

## ***Mycoplasma gallisepticum* ile doğal enfekte kınalı keklüklerde (*Alectoris chukar*) ve Japon bildircinlarında (*Coturnix coturnix japonica*) patomorfolojik ve immünohistokimyasal incelemeler**

Nihat TOPLU<sup>1</sup>, Hamdi AVCI<sup>1</sup>, Erkmen Tuğrul EPIKMEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.

**Özet:** Çalışmada, doğal enfekte kınalı keklüklerde (5 adet) ve Japon bildircinlarında (11 adet) *Mycoplasma gallisepticum* tarafından oluşturulan mikoplazmozisin patomorfolojik bulguları ve immünohistokimyasal olarak da mikroorganizma antijenlerinin doku yerleşimleri tanımlandı. Her iki hayvan türünde; durgunluk, yem tüketiminde azalma, zayıflama, serözden katarala kadar değişen nazal akıntı ve konjunktivitis dikkati çeken klinik bulguları. Bu bulguları takiben hayvanların genellikle 3-4 hafta içinde öldüğü belirtildi. Mortalitenin kınalı keklüklerde % 43, Japon bildircinlarında % 37 olduğu bildirildi. Nekropside en çok göze çarpan bulgu; nazal ve paranasal sinüslerde, tek ya da çift taraflı, değişen derecelerde şişkinlik ve içleri sarımsak renkte kazeöz eksudat birikimiydi. Bazı olgularda hava keseleri kalınlaşmış ve mat bir görünüme sahipti. Histopatolojik incelemede; sinüsler genellikle nekrotik doku kalıntıları, dökülmüş epitel hücreleri, bakteri kümeleri ve heterofil lökositlerden oluşan kazeifiye eksudat içermekte idi. Ayrıca, sinüslerde müköz bezlerde hiperplazi, submukozada fokal lenfoid hücre hiperplazileri ve/veya diffuz mononükleer hücre infiltrasyonları göze çarptı. Tavuktan elde anti-*Mycoplasma gallisepticum* poliklonal antikoru kullanılarak yapılan immünofloresan incelemede, bakteriyel antijenler nazal ve paranasal sinüslerdeki eksudat içerisinde yoğun şekilde; daha az olmak üzere de trake, hava keseleri, akciğerler ve bağırsaklarda saptandı. Çalışma sonuçları, *Mycoplasma gallisepticum*'un izolasyonunun ve identifikasyonunun gerçekleştirilemediği koşullarda, immünofloresan yöntemin hızlı ve güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar sözcükler: İmmünofloresan, Japon bildircini (*Coturnix coturnix japonica*), kınalı keklük (*Alectoris chukar*), *Mycoplasma gallisepticum*.

### **Pathomorphological and immunohistochemical examinations in naturally infected partridges (*Alectoris chukar*) and Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) with *Mycoplasma gallisepticum***

**Summary:** The present study describes pathomorphological findings and tissue localisation of bacterial antigens immunohistochemically in naturally infected partridges (n: 5) and Japanese quails (n: 11) with *Mycoplasma gallisepticum*. In both animal species, marked clinical findings were lethargy, decreased food consumption and body condition, conjunctivitis as well as nasal discharge ranging from serous to catarrhal. Following these findings, death of the animals occurred usually within 3-4 weeks. The mortality rate was 43% and 37% in partridges and Japanese quails, respectively. At necropsy, nasal and paranasal sinuses were filled with yellowish caseous exudate uni- or bilaterally at varying degrees. In some cases, air sacs were thickened and opaque in appearance. In histopathological examination, sinuses were filled with caseous exudate including necrotic tissue debris, clumps of bacteria, and heterophile leukocytes. Additionally, there was hyperplasia of mucous glands and focal lymphoid cell hyperplasia and/or diffuse mononuclear cell infiltrations in submucosa of sinuses. In fluorescent antibody examination using polyclonal chicken anti-*Mycoplasma gallisepticum* primary antibody, bacterial antigens were found abundantly in the exudate in nasal and paranasal sinuses and, to a lesser extend, in trachea, air sacs, lungs and intestines. As a result, this study indicated that if *Mycoplasma gallisepticum* couldn't be isolated and identified, immunofluorescence method could be used quickly and safely.

Key words: Immunofluorescence, japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) *Mycoplasma gallisepticum*, partridges (*Alectoris chukar*).

### **Giriş**

*Mycoplasma gallisepticum* (*M. gallisepticum*) tarafından oluşturulan mikoplazmozis, tavuklarda kronik solunum hastalığı, hindilerde ise enfeksiyöz sinüzitis ve keratokonjunktivitis ile karakterize bir hastalıktır (11, 13). Hastalık özellikle büyümede gerileme, karkas ağırlığında,

yumurta veriminde ve civciv çıkma oranlarında azalmalara neden olur ve kanatlı sektöründe önemli ekonomik kayıplara yol açar (6, 17).

