TÜRK
Veteriner
HEKİMLİĞİ DERGİSİ



sunuş

Gündemi Değiştiren Olaylar

Merhaba sevgili meslektaşlarım. Dergimizin yeni bir sayısıyla yine sizlerleyiz. 2009 yılı ikinci altı ayı, Demokratik Açılım, Domuz gribi, GDO ve Biyogüvenlik yasası, Kurbanlık Fiyatları, Memur ve işçilerin yasal hak talepleri, Üniversite giriş katsayıları, Bakanlık teşkilat yasası gibi mesleğimizi de ilgilendiren birçok gündemle geçti.

Gündemi değiştiren olaylar hakkında, ilgilisi ilgisizi bir şekilde yolunu bulup kamuoyunun önüne çıkıp konuşurken, her nedense bizler suskun kalmaya devam ettik. Merkez Konseyimizin ve odalarımızın birkaç demeci veya basın açıklamalarıyla yetindik. Ne yazık ki fakültelerimiz ve uzmanlarımızdan çıt yok.

Sen susarsan herkes konuşur!

Son zamanlarda gündem de olan bir konu GDO... Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların kısaltılmışıdır. Tartışmalarda GDO'lu ÜRÜNLER diyerek daha işin başında hata yapılıyor. Bu tabiri açarak yazalım. "Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Ürünler" haline geliyor cümle... Bir başka deyişle Genetiği Değiştirilmiş Mısır veya Genetiği Değiştirilmiş Organizmalı Mısır...

Dünya'da yeni bir konu olması ve uzman kişilerin ancak bilimsel toplantılarda konuştuğu bu teknolojiyi, Türkiye ne yazık ki kahvehane sohbetleri haline getirdi. Türkiye'nin genel hastalığıdır zira konu uzmanları pek konuşmaz. GDO konusunda da ilgili fakülteler, bilim adamları orta yok, ama siyasetçiler başta olmak üzere ilgisiz birçok insan konuşuyor. Uzman diye televizyon programlarına çıkıp ahkâm kesenler, bizlere deprem tartışması yapan uzmanları hatırlatıyor.

Sonra her tartışmada olduğu gibi ülke iki tarafa ayrılıyor. Dinleyenler iki tarafa da hak veriyor.

Taraflardan birisi, genetiği değiştirirsen Frankeştayn ürünlerin ortaya çıkacağını ve başta kanser olmak üzere çok sayıda hastalığın ortaya çıkacağını söylüyor. O zaman genlerle oynanmamalı..."**G**enetiği **D**eğiştirirsen **O**lmaz",

Diğer taraf ise, dünya nüfusu hızla artıyor, küresel ısınma, kuraklık had safhada, açıklıktan insanlar ölüyor, açlık yüzünden savaşlar kapıda diyor. O zaman üretim artırılmalı... "**G**eleceği **D**üşünmeden **O**lmaz."

Sonuçta yeni bir tartışma ortaya çıkıyor. Gıda güvencesi mi? Gıda güvenliğimi?

Tabi ki ikisi de önemli. Gelin biz konunun tartışmasını uzmanlarına bırakalım. O zaman göreceksiniz. **G**ereksiz **D**alaşma **O**lmaz

Değerli Okuyucularımız,

Mesleğimiz açısından en önemli gündem ise **3. Veteriner Hekimlik Kurultayının** Nisan ayı içersinde yapılacak olmasıdır. Konu ile ilgili çalışmalar TVHB Merkez Konseyi başkanlığında tüm meslek örgütlerinin destekleri ve katılımları ile sürdürülmektedir. Dünya Veteriner Hekimler Günü etkinlikleri içerisinde yapılacak olan Kurultay, mesleğimizin bayramı olacaktır.

Yoğun gündem tartışmalarıyla bir yıl daha geçti. Vakıf olarak istediğimiz yoğunlukta faaliyetler içinde olmasak da, meslek örgütleri ile birlikte ortak yürütülen çalışmaları elimizden geldiği oranda destekleme çabasında olduk. İmkânlarımız dâhilinde öğrenci burslarını verdik, 2009–2010 eğitim döneminde de vermeye devam edeceğiz.

İlginç ve güzel yazıların yer aldığı elinizdeki bu dergi ile sizleri baş başa bırakıyorum.

Dergimizi okuyun okutun. Dergimize katkıda bulunan tüm meslektaşlarıma teşekkür ederim.

Meslektaşlarımın 2010 yılını tebrik eder, **G**ününüz **D**aimi **O**lsun

Gelecek sayımızda buluşmak üzere sevgi ve saygılarımla...

