, İça T,** (2008). *Tavuklarda Solunum Sistemi Hastalıklarının Epidemiyolojisi*. Ankara Üniv. BAP Projesi-Ankara.
2. **Anonim,** (2008). Avian Mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*) Chapter 2.3.5 in OIE Terrestrial Manual Online. p. 482 - 496. Erişim: [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.03.05_20AVIAN_MYCO.pdf]. Erişim Tarihi: 30.10.2009.
3. **Anonim,** (2007a). Kuluçkahane ve Damızlık Kanatlı İşletmeleri Yönetmeliği. 20.03.2007 Tarih ve 26468 sayılı Resmi Gazete.
4. **Anonim,** (2007b). Kuluçkahane ve Damızlık Kanatlı İşletmeleri Yönetmeliği Uygulama Talimatı. 30.11.2007 Tarih ve 43 Numaralı Talimat.
5. **Anonim,** (1996). National Poultry Improvement Plan and Auxiliary Provisions. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. APHIS 91-55-031. USDA, Washington, DC.
6. **Anonim,** (1990). Council Directive on animal health conditions governing intra-Community trade in, and imports from third countries of, poultry and hatching eggs. Council Directive (90/539/EEC).
7. **Mardassi BBA, Mohammed RB, Gueriri I, Boughattas S, Mlik B,** (2005). *Duplex PCR to Differentiate Between Mycoplasma synoviae and Mycoplasma gallisepticum on the Basis of Conserved Species-Specific Sequences of Their Hemagglutinin Genes*. J Clin Microbiol. 43 (2), 948-958.
8. **Carli KT, Eyigor A,** (2003). *Real-Time Polymerase Chain Reaction for the Detection of Mycoplasma gallisepticum in chicken trachea*. Avian Dis. 47, 712-717.
9. **Cullen GA, Timms LM,** (1972). *Diagnosis of mycoplasma infection in poultry previously vaccinated with killed adjuvant vaccines*. Br Vet J. 128, 94-100.
10. **Esendal ÖM,** (2002). Mikoplazma enfeksiyonları, 79-92, In: Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., İzgür, M., Yardımcı, H., Esendal, Ö.M., Erdeğer, J. ve Akan, M., Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınları, No, 26, Ankara.
11. **Ewing ML, Laurmen LH, Kleven SH, Brown MB,** (1996). *Evaluation of diagnostic procedures to detect Mycoplasma synoviae in commercial multiplier-breeder farms and commercial hatcheries in Florida*. Avian Dis. 40 (4), 798-806.
12. **Frey M L, Hanson RP, Anderson DP,** (1968). *A Medium for the isolation of Avian Mycoplasmas*. Am J Vet Res. 29, 2163-2171.

13. **Garcia M, Ikuto N, Levisohn SS, Kleven S.H,** (2005). *Evaluation and Comparison of Various PCR Methods for Detection of Mycoplasma gallisepticum Infection in Chickens*. Avian Dis. 49, 125-132.
14. **Garcia M, Jackwood MW, Levisohn S, Kleven SH,** (1995). *Detection of Mycoplasma gallisepticum, M. synoviae, and M. iowae by Multi-Species Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism*. Avian Dis. 39, 606-616.
15. **Glisson JR, Dawe JF, Kleven SH,** (1984). *The effect of oil-emulsion vaccines on the occurrence of nonspecific plate agglutination reactions for Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae*. Avian Dis. 28, 397-405.
16. **Gökçelik G,** (2008). *Mikoplazma infeksiyonlarının teşhisi ve serolojik izleme programlarının önemi*. Veteriner Tavukçuluk. Derneği Mektup Ankara 6 (1), 6-11.
17. **Heidelberg JF, Shahamat M, Levin M, Rahman I, Stema G, Grim C, Colwell RR,** (1997). *Effect of aerolization on culturabişklity and viability of gram-negative bacteria*. Appl Environ Microbiol. 63, 3585-3588.
18. **Kempf I,** (1998). *DNA Amplification Methods for Diagnosis and Epidemiological Investigations of Avian Mycoplasmosis*. Avian Pathol. 27, 7-14.
19. **Kleven SH,** (2003). *Mycoplasma synoviae infection*. In: Diseases of Poultry, Saif Y.M., Barnes H.J., Glisson J.R., Fadly A.M., McDougald L.R. & Swayne D.E., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 756-766.
20. **Kleven SH,** (1998). *Mycoplasmosis*. In D. E. Swayne, J. R. Glisson, M. W. Jackwood, J. E. Pearson, and W. M. Reed (eds.). A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, Fourth ed. American Association of Avian Pathologists: Kennett Square, PA, 74-80.
21. **Kleven SH,** (1997). *Changing expectations in the control of Mycoplasma gallisepticum*. Acta Vet Hung. 45, 299-305.
22. **Kleven SH, Levisohn S,** (1996). *Mycoplasma infections of poultry*. In J. G. Tully (ed.). Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology. Volume II-Diagnostic Procedures, Vol. II. Academic Press, Inc.: New York, 283-292.
23. **Ley DH,** (2003). *Mycoplasma gallisepticum infection*. In: Diseases of Poultry, Saif Y.M., Barnes H.J., Glisson J.R., Fadly A.M., McDougald L.R. & Swayne D.E., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 722-744.
24. **Marois C, Picault JP, Kobisch M, Kempf I,** (2005). *Experimental Evidence of Indirect Transmission of Mycoplasma synoviae*. Vet Res. 36, 759-769.
25. **Mekkes DR, Feberwee A,** (2005). *Real-Time Polymerase Chain Reaction for the Qualitative and Quantitative Detection of Mycoplasma gallisepticum*. Avian Pathol. 34 (4), 348-354.
26. **Noormohammadi AH, Markham PF, Kanci A, Whithear KG, Browning GF,** (2000). *A novel mechanism for control of antigenic variation in the haemagglutinin gene family of mycoplasma synoviae*. Mol Microbiol. 35 (4), 911-23.
27. **Roberts DH, Olesiuk OM,** (1967). *Serological studies with Mycoplasma synoviae*. Avian Dis. 11, 104-119.
28. **Yoder HW,** (1989). *Nonspecific reactions to Mycoplasma serum plate antigens induced by inactivated poultry disease vaccines*. Avian Dis. 33, 60-8.

Geliş Tarihi / Received: 02.11.2009

Kabul Tarihi / Accepted: 13.11.2009

Yazışma adresi / Corresponding author

Dr. Asiye Dakman

Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü,

Kanatlı Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı,

06020, Etlik, Ankara, Türkiye

E-posta: asiyedakman@hotmail.com