Gram negatif, hareketsiz, kapsülsüz bir bakteri olan *M. gallisepticum*, kanatlılarda hastalığa neden olan *Mycoplasma* ailesi içerisinde en yaygın görülen türlerden

birdir (6, 13). Bakterinin hücre duvarının bulunmaması nedeniyle mikroskopik incelemelerde halka, yüzük, kokoid ve yıldız şeklinde değişik görümlere sahiptir (6, 10, 13).

Mikoplazmozis başta tavuk ve hindiler olmak üzere sülün, bildircin, keklik, ördek, tavus kuşu, güvercin, kaz ve Amazon papağanı gibi farklı birçok kanatlı türlerinde yaygın olarak görülmektedir (1, 14, 20, 21). Hastalık her yaş grubundaki kanatlıları etkilemesine rağmen, özellikle genç hayvanlar hastalığa karşı çok daha duyarlıdır (6, 10). Hastalığın oluşumunda oral (5), horizontal (4, 7), vertikal (1, 19), aerosol ve konjunktival yolla (5, 12) bulaşmanın etkili olduğu bildirilmektedir.

Nekropside, nazal ve paranazal sinüsler ile trake, hava keseleri ve bronşlarda kazeöz eksudat göze çarpar (8, 10, 16, 18). Şiddetli olgularda özellikle nazal ve paranazal sinüslerdeki eksudatın gözlere yaptığı baskı tek ya da çift taraflı körlüklere neden olabilir (10). Makroskopik bulgularla uyumlu olarak mikroskopik incelemelerde, hemen hemen birçok kanatlı türünde lezyonlar öncelikli olarak nazal ve paranazal sinüslerde görülür (10, 13). Bu lezyonlar müköz bezlerde hiperplazi ve submukozada lenfoid hücre hiperplazileri ve/veya mononükleer hücre infiltrasyonları şeklindedir (8, 13, 18). Trakeitis, airsakkulitis, artrit ve ovaritis tanımlanabilen diğer histopatolojik bulgulardır (5, 6, 10).

Sunulan çalışmada, *M. gallisepticum*'un neden olduğu doğal mikoplazmoziste şekillenen bulgular kınalı kekliklerde ve Japon bildircinlerde kapsamlı olarak değerlendirilmiş, tanıda immünohistokimyasal yöntemlerden immünofloresan (İF) yönteminin yeri araştırılmıştır.

## Materyal ve Metot

Çalışmada birinde 120 adet (n: 5, 6-8 haftalık) kınalı keklik, diğerinde 110 adet (n: 11, 5-8 haftalık) Japon bildircini bulunan iki farklı işletmeden temin edilen toplam 16 adet kanatlı incelendi. Bunlardan 7 hayvan (3 kınalı keklik, 4 Japon bildircini) ölü halde laboratuvara ulaştırıldı. Enfeksiyon belirtisi gösteren canlı hayvanlar, hayvan sahiplerinin istekleri doğrultusunda ve etik kurallar çerçevesinde servikal dislokasyon yoluyla ötanazi edildi. Ölü olarak getirilen ve ötanazi edilen hayvanların nekropsileri gerçekleştirildikten sonra; alınan doku örnekleri bilinen yöntemlerle takip edildi ve 5 µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyandı. Ayrıca gerekli görülen kesitler bakteri için Brown-Brenn boyama tekniğine göre boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi (15). Seri parafin kesitlere, *M. gallisepticum* antijenlerini ortaya koymak için İF yöntem uygulandı.

Işık mikroskopu (Olympus BX51, 10'luk oküler ve 20'lik objektif) altında incelenen nazal ve paranazal sinüsler ile trake, akciğer ve hava keseleri ve gözlerde görülen lezyonlar; -: Lezyon yok; +: hücre infiltrasyonu (hafif lezyon); ++: bakteri kümesi ve hücre infiltrasyonu, (orta şiddette lezyon); +++: müköz bezlerde hiperplazi, nekroz, hücre infiltrasyonu, fokal lenfoid hücre hiperplazileri ve bakteri kümesinin birlikte görüldüğü bulgular ise (şiddetli lezyon) şeklinde değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 1'de belirtildi.

*İmmünohistokimya (İHK)*: Doku kesitlerinde (Sinüsler, göz, akciğerler, hava keseleri, trake, bağırsaklar, karaciğer, dalak, böbrekler, beyin, bezli ve kaslı mideler),

Tablo 1. *M. gallisepticum* ile doğal enfekte kınalı kekliklerde ve japon bildircinlerinde histopatolojik ve immünofloresan bulguların dağılımı

Table 1. Histopathological and immunofluorescent findings in various tissues of partridges and Japanese quail naturally infected with *M. gallisepticum*.