Dr. Tahir GONCAGÜL

ÜÇ AYDA BİR YAYINLANIR
YIL :2010 CİLT:22 SAYI :1-2

Türk Veteriner Hekimleri Birliği Vakfı
Adına Sahibi
Abdullah Halis BAYTAZ

Yazı İşleri Müdürü
Dr. Tahir GONCAGÜL

Yayın Kurulu
Prof. Dr. Ceyhan ÖZBEYAZ
Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ
Doç. Dr. Güven KAŞIKÇI
Yrd. Doç. Dr. Yakup ÖMEROĞLU
Dr. Mehmet ALKAN
Dr. Hüseyin SUNGUR
Dr. İzzet ÖZTAŞIRAN
Dr. Ümit ÇERÇEL

Danışma Kurulu
Dr. Cengiz ALDEMİR
Prof. Dr. Yavuz SEZEN
Prof. Dr. Hüseyin DEVECİ
Prof. Dr. Erdoğan ŞEKER
Prof. Dr. Ali Mükremin APAYDIN
Prof. Dr. Celal İZCİ
Prof. Dr. Cenap Tekin ŞEN
Prof. Dr. Abdullah BAŞOĞLU
Prof. Dr. Zafer DURGÜN
Prof. Dr. Behiç COŞKUN
Prof. Dr. Abdül Kadir AKCAN
Prof. Dr. Orhan ÇETİN
Prof. Dr. Kürşat TURGUT
Prof. Dr. Dursun Ali DİNÇ
Prof. Dr. Osman ERGANİŞ
Prof. Dr. Fuat ODABAŞOĞLU
Prof. Dr. Bilal DİK
Prof. Dr. Feyzullah GÜÇLÜ
Prof. Dr. Fikriye EKMEN

Tasarım
MAKROMEDYA
Mithatpaşa Cad. 31/16 Kızılay - ANKARA
0 312 431 85
www.makromedya.com.tr

Baskı
Atalay Matbaacılık Tic.Ltd.Şti.
Sanayi 1.Cad. Sütçü Kemal İşhanı 7/82 İskitler
Tel : 0 312 384 41 82

Yerel Süreli Yayın
Baskı Tarihi 06 Mart 2010

İdare Merkezi Adresi
Esat Cad. No : 39/1 Küçükesat - ANKARA
Tel : 0 312 425 50 27 - 418 00 04
Faks : 0 312 418 46 17
www.tvetvakfi.org.tr
e-mail : tvetvakfi@tvetvakfi.org.tr

Yazılarda savunulan fikirler yazarlarına ait
Vakıf ve Dergi görüşü değildir

bilimsel makale

TÜRK Veteriner HEKİMLİĞİ DERGİSİ

Moleküler Metodlardan biri olan PCR'ın *Mycoplasma gallisepticum* İnfeksiyonu Tanısındaki Yeri

Prof. Dr. K. Tayfun ÇARLI[1]

Araş. Gör. Dr. Serpil KAHYA[1]

Özet :

Mycoplasma gallisepticum (MG) Mollicutes sınıfı, Mycoplasmatales takımı, Myco-plasmatacea ailesine ait bir bakteridir. MG, kronik solunum yolu hastalığının (CRD) etkenidir. Broylerlerde karkas kayıplarına ve yumurtacılarda yumurta üretiminde düşüşe neden olur. Bu sebeple tavuk ve hindi yetiştiriliciliği açısından önemli ekonomik kayıba neden olur. İnfeksiyon mikroorganizmanın spesifik antikorlarının, kendisinin veya DNA (deoksiribo nükleik asit)'sının tespitiyle teşhis edilir. Bu amaçla sırasıyla seroloji, kültür ve PCR'dan faydalanılır. MG antikorlarını tespit edebilen birçok serolojik test kullanılmaktadır fakat bunlardan bazılarının spesifite ve sensitivitesi oldukça düşüktür. Serolojik testler tavukları bireysel olarak test etmekten ziyade sürü taraması için kullanışlıdırlar. MG suşları arasında önemli antijenik farklar olması, hazırlanan antijen suşu ve saha suşunun farklı olmasına da yol açabileceğinden serolojik testlerin sensitivitesini etkilemektedir. Kültür teknikleri, patojenite, antibiyotik dirençliliği, virulens faktörleri ve suş farklılıkları gibi daha sonraki epidemiyolojik çalışmalara yardımcı olabileceği için MG'nin kesin teşhisi için zorunlu teşhis yolu olarak kabul edilirler. Bununla birlikte kültür teknikleri fazla iş gücü ve zaman kaybına neden olur ve bu tekniklerle izolasyon kronik olarak infekte yada antibiyotik tedavisi almış tavuklar için zor olabilir. Bunun yanında hızlı üreyen non-patojen Mycoplasma yada diğer mikroorganizmalarda sorun oluşturabilmektedir. MG teşhisinde serolojik testlerle yaşanan şüpheli durumları teyit için DNA bazlı moleküler teknikler kullanılabilir. Çoğunluğunu polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'nun oluşturduğu DNA tespit metotları özelleşmiş laboratuvarlarda kullanılmaktadır.

Anahtar sözcükler: *Mycoplasma gallisepticum* (MG), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), tavuk.