		Histopatolojik Bulgular / İmmünofloresan reaksiyonlar					
		Sinüsler		Hava			
Olgu No		Nazal	Paranasal	Kesesi	Trake	Akciğerler	Konjunktiva
Kınalı Keklik	1	++ / ++	+++ / +++	+ / +	+ / +	+ / +	++ / -
	2	++ / ++	++ / ++	+ / -	- / -	- / -	+ / +
	3	+++ / +++	+++ / +++	+ + + / + + +	- / +	+ / +	++ / +
	4	++ / ++	++ / ++	- / -	- / +	- / -	+ / +
	5	+ / ++	++ / ++	- / -	+ / -	- / -	- / +
Japon Bildircini	1	++ / ++	+++ / +++	+++ / +	+ / +	- / -	+ / -
	2	+++ / +++	+++ / +++	- / -	- / -	- / +	- / -
	3	+++ / ++	++ / +++	- / -	+ / -	- / -	+ / +++
	4	+++ / ++	+++ / ++	- / +	- / -	+ / +	+ / +
	5	+++ / +++	++ / +++	- / -	- / -	- / +	+ / +
	6	++ / ++	+++ / +++	+ / +	- / -	+ / -	+ / -
	7	+++ / +++	+++ / ++	- / -	- / -	- / -	- / -
	8	++ / +++	++ / +++	+++ / ++	+ / +	++ / +++	++ / ++
	9	+++ / +++	+++ / +++	- / -	- / -	- / -	- / -
	10	+++ / ++	+++ / ++	- / -	+ / -	- / -	- / -
	11	+++ / ++	++ / +++	+ / +	- / -	- / -	+ / +

+: zayıf      ++: orta şiddetli      +++: şiddetli  
 +: slight      ++: moderate      +++: severe

*M. gallisepticum* antijeninin tespiti için İF yöntemden yararlanıldı. Bu testte primer antikor olarak tavuk anti-*M. gallisepticum* poliklonal antikor, sekonder antikor olarak da tavşan anti-tavuk gamma globulin-fluorescein isothiocyanate (FITC, Sigma, Rehovot, Israel) konjugatı kullanıldı. Test boyunca inkubasyon işlemleri nemli kameralarda takip edildi. Test prosedürünün her aşamasında kesitler fosfat tampon solüsyonunda (PBS; pH 7,2) 15 dakika süre ile yıkandı. Testin ilk aşamasında; *poly-L-lysine* (Sigma) kaplı lamlarda 5 µ kalınlığındaki parafin kesitlerin, ksilolde parafini giderildi ve alkol serilerinde dehidre edildi. İkinci aşamada; bakteri antijenleri ile formaldehit arasındaki köprülerin kırılması amacıyla, dokulara 37 °C'de 10 dakika % 0,1 proteinase-K uygulandı. Üçüncü aşamada; tavuk anti- *M. gallisepticum* poliklonal antikor (1:100 sulandırma) damlatıldı ve 37 °C'de 2 saat inkube edildi. Dördüncü aşamada, tavşan anti-tavuk gamma globulin-FITC konjugatı ile 37 °C'de 45 dakika inkube edildi. Son olarak, dokuların üzerine gliserinli PBS karışımı (1:9, pH 9) damlatıldı ve dokular lamelle kapatıldı. Kontrol için yukarıda belirtilen doku kesitlerinde aynı test prosedürü uygulandı ve primer antikor yerine normal tavuk serumu uygulandı. Kesitlerin incelenmesi üstten ışıtmalı floresan mikroskop (Olympus U-LH100-3) ile gerçekleştirildi. Pozitif reaksiyonların derecelendirilmesi (20'lik objektifte): -: negatif; +: 1-2 alandaki pozitiflik; ++: 3-5 alandaki pozitiflik; +++: 6 > pozitiflik olarak değerlendirildi ve Tablo 1'de sunuldu.

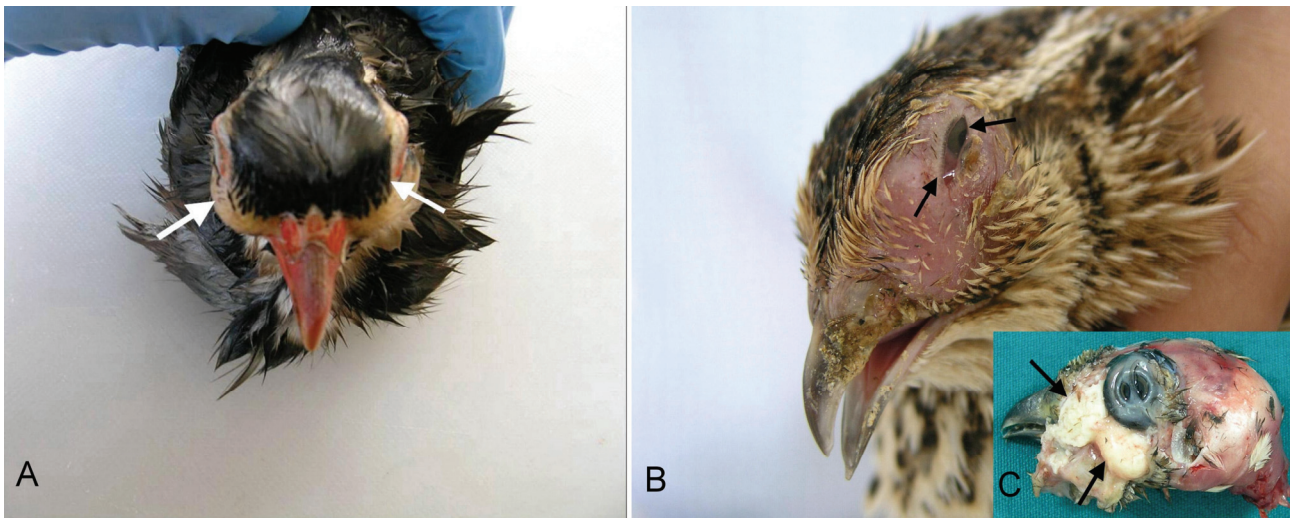
### Bulgular

**Klinik Bulgular:** Her iki hayvan türünde, hasta hayvanlarda genel olarak durgunluk, yem tüketiminde azalma, zayıflama, öksürük ve tıksırık, solunum güçlüğü, serözden katarala kadar değişen tabiatta nazal akıntı ve

konjunktivitis gözlemlendi. Bu bulguları takiben genellikle 3-4 hafta içinde hasta hayvanların öldüğü bildirildi. Antibiyotik (Tilosin ve oksitetrasiklin) uygulamasını takiben de ölümlerin azaldığı kaydedilmiştir. Ayrıca alınan anamnezde mortalitenin kınalı kekliklerde % 43, Japon bildircinlerinde % 37 olduğu belirlendi.

**Nekropsi Bulguları:** En belirgin makroskobik bulgular nazal ve paranasal sinüslerde, daha az olarak da hava keseleri ve akciğerlerde görüldü. Sinüsler, tek ya da çift taraflı, değişen derecelerde sarımsak renkte kazeöz bir eksudat ile genişlemişti (Şekil 1a, b). Bu lezyonlar genel olarak kınalı kekliklerde daha şiddetli şekillenmişti ve gözlerin tamamen kapanmasına yol açmıştı (Şekil 1c). Hava keseleri ödemli, kalınlaşmış ve mat bir görünüme sahipti. Kınalı kekliklerde bir olguda (olgu no 3) ve Japon bildircinlerinde de iki olguda (olgu no 1, 8), hava keseleri kazeöz bir eksudat ile örtülüydü ve adezyonlar bulunmaktaydı. Akciğerler genellikle ödemli ve konjesif bir görünümde, kesit yüzünden koyu kırmızı renkte akışkan kıvamda sıvı sızılmaktaydı.

**Histopatolojik Bulgular:** Her iki hayvan türünde, olguların tamamında üst solunum sisteminde mikroskobik bulgular dikkati çekerken, bazı olgularda alt solunum sisteminde de kaydedildi. Nekropside sinüslerde not edilen kazeöze eksudat, dökülmüş epitel hücreleri, bakteri kümeleri ve heterofil lökositleri içermekte idi (Şekil 2a). Sinüslerin mukoza epitelleri genellikle dökülmüştü, sağlam kalan alanlarda epitellerin dizilimi bozulmuş ve birçok epitelin sitoplazmasında hidropik dejenerasyona ilişkin değişiklikler belirlendi. Müköz bezlerdeki hiperplazi oldukça belirgindi. Submukozada birçok alanda fokal lenfoid hücre hiperplazileri ve/veya diffuz mononükleer hücreler ile heterofil lökositler göze çarptı (Şekil 2b). Bu sahalarda bazı damar lümenlerinde trombüs oluşumları dikkati çekti. Brown-Brenn boyama