Summary :

Mycoplasma gallisepticum (MG) belongs to the class Mollicutes, order Mycoplasmatales, family Myco-plasmatacea. MG can cause significant economic loss in chickens and turkeys due to chronic respiratory disease, downgranding of carcasses in meat-type birds and loss of production in layers. Infection is diagnosed by detection of spesific antibodies and/or the organism or its DNA. Several serological tests have been used to detect MG antibodies, but specifity and sensitivity have been lacking to some degree in all of them. They are more satisfactory for flock screening than testing individual birds. Significant antigenic variability among MG strains also exists, which could affect the sensitivity of serological tests, depending on the strain infection the flock and the strain used to prepare antigen. Cultivation tecniques, have been considered as indispensable tools for definite diagnosis of MG, for they help determine the existence of infection in a certain flock and discover the casual organism, which, in return, allows for further epidemiological studies such as pathogenity, antibiotic resistance, virulence factors and strain differances. However, cultivation tecniques are laborious and time-consuming, and isolation by these techniques may be diffucult in chronically infected chickens or in those receiving antibiotics. Besides, there is the problem of owergrowth due to faster-growing Mycoplasmas or other organisms. Currently suspected situations in MG diagnosis by serological test can be readily figure out by molecular deoxyribonucleic acid (DNA) based methods. DNA detection methods, mainly based on the polymerase chain reaction, have come into use in specialised laboratories.

Key words: Chicken, *Mycoplasma gallisepticum* (MG), Polymerase Chain Reaction (PCR).

[1] *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD.*

TÜRK Veteriner HEKİMLİĞİ DERGİSİ

Giriş

Mycoplasma gallisepticum (MG) yaklaşık 0.25-0.5 µm boyutlarında, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, Gram negatif bir bakteridir (51). MG aerosol yolla lateral, yumurta ile vertikal olarak bulaşabilmektedir (9, 45, 52, 64). Horizantal bulaşma zannedildiğinden çok daha yavaştır, bulaşma genellikle infekte hayvanlarla direkt temas sonucu olmaktadır. Bununla birlikte insanlar ve fomitler de indirekt bulaşmada önemli rol oynayabilen araçlardır (10). Mycoplasma infeksiyonları kanatlılar arasında çok hızlı bir şekilde yayılabilir. Sürünün hastalık belirtileri göstermesinden bir veya 2 hafta sonra sürünün tamamı MG-pozitif olur. Soğuk mevsimlerde hastalık şiddetli ve uzun olur ve genç hayvanları daha fazla etkiler (61). Doğal infeksiyonlarda kuluçka süresinin çok uzayabilmesi, bulaşmanın yavaş olması ve klinik semptomlar gözlendiğinde çok gecikmiş olunacağı için ve vertikal bulaşma özelliğinden infeksiyonun sık taramalarla takibi çok önem kazanır (25).

MG tavuklarda 'Kronik Solunum Yolu Hastalığı' (CRD), hindilerde 'İnfeksiyöz Sinüzitis' hastalığının etkenidir (1, 37, 38, 67). MG etkeninin yol açtığı karkasların değer kaybetmesi, yem tüketimi ve yumurta verimindeki azalış ve artan tedavi masraflarından kaynaklanan ekonomik kayıplar, etkeni dünyada ticari kanatlı sektörünün yüz yüze kaldığı en masraflı etkenlerden biri haline getirmektedir (18). Damızlık tavuk ve hindiler MG ile infekte olduğunda, etkeni yumurta yoluyla civcivlere de aktarırlar (2, 14, 45). Böylece infeksiyon ticari et-tipi tavuklarda hava kesesi yangısına, yumurtacı tavuklarda CRD nedeniyle yumurta verimi düşüşlerine ve tüm yetiştirme tiplerinde solunum yolu problemlerine neden olarak önemli ekonomik kayıplar şekillendirir (48, 54). MG'a bağlı diğer bir ekonomik kayıp da yumurta içinde embriyoların ölümü (kabuk altı ölüm) nedeniyledir. Yumurtacılarda infeksiyonun antibiyotiklerle sağaltımı infeksiyonun geç dönemlerinde oldukça zordur. Bundan dolayı erken dönemlerde infeksiyonun tanısı ve sağaltımı çok kritik bir öneme sahiptir (45). Damızlıkların infeksiyonu halinde vertikal geçiş nedeniyle yetiştirme sonlandırılır. Tavuk ve hindi infeksiyöz hastalıklarının tanısı için kullanılan standart tanı yöntemleri olmakla birlikte özellikle serolojik yöntemlerde duyarlılık ve özgünlükle ilgili yaşanan problemler, bakteriyoloji ve virolojinin sadece özgün laboratuvarlarda uygulanabilmesi ve zaman alıcılığı diğer kanatlı hastalıkları gibi MG infeksiyonu için de çeşitli bilimsel çalışmalarda (6, 7, 27, 29, 60, 61) kanıtlanmış olup, veteriner hekimlikteki diagnostik mikrobiyolojide alternatif tanı yöntemlerinin geliştirilmesi gereksinimini ortaya çıkarmıştır. Doğal olarak geliştirilmiş bu alternatif moleküler tanı yöntemlerinden en önemlisi de polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) olmuştur (12, 15, 19, 20).