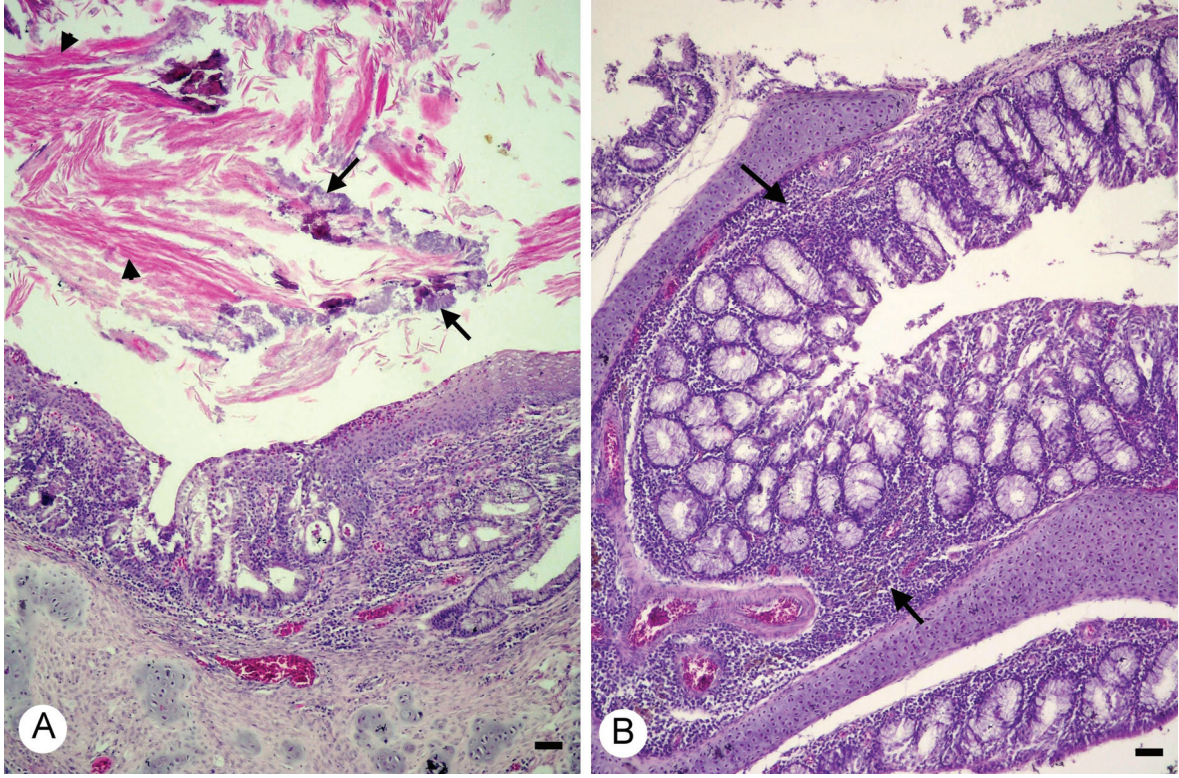


Şekil 1: A. Nazal ve paranasal sinüslerde şişkinlik, Kınalı Keklik (oklar). B. Nazal ve paranasal sinüslerde şişkinlik ve gözde seröz akıntı (oklar), Japon Bildircini. C. Nazal ve paranasal sinus lümenlerinde kazeöz eksudat (oklar), Japon Bildircini.

Figure 1: A. Partridges showing swelling of the nasal and paranasal sinuses (arrows). B.

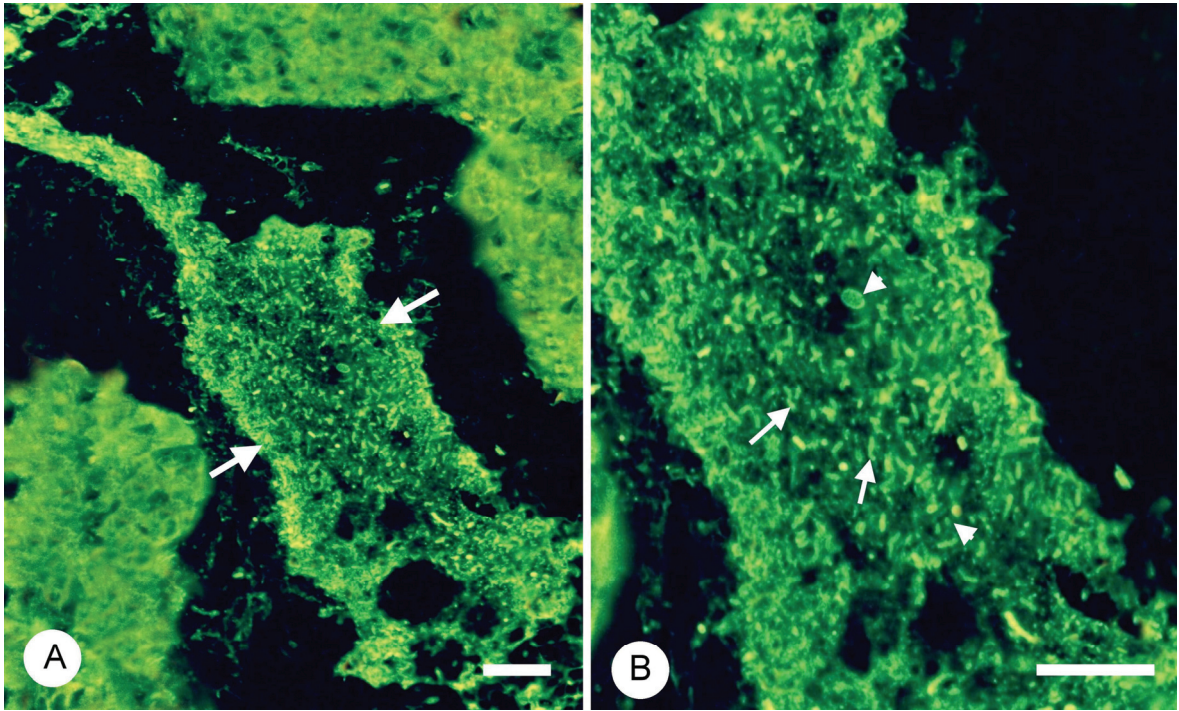
Japanese quail showing swelling of the nasal and paranasal sinuses and nasal discharge. C. Caseous exudate in nasal and paranasal sinuses of the Japanese quail (arrows).





Şekil 2: A. Sinus lümeninde nekrotik doku kalıntıları (okbaşları), dökülmüş epitel hücreleri ve bakteri kümelerinden (oklar) oluşan kazeifiye eksudat, Kınalı Keklik, HE., Bar: 50 µm. B. Sinus submukozasında diffuz mononükleer hücre infiltrasyonları, Japon Bildircını, HE., Bar: 50 µm.

Figure 2: A. Caseous exudate included necrotic remnant, exfoliated cells and clumps of bacteria in the lumen of the nasal sinus in the partridge. HE., Bar: 50 µm. B. Diffuse mononuclear cells in the submucosa of sinus of the Japanese quail. HE., Bar: 50 µm.



Şekil 3: A. Sinus lümeninde kazeifiye eksudat içerisinde *M. gallisepticum* pozitif immün reaksiyonlar (oklar), Kınalı Keklik, İF metot, Bar: 20 µm. B. Daha yakın büyütmede bakterinin oval (ok başları) ve basil (oklar) formlarını yansıtan İF pozitif reaksiyonlar. İF metot, Bar: 20 µm.

Figure 3: A. Immunolabeling of *M. gallisepticum* antigens in caseous exudate in the nasal sinuses. Immunofluorescence method. Bar: 20 µm. B. Oval (arrow heads) and bacil (arrows) forms of *M. gallisepticum* in immunofluorescent method. Bar: 20 µm.



teknğine göre yapılan histoşimik boyamalarda, sinüslerde tanımlanan eksudat içerisinde ve trombotik damarlarda yoğun Gram negatif bakteri kümeleri görüldü.

Hava keselerinde ödem, heterofil lökositler ve az sayıda makrofaj ve lenfositlerden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonları bulunmaktaydı. Trakede, submukozada bazı alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü. Akciğerlerde interalveolar kapıllarlar hiperemik, birçok alveol lümeni eozinofilik pembe renkte ödem sıvısı ile doluydu. Kınalı keliklerde iki olguda (olgu no; 1, 3), Japon bıldırcınlarında da üç olguda (olgu no; 4, 6, 8) sekonder bronşlar ve parabronşlar etrafında mononükleer hücre infiltrasyonları ile birlikte fokal lenfoid hücre hiperplazileri oldukça belirgindi.

Gözlerin etkilendiği olgularda, konjunktiva epitelleri tamamen dökülmüştü. Sağlam kalan epitellerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler belirgindi. Ayrıca, damarlar oldukça genişlemiş ve hiperemikti; bazı damar lümenlerinde ise bakteri kümeleri saptandı. Brown-Brenn boyamada da bunların Gram negatif bakteri kümesi olduğu doğrulandı.