MG arama duyarlılığı PCR ile artınca, işletmelerden infeksiyonu saptamak amacıyla alınacak örnek sayıları daha azalacak, doğru sonuç alınacak örnek sayısı artacak ve bunlar sonucunda ise sektör testin kullanımıyla ilgili daha çok bilinçlendirilecektir. Tavukçuluk sektörü bu testi kullanarak, MG ile mücadele kapsamında yaptığı aşı, ilaç uygulaması, yönetim düzenlemeleri gibi uygulamaların sonuçlarının rasyonelliğini çok daha net bir biçimde değerlendirerek ekonomik kazanç sağlayabilecektir. Buna ek olarak, hastalığa bağlı canlı hayvan ve kuluçkalık yumurta üretim kayıpları, infeksiyonun doğru tanısı ile yetiştirmeden çıkarılacak infekte damızlıklar yoluyla en aza indirilerek ayrı bir ekonomik yarar daha kazanılmış olunacaktır.

MG infeksiyonunun tanısında PCR'ın Önemi

MG infeksiyonlarının teşhisinde, serolojik testler, kültür ve moleküler teknikler (özellikle PCR) kullanılmaktadır. Doğal infeksiyonlarda kuluçka süresinin çok uzayabilmesi, bulaşmanın yavaş olması ve klinik semptomlar gözlendiğinde çok gecikmiş olunacağı için infeksiyonun sık taramalarla takibi çok önem kazanır (25). Bazı vakalarda tracheadan 5-10 örnek yeterli olabilir. Bununla birlikte kronik durumlarda ya da düşük patojeniteli bir suşla infeksiyonda en az 30-100 adet örnekle çalışılması gerekmektedir (37). Dezavantaj olarak izolasyonu uzun süre gerektireceği ve sık olarak da başarısız olunacağından korunmada serolojik yoklamaları esas almak gerekecektir (25). MG infeksiyonunun sürü-tabanlı tanısı serolojiye dayandırılır. Antikorlar üzerinden teşhisi sağlayan çeşitli serolojik testler kullanılmaktadır (8, 16, 34, 55). MG hastalığının tipik semptomları ve bu semptomlarla birlikte pozitif serolojik test, mikroorganizmanın izolasyon ve identifikasyonuna başvurmadan önce ön tanı için oldukça önemlidir (2). Serolojik testler Kanatlı Koruma Kontrol Programı [(National Poultry Improvement Plan (NPIP)] 'nın (1) bir parçası olarak kontrol programlarının temel testleridir (37). Serolojik testler en çok güven ve kullanım sırasıyla çabuk lam aglutinasyon testi (ÇLA), hemaglutinasyon inhibisyon testi (HI), enzimle bağlı immunosorbent testi (ELISA)'dır (1, 38).

MG antikorlarını tespit etmek için kullanılan serolojik testlerin özgünlük ve duyarlılığı oldukça düşüktür. Serolojik

testlerde yalancı pozitif ve yalancı negatif reaksiyonlar çok fazla yaşanmaktadır. Bu yüzden serolojik testler, kanatlıları bireysel olarak test etmekten ziyade sürü izlenmesine daha uygundurlar (43, 59).

Kanatlı sürülerinde patojenik *Mycoplasma* infeksiyonlarının izlenmesi genellikle ilk olarak ÇLA testi ile gerçekleştirilir. Sürü izlenmesi ve serolojik teşhisin başlangıcı için ÇLA testi hızlı, ucuz ve hassas bir testtir. İnfeksiyona karşı ilk oluşan IgM antikorlarını tespit için ÇLA testi hayli etkilidir (45). ÇLA testi antijeni MG antikorlarını tespit için ticari olarak mevcuttur (Intervet, Boxmeer, Hollanda). ÇLA testinin dezavantajları IgM'lerin ancak 7. günden sonra oluşması ve antijene bağlı olumsuzluklardır. ÇLA testinin en büyük dezavantajı yanlış pozitifliklerden dolayı olan düşük özgünlüğüdür.

HI testi ÇLA testine göre daha özgündür ve ÇLA pozitif sürüler HI testiyle teyit edilir (25, 37). Bununla birlikte HI testi zaman harcatan, gerekli maddelerin temini oldukça zor olan ve duyarlılığı düşük olan bir testtir. HI testiyle IgG antikorları tespit edilir. Bu yüzden HI testi ancak infeksiyondan 2-4 hafta sonra teyit testi şeklinde kullanılabilmektedir (25). Ayrıca bir MG suşuyla hazırlanan antijenle farklı bir suş tarafından oluşturulan hastalığın teşhisi mümkün olmayabilir (37). Antijen üretiminin zorluğu ve üretimde laboratuvarlar arası üretim farklılıkları da problem oluşturabilmektedir (25).