*İmmünohistokimyasal Bulgular:* *M. gallisepticum* antijenleri her iki hayvan türünde en yoğun olarak nazal ve paranazal sinüslerdeki eksudat içerisinde (Şekil 3a), epitel katman yüzeylerinde ve trombotik damarlarda saptandı. Floresan pozitif reaksiyonlar genellikle basil, halka, yüzük, kokoid ve yıldız şeklindeki bakteri morfolojisini yansıtmakta ve bazı sahalarda ise granüler tarzdaydı (Şekil 3b). Trakede pozitif reaksiyonlar propriya mukozada makrofajlarda ve epitel katman yüzeylerinde dikkati çekti. Hava keselerinde pozitif immünoreaksiyonlar her iki hayvan türünde az sayıdaki olguda rastlandı. Akciğerlerde pozitif reaksiyonlar genellikle alveol duvarlarında ve plörada belirgindi. Kınalı kekliklerden üç olgu (olgu no; 2, 3, 5) ile Japon bıldırcınlarından dört olguda (olgu no; 3, 5, 6, 8), bağırsaklardaki pozitif reaksiyonlar kript epitellerinin yüzeylerinde ve submukozadaki makrofajlarda lokalize idi.

Çalışmada, hastalık belirtilerinin ve ölümlerin görülmesini mütakiben antibiyotik uygulamalarının yapılması bakteri izolasyonuna ve identifikasyonuna olanak tanımamıştır.

### Tartışma ve Sonuç

Çalışmada her iki hayvan grubunda gözlenen klinik bulgular diğer çalışmalarda bildirilenlerle benzerlik göstermiştir (7, 8, 18). Ancak, ticari tavuk ve hindilerde *M. gallisepticum*'un oluşturduğu enfeksiyonlarda görülen artrit ve tenosinovitis (6, 9, 10) ile ilgili herhangi bir klinik-patolojik bir bulguya rastlanılmamıştır. Ayrıca, ender olarak bazı olgularda saptanan ensefalitise ilişkin sinirsel bulgular (1, 9, 23) çalışma olgularında görülmemiştir.

Tavuklarda ve kazlarda *M. gallisepticum*'un neden olduğu doğal hastalık tablosunda; oviduktta epiteliyal hiperplazi ve salpingitis (lenfosit ve plazmosit infiltrasyonu ile karakterize) bildirilmiştir (2, 19). Mikoplazmozisin transovaryal bulaşmasında önemli yer tutan bu lezyonlara, sunulan çalışma olgularında rastlanmamıştır. İF incelemelerde de ovaryum ve oviduktta *M. gallisepticum* pozitif reaksiyonların görülmemesi, incelenen sürülerde her iki hayvan türünde transovaryal bulaşmanın etkin olmadığı sonucunu göstermiştir. Ancak bu hayvan türlerinde buna ilişkin kapsamlı deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

*M. gallisepticum*'un intravenöz yolla verildiği deneysel çalışmalarda, poliarteritis ve glomerulonefritis tanımlanmış (23, 24), etkenin damarlardaki lokalizasyonları immünohistokimyasal olarak da teyit edilmiştir (24). Sunulan çalışmada ise her iki hayvan türünde İF pozitif reaksiyonlarla desteklenen damar lezyonlarının genellikle nazal ve paranazal sinüslerde sınırlı kalması *M. gallisepticum*'un kınalı kekliklerde ve Japon bıldırcınlarında, üst solunum sisteminden, alt solunum sistemine yayılmasında daha dirençli olduğunu göstermiştir. Nitekim, nazal ve paranazal sinüslerde tanımlanan makroskobik ve mikroskobik lezyonlar, birçok araştırmacının verileri ile uyum sağlamış (8, 16, 21) ve bulaşmada nazal yolun etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

*M. gallisepticum* başta olmak üzere diğer *Mycoplasma* türlerinin neden olduğu hastalıkların teşhisinde; rutin serolojik testlerin yanı sıra immünohistokimyasal ve moleküler biyolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır (1, 3, 18 22). Çalışmada, her iki hayvan türünde İF test özellikle lezyonlu bölgelerde *M. gallisepticum* antijenlerinin saptanmasına olanak sağlamıştır. Çalışma sonuçları, bakteri izolasyonunun ve identifikasyonunun sağlanamadığı koşullarda, İF yöntemin hızlı ve güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini ve mikoplazmozise karşı gerekli önlemlerin alınmasına olanak sağlayacağını göstermiştir.

### Kaynaklar

1. **Bencina D, Dorrer D, Tadina T** (1987): *Mycoplasma species isolated from six avian species*. Avian Pathol, **16**, 653-664.
2. **Bencina D, Tadina T, Dorrer D** (1988): *Natural infection of geese with Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae and egg transmission of the Mycoplasmas*. Avian Pathol, **17**, 925-928.
3. **Bradbury JM, Yavari CA, Dare CM** (2001): *Mycoplasmas and respiratory disease in pheasants and partridges*. Avian Pathol, **30**, 391-396.
4. **Christensen NH, Yavari CA, McBain AJ, Bradbury JM** (1994): *Investigations in the survival of Mycoplasma gallisepticum, Mycoplasma synoviae and Mycoplasma iowae on materials found in the poultry house environment*. Avian Pathol, **23**, 127-143.