ELISA testi HI ve ÇLA testiyle sağlanan sonuçların güvenilirliğini, duyarlılığı ve özgünlüğünü arttırmak için geliştirilmiştir. Öncelikle IgG fakat IgM antikorları da tespit edebilmektedir (25). HI testi gibi genel olarak ÇLA testinden oldukça az duyarlı fakat daha özgündür (2, 37). Bu nedenle civcivin ilk günündeki serolojik kontrollerinin ELISA testi ile yapılması önerilmektedir. İlk 48 saatten sonra iyi sonuç alınmayabilir çünkü antikorlar 4. günden sonra giderek hızla azalacak ve 18. günde kaybolacaklardır (25). Monoklonal antikorlarla hazırlanan "bloking ELISA" dahil olmak üzere MG antikoru içeren birçok ticari ELISA kiti mevcuttur (2). Kit üretim farklılığı ve ortam şartları, laboratuvarlar arası farklılıklar oluşturabilmektedir (25). Tavuklarda doğal infeksiyonların hepsinin tipik MG suşlarından kaynaklanmadığı ve antijenik varyant suşların da hastalığa neden olabilecekleri ve bu durumun da tanıda sorun yaratabileceği bildirilmiştir (35, 36). Bu yüzden MG suşları arasında virulens ve serolojik yanıt oluşturma açısından oldukça büyük farklar bulunmaktadır (39, 56, 68).

Serolojik testlerle problemlerin yaşandığı durumlarda sürünün MG teyidi için kültür veya PCR'a da başvurulabilir. Kültür teknikleri zaman alıcıdır, pozitif sonuçlar 2 haftada alınabilmesine karşın kesin negatif sonuçlar için 30 günlük bir sürenin geçmesi gerekmektedir. Kültürlerde fazla iş gücü, hızlı üreyen apatojen *Mycoplasma* suşları, saprofitik *Mycoplasma*'lar ya da başka bakteri ve maya gibi mikroorganizmaların üremesi, hiç üreme olmaması, antibiyotik kullanımına bağlı problemler gibi sorunlar ortaya çıkabilmektedir (3, 40, 66). Örneklerin *Mycoplasma*'ya özel broth kültürlere ve daha sonra direkt koloni gelişimi açısından *Mycoplasma*'ya özel katı besiyerlerine inokulasyonundan sonra identifikasyon amacıyla immun floresan (IF) testleri uygulanabilir. Fakat bu testler oldukça fazla iş gücü ve optimize sistemler gerektirdiğinden pratikte çok fazla kullanılmamaktadırlar (4, 8, 17).

Kanatlı endüstrisinde teşhis amacı ile PCR testleri geleneksel metotların (kültür) sınırlamalarından dolayı, gittikçe artan biçimde kullanılmaktadırlar. *Mycoplasma*'dan ari kanatlı sürülerinin yetiştirilmesinde PCR'la ilgili çalışmalarda önemli gelişmeler yaşanmaktadır (19, 21-24, 28). Yavaş üreyen ve teşhisi günler/haftalar alacak mikroorganizmaların teşhisinde, doğal konaklarının dışında üretilmesi çok zor olan ve bu yüzden tespit edilemeyen mikroorganizmaların teşhisinde PCR'ın kullanımı çok önem kazanmıştır (58). PCR'nun en büyük avantajı transport nedeniyle ölmüş olduğundan kültürle üretilemeyecek durumlarda ve kronik persistent etkenlerde kullanılabilmesidir (4).

PCR'ın düşük miktardaki nükleik asitleri kolayca tespit etmekte oldukça spesifik ve hassas olduğu kanıtlanmıştır (49). Örneğin PCR yazıda daha önce değinildiği gibi serolojideki bazı problemler yaşandığında hemen yardım alınacak bir testtir. Bazı durumlarda tavukların trachealarında bulunan MG'nin antijenitesi immunolojik sistemin saptayabileceği düzeyde antikor oluşumunu uyaramaz veya diğer bir ifade ile tavuk kan serumundaki antikorlar SPA – veya ELISA testleri ile saptanamaz. Bu durumlarda mutlaka bakteriyoloji veya PCR'a gereksinim vardır (14). Canlı MG F suşu aşı suşu olarak kullanılmasına rağmen tamamen apatojen değildir ve MG'den ari olan tavuk sürülerine yayılabilir. Hastalığın aşı suşundan mı yoksa saha suşundan mı kaynaklandığı geleneksel serolojik veya izolasyon ve identifikasyon metotlarıyla tespit edilemez. Bunu tespit etmenin en spesifik ve hassas yollarından biri PCR'dır (3).

Mikroskobik ve kültür teknikleri, antijen arayan metotlar ve serolojik testler geleneksel diyagnostik mikrobiyolojik analizlerdir. Bu tekniklerin kullanımları oldukça

Kaynaklar

1- ANONİM. Standart test procedures for *Mycoplasma*. National Poultry Improvement Plan and Auxiliary Provisions, Animals and Animal Products, Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Part 147, U.S, 2004.

2- ANONİM. Avian *Mycoplasmosis* (*Mycoplasma gallisepticum, M. synoviae*). Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.3.5, Ofis International Epizootic terrestrial manual, Paris, 2008.