5. **Dhondt KV, Dhondt AA, Ley DH** (2007): *Effects of route of inoculation on Mycoplasma gallisepticum infection in captive house finches*. Avian Pathol, **36**, 475-479.
6. **Esendal ÖM** (2002): *Mikoplazma infeksiyonları*. 79-92. In: M. İzgür, M. Akan (Eds), Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye.
7. **Feberwee A, Mekkes DR, Klinkenberg D, Vernooij JCM, Gielkens ALJ, Stegeman JA** (2005): *An experimental model to quantify horizontal transmission of Mycoplasma gallisepticum*. Avian Pathol, **34**, 355-361.
8. **Ganapathy K, Bradbury JM** (1998): *Pathogenicity of Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma imitans in red-legged partridges (Alectoris rufa)*. Avian Pathol, **27**, 455-463.
9. **Jordan FTW** (1975). *Avian Mycoplasma and pathogenicity-a review*. Avian Pathol, **4**, 165-174.
10. **Jordan FTW** (1983): *Recovery and identification of avian mycoplasmas*. Diagnostic mycoplasmaology. 69-79. In: JG. Tully, S. Razin (Eds), Methods in mycoplasmaology, Academic Press, New York.
11. **Kleven SH** (1998): *Mycoplasmas in the etiology of multifactorial respiratory disease*. Poult Sci, **77** 1146-1149.
12. **Kollias GV, Sydenstricker KV, Kollias HW, Ley DH, Hosseini PR, Connolly V, Dhondt AA** (2004): *Experimental infection of house finches with Mycoplasma gallisepticum*. J Wildlife Dis, **40**, 79-86.
13. **Ley DH, Yoder HW** (1997): *Mycoplasma gallisepticum infection*. 194-207. In: BW Calnek, (Ed), Diseases of Poultry. Iowa State University Press, USA.
14. **Ley DH** (2003): *Mycoplasma gallisepticum Infection*. 722-744. In: YM Saif, HJ Barnes, AM Fadly, JR Glisson, LR McDougald, DE Swayne (Eds), Disease of Poultry. Iowa State Pres, Ames, Iowa, USA.
15. **Luna LG** (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. The Blakiston Division, McGraw-Hill Book Company.
16. **McMartin DA, Damassa AJ, McKeen WD, Read D, Daft B, Lam KM** (1996): *Experimental reproduction of Mycoplasma gallisepticum disease in chukar partridges (Alectoris graeca)*. Avian Dis, **40**, 408-416.
17. **Mohammed HO, Carpenter TE, Yamamoto R** (1987): *Economic impact of Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae in commercial layer flocks*. Avian Dis, **31**, 477-482.
18. **Murakami S, Miyama M, Ogawa A, Shimada J, Nakane T** (2002): *Occurrence of conjunctivitis, sinusitis and upper region tracheitis in Japanese quail (Coturnix coturnix Japonica), possibly caused by Mycoplasma gallisepticum accompanied by Cryptosporidium sp. infection*. Avian Pathol **31**, 363-370.
19. **Nunoya T, Kanai T, Yagihashi S, Hoshi K, Shibuya T, Tajima M** (1997): *Natural case of salpingitis apparently caused by Mycoplasma gallisepticum in chickens*. Avian Pathol, **26**, 391-398.
20. **Poveda JB, Carnanza J, Miranda A, Garrido A, Hermoso M, Fernandez A, Domenech J** (1990): *An epizootiological study of avian mycoplasmas in southern Spain*. Avian Pathol, **19**, 627-633.
21. **Reece RL, Ireland L, Barr DA** (1986): *Infectious sinusitis associated with Mycoplasma gallisepticum in game birds*. Aust Vet J, **63**, 167-168.
22. **Talkington FD, Kleven SH** (1983): *A classification of laboratory strains of avian mycoplasma serotypes by direct immunofluorescence*. Avian Dis, **27**, 422-429.
23. **Thomas L, Davidson M, Mcliskey RT** (1966): *The production of cerebral polyarteritis by Mycoplasma gallisepticum in Turkeys; The neurotoxic property of the Mycoplasma*. J Exp Med, **123**, 897-912.
24. **Wallace A, Clyde JR, Thomas L** (1973): *Tropism of Mycoplasma gallisepticum for arterial walls*. Proc Nat Acad Sci, **70**, 1545-1549.

Geliş tarihi: 13.12.2010 / Kabul tarihi: 31.05.2011

**Yazışma adresi:**

Doç. Dr. Nihat Toplu  
Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,  
Patoloji Anabilim Dalı,  
09016 Işıklı, Aydın  
E-posta: nihattoplu@hotmail.com