3- ANONİM. Validation and quality control of polymerase chain reaction methods used for the diagnosis of infectious diseases. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Chapter 1.1.5, Ofise International Epizootic terrestrial Manual, Paris, 2008.

4- ANONİM. Biotechnology in the diagnosis of infectious diseases and vaccine developments. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Chapter 1.1.7. Office International Epizootics Terrestrial Manual, Paris, 2009.

5- BAGCIGİL AF, ILGAZ A. Studies on the diagnosing of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. Medycyna Weterynayrina, 61: 158-161, 2005.

6- BARUA SR, PRODHAN AM, ISLAM S, CHOWDHURY S. Study on *Mycoplasma gallisepticum* in chickens in selected areas of Bangladesh. Journal of Veterinary Medical Science, 4: 141-142, 2006.

7- BLANCHARD B, CHEVALLIER B, VERMISSE Y, CHARBONNIER A, GUENNEC JLE. Detection by PCR of avian *Mycoplasmas* from environmental swabs of poultry houses. British Poultry Science, 42: 59-63, 2001.

8- BRADBURY JM, McCARTHY JD, METWALF AZ. Microimmunofluorescence for the serological diagnosis of avian *Mycoplasma* infections. Avian Pathology, 19: 213-222, 1990.

9- CARTER GR, WISE DJ. Essentials of veterinary bacteriology and mycology. Iowae State Pres, Amerika, page 172-175, 2004.

10- CHRISTENSEN NH, YAVARI CA, McBAIN AJ, BRADBURY JM. Investigations into the survival of *Mycoplasma gallisepticum, Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma iowae* on materials found in the poultry house environment. Avian Pathology, 23: 127-143, 1994.

11- COCKERILL FR. Application of rapid-cycle real-time polymerase chain reaction for diagnostic testing in the clinical microbiology laboratory. Archieves of Pathology and Laboratory Medicine, 127: 1112-1120, 2003.

12- ÇARLI KT, EYİGÖR A. Real-time polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum* in chicken trachea. Avian Diseases, 47: 712-717, 2003.

13- ÇARLI KT. Kanatlı Hayvanların İnfeksiyöz Hastalıkları. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, yayın no: 2003-1, Bursa, sayfa 33-40, 2003.

14- ÇARLI KT. Tavuklarda *Mycoplasma* infeksiyonlarında Real-Time PCR ve *Mycoplasma gallisepticum* infekte sürülerin durumu. Veteriner Tavukçuluk Derneği dergisi, 1: 3-5, 2008.

15- DOVC P, BENCINA D, ANTES R, MANN W. Recombinant DNA probes and polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum* strains. Federation of European Microbiological Societies, 122: 79-84, 1994.

16- ESSENDAL ÖM. Tavuklarda *Mycoplasma gallisepticum*'a karşı oluşan antikorların çeşitli serolojik yöntemlerle (lam aglutinasyon, hemaglutinasyon inhibisyon, agar jel presipitasyon, ELISA) saptanması ve sonuçların karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 41: 18-47, 1994.

17- ESSENDAL ÖM, YARDIMCI H, AYDIN N. Kanatlı hayvanlarda *Mycoplasma gallisepticum* ve *Mycoplasma synoviae*' ye karşı oluşan antikorların tesbitinde serum lam aglutinasyon (SPA), hemaglutinasyon inhibisyon (HI) ve immunocomb katı-fazi Immunoassay yöntemlerinin karşılaştırılması. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi, 8: 33-45, 1996.

18-EVANS JD, LEIGH SA, BRANTON SL, COLLIER SD, PHARR GT, BEARSON SMD. *Mycoplasma gallisepticum*: Current and developing means to control the avian pathogen. Journal of Applied Poultry Research, 14: 757-763, 2005.

19- FAN HH, KLEVEN SH, JACKWOOD MW. Application of polymerase chain reaction with arbitrary primers to strain identification of *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Diseses, 39: 729-735, 1995.

20- FAN HH, KLEVEN H, JACKWOOD MW, JOHANSSON KE, PETTERSON B, LEVISOHN S. Species identification of avian *Mycoplasmas* by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. Avian Diseases, 39: 398-407, 1995.

21- GARCIA M, JACKWOOD MW, LEVISOHN S, KLEVEN SH. Detection of *Mycoplasma gallisepticum, M. synoviae* and *M. iowae* by multi-species polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. Avian Diseases, 39: 606-616, 1995.

22- GARCIA M, JACKWOOD MW, HEAD M, LEVISOHN S, KLEVEN SH. Use of species-spesific oligonucleotide probes to detect *Mycoplasma gallisepticum, M. synoviae* and *M. iowae* PCR amplification products. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 8: 56-63, 1996.

23- GARCIA M, IKUTA N, LEVISOHN S, KLEVEN SH. Evaluation and comparison of various PCR methods for detection of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. Avian Diseases, 49: 125- 132, 2005.

24- GEARY SJ, FORSYTH MH, SAOUD A, WANG G, BERG DE, BERG CM. *Mycoplasma gallisepticum* strain differentiation by arbitrary primer PCR (RAPD) fingerprinting. Molecular and Cellular Probes, 8: 311-316, 1994.

25- GÖKÇELİK G. *Mycoplasma* infeksiyonlarının teşhisi ve serolojik izleme programlarının önemi. Veteriner Tavukçuluk Derneği Dergisi, 1: 6-11, 2008.

26- GÜLER L. Konya bölgesinde kanatlıların kronik solunum yolu hastalığı (chronic respiratory diseases-CRD)' nin serolojik ve etken izolasyonu ile karşılaştırmalı teşhisi üzerine çalışmalar. Veterinarium, 6: 7-15, 1995.

27- HAAHEIM H, VORLAND L, GUTTEBERG TJ. Laboratory diagnosis of respiratory diseases: PCR versus serology. Nucleosides, Nucleotides, Nucleic Acids, 20: 1255-1258, 2001.

28- HESS M, NEUBAUER C, HACKL R. Interlaboratory comprison of ability to detect nucleic acid of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* by polymerase chain reaction. Avian Pathology, 36: 127-133, 2007.

29- HOSSAIN KMM, ALI MY, HAQUE MI. Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chicken in the greater rajshahı strict of Bangladesh. Journal of Veterinary Medical Science, 5: 9-14, 2006.

30- JORDAN FTW, FORRESTER CA, HODGE A, JOHNSON-REEVE LG. Comparision of an aqueous preparation of tilmicosin with tylosin in the threatment of *Mycoplasma gallisepticum* infection of turkey poults. Avian Diseases, 43: 521-525, 1999.

31- JORDAN FTW, FORRESTER CA, RIPLEY PH, BURCH DGS. In vitro and in vivo comparisons of valnemulin, tiamulin, tylosin, enrofloxacin and lincomycin/spectinomycin against *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Diseases, 42: 738-745, 1998.

32- KESLER K, GÜLER L, ORHAN G. Tavuklarda kronik solunum sistemi hastalığının (CRD) teşhisinde PCR tekniğinin kullanılması. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Hayvan Sağlığı Araştırmaları Program Değerlendirme Toplantısı, Antalya sayfa 215-224, 2008.

33- KEMPF I, BLANCHARD A, GESBERT F, GUITTET M, BENNEJEAN G. The polymerase chain reaction for *Mycoplasma gallisepticum* detection. Avian Pathology, 22: 739-750, 1993.
34- KEMPF I, GESBERT F, GUITET M, BENNEJEAN G, STIPKOVITS L. Evaluation of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for the detection of *Mycoplasma gallisepticum* antibodies. Avian Pathology, 23: 329-338, 1994.
35- KEMPF I, GESBERT F, GUITTET M. Experimental infection of chickens with an atypical *Mycoplasma gallisepticum* strain: comparition of diagnostic methods. Research of Veterinary Sciences, 63: 211-213, 1997.
36- KHAN MI, KLEVEN SH. Detection of *Mycoplasma gallisepticum* infection in field samples using samples using a species-spesific DNA probe. Avian Diseases, 37: 880-883, 1993.
37- KLEVEN SH, YODER HW. *Mycoplasmosis.* Editörler: PURCHASE HG, ARP LH, DOMERMUTH CH, PEARSON JE. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, 3th edition, American Association of Avian Pathologists, Kenet Square, Pennsylvania, page 57-62, 1984.
38- KLEVEN S. JORDAN HFTW, BRADBURY JM. Avian *Mycoplasmosis* (*Mycoplasma gallisepticum*). Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. Office International Des Epizootics, Paris, page 512-521, 1996.
39- KLEVEN SH. *Mycoplasmas* in the etiology of multifactorial respiratory diseases. Poultry Science, 77: 1146-1149, 1998.
40- LAUERMAN L, HOERR FJ, SHARPTON AR, SHAH SM, SANTEN VLV. Development and application of polymerase chain reaction assay for *Mycoplasma synoviae.* Avian Diseases, 37: 829-834, 1993.
41- LAUERMAN LH, CHILINA AR, CLOSSER JA, JOHANSEN D. Avian *Mycoplasma* identification using polymerase chain reaction amplicon and restriction fragment length polymorphism analysis. Avian Diseases, 39: 804-811, 1995.
42- LAUERMAN LH. Nucleic amplification assays for diagnosis of animal diseases. Ed. American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Auburn, AL, USA, page 41–52, 1998.
43- LEVISOHN S, KLEVEN SH. Avian *Mycoplasmosis* (*Mycoplasma gallisepticum*). Rev. Sci. Tech. Off. Epiz, 19: 425-442, 2000.
44- LEY DH, AVAKIAN AP, BERKHOFF JE. Clinical *Mycoplasma gallisepticum* infection in multiplier breeder and meat turkeys caused by F strain: identification by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, restriction endonuclease analysis and the polymerase chain reaction. Avian Diseases, 37: 854- 862, 1993.
45- LEY DH. *Mycoplasma gallisepticum* infection. Editörler: SAIF YM, BARNES HJ, FADLY AM, GLISSON JR, MCDOUGALD LR, SWAYNE DE. Diseases of poultry, Iowa State University Pres, 11. edition, page 722-743, 2003.
46- MARDASSI BBA, MOHAMED RB, GUERIRI I, BOUGHATTAS S, MLIK B. Dublex PCR to differantiate between *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* on the basis of conserved species-spesific sequences of their hemagglutinin genes. Journal of Clinical Microbiology, 43: 948-958, 2005.
47- MAROIS C, DUTFOUR-GESBERT F, KEMPF I. Detection *of Mycoplasma synoviae* in poultry environment samples by culture and polymerase chain reaction. Veterinary Microbiology, 73: 311-318, 2000.
48- MOHAMMED HO, CARPENTER TE, YAMAMOTO R. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial layer flocks. Avian Diseases, 31: 477-82, 1987.
49- NASCIMENTO ER, YAMAMOTO R, HERRICK KR, TAIT RC. Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Diseases, 35: 62-69, 1991.
50- OLSAN NO, YAMAMOTO R, ORTMAYER H. Antijenic relationship between *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum*. American Journal of Veterinary Research, 26: 195-198, 1965.
51- QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY B, CARTER GR. Clinical veterinary microbiology, Amerika, page 320-326, 2000.
52- QUINN DJ, MARKEY BK, CARTER ME, DANNELLY WJ, LEONARD FC. Veterinary Microbiology and Microbial Diseases. Blacwell Publishing, Amerika, Chapter: 33, page 189-195, 2003.
53- RAVIV Z, CALLISON SA, FERGUSON-NOEL N, KLEVEN SH. Strain differentiating real-time PCR for *Mycoplasma gallisepticum* live vaccine evaluation studies. Veterinary Microbiology, 129: 179-187, 2008.
54- RHORER AR. National Poultry Improvement Plan, Conyers, GA, Personal communication, 2002.
55- ROBERTS DH. Non-specific agglutination reactions with *Mycoplasma gallisepticum* antijens. Veterinary Record, 87: 125-126, 1970.
56- RODRIGUEZ R, KLEVEN SH. Pathogenicity of two strains of *Mycoplasma gallisepticum* in broiler chickens. Avian Diseases, 24: 800-807, 1980.
57- ROEKEOL VH, OLESIUK OM. The etiology of chronic respiratory disease. Proceedings of 90th Annual Meeting of American Veterinary Medical Association, page 289-303, 1953.
58- SACHSE K. Specifity and performance of PCR detection assays for microbial pathogens. Molecular Biotechnology, 26: 61-79, 2004.
59- SALAMI JO, ADDO P, UMOH JU, ADEGBOYE DS. Chicken *Mycoplasmosis*: A review with special reference to *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae*. Veterinary Bulletin, 62: 511-520, 1992.
60- SARKAR SK, RAHMAN M, AMIN KMR, KHAN MFR, RAHMAN MM. Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens in model breeder poultry farms of Bangladesh. International Journal of Poultry Science, 4: 32-35, 2005.
61- SIKDER AJ, ISLAM MA, RAHMAN MM, RAHMAN MB. Seroprevalence of *Salmonella* and *Mycoplasma gallisepticum* infection in the six model breeder poultry farms at Patuakhali district in Bangladesh. International Journal of Poultry Science, 4: 905-910, 2005.
62- SLAVIK MF, WANG RF, CAO WW. Development and evaluation of polymerase chain reaction method for diagnosis of *Mycoplasma gallisepticum* infections in chickens. Mollecular and Cellular Probes, 7: 459-463, 1993.
63-SNELL GC, CULLEN G. An evaluation of rapid serum agglutination inhibition tests for *Mycoplasmosis* in Turkeys. Brazilian Veterinary Journal, 138: 198-204, 1978.
64- TIMONEY JF, GILLESPIE JH, SCOTT FW, BARLOUGH JE. Hogan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. Eight Edition, Amerika, page 312-314, 1984.
65- TÜRKASLAN J, SALİHOĞLU H. Çeşitli besiyerleri kullanılarak *Mycoplasma gallisepticum*'un bakteriyolojik yöntemlerle izolasyon ve identifikasyonu. Pendik Hayvan Hastalıkları Merkezi Araştırma Ensitüsü Dergisi, 2: 53-59, 1989.
66- VALASEK MA, REPA JJ. The power of real-time PCR. Advances in Physiology Education, 29: 151-159, 2005.
67- YODER HW. *Mycoplasma gallisepticum* infection. Editörler: HOFSTAD MS, BARNES HJ, CALNEK BW, REID WM, YODER HW. Diseases of Poultry. 8. edition. Iowa State University Pres, Ames, Iowa, page 190-212, 1984.
68- YODER HW. A Historical account of the diagnosis and characterization of strains of *Mycoplasma gallisepticum* of the virulence. Avian Diseses, 30: 510-518, 1986.
69- YODER HW. Nonspesific reactions to *Mycoplasma* serum plate antigens induced by inactivated poultry disease vaccines. Avian Diseases, 33: 60-68, 1989.