

## ***Mycoplasma Agalactiae* ile Doğal Enfekte bir Keçi İşletmesinde Tylosinin Etkilerinin Değerlendirilmesi**

Kaan ÖNAT<sup>1</sup> E.Mutlu TEMİZEL<sup>2</sup> Hüban GÖÇMEN<sup>3</sup>  
Zafer MECİTOĞLU<sup>2</sup> Sevim KASAP<sup>2</sup> Mihriban ÜLGEN<sup>1</sup>

Geliş Tarihi: 19.03.2011  
Kabul Tarihi: 05.04.2011

**Özet:** Bu çalışmada, Bursa Yenişehir’de Bulaşıcı Agalaksiya hastalığı semptomları gösteren bir keçi sürüsü bakteriyolojik ve serolojik olarak incelendi ve Tylosin tedavisi sonrasında etken saçılımı değerlendirildi. Bütün hayvanların klinik muayenelerinin yapılmasının ardından serolojik muayeneleri yapıldı. Klinik muayene sonucunda 10 adet keçinin Bulaşıcı Agalaksiya hastalığının semptomlarını gösterdiği tespit edildi. Çalışmalarda 110 keçinin kan serumları ELISA ile incelendi ve klinik bulgu gösteren 10 hayvan dâhil 31 keçide seropozitiflik belirlendi. Bu 10 keçinin beşinde eklem şişlikleri, diğer beşinde ise eklem şişliği olmaksızın topallık gözlemlendi. Eklemlerinde şişlik bulunan beş keçiden alınan eklem sıvıları bakteriyolojik olarak incelendi ve dördünden *Mycoplasma agalactiae* izole edildi. Semptom gösteren 10 keçiye 5 gün süre ile 10 mg/kg Tylosin® (Tylan®, Lilly Elanco, Türkiye) uygulaması yapıldı.

Laktasyonu takiben bütün keçilere tekrar ELISA testi yapıldı ve 34 keçide seropozitiflik saptandı. Seropozitif keçilerden alınan 34 süt örneğinin 9’undan *Mycoplasma agalactiae* izole edildi. Tylosin tedavisi uygulanan 10 keçiden sadece birisinde süt ile etken saçıldığı saptandı. Sonuç olarak, Tylosin uygulamalarının *M. agalactiae*’nin laktasyon sonrasında süt ile saçılımını azaltması ve klinik bulgularının iyileşmesi yönünde olumlu etkilerinin olduğu kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Bulaşıcı Agalaksiya, Mycoplasma, keçi, Tylosin.

## **Evaluation of Effectiveness of Tylosin in a Goat Herd Naturally Suffering From *Mycoplasma Agalactiae***

**Abstract:** In this study, a goat herd with Contagious Agalactia symptoms was investigated bacteriologically and serologically and evaluated the excretion of the agent after tylosin treatment. In the serological studies, 110 goat sera were investigated by ELISA and 31 of them were found seropositive. In the clinically examination of seropositive goats, it was determined that 10 goats had been shown symptoms of Contagious Agalactia. Joint swelling was determined in 5 of 10 goats and lameness was determined in the other 5 goats without joint swelling. Joint fluids of 5 goats with joint swelling were investigated bacteriologically and *Mycoplasma agalactiae* was isolated from 4 of them. Tylosin® (Tylan®, Lilly Elanco, Türkiye) treatment was performed on these 10 clinically ill goats at the dose of 10 mg/kg throughout five days. Following lactation, second ELISA were applied and seropositivity was detected in 34 goats. *M. agalactiae* was isolated from 9 of 34 milk samples collected from seropositive goats.

One of the Tylosin treated goats were detected to excrete of the agent with milk while no *M. agalactiae* were isolated the others milk samples. As a consequence, These results were estimated that Tylosin treatment may reduce excretion of *M. agalactiae* with milk after lactation and have favourable effects on the recovery of the clinical symptoms caused by Contagious agalactia.

**Key Words:** Contagious Agalactiae, Mycoplasma, goat, Tylosin.

<sup>1</sup> Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, Bursa, Türkiye.

<sup>2</sup> Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Bursa, Türkiye, them@uludag.edu.tr

<sup>3</sup> Doktora Öğrencisi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye.

## Giriş

Kontagiyöz Agalaksiya küçük ruminantların mastitis, artritis ve keratokonjunktivitis ile karakterize en önemli hastalıklarından birisidir. Birincil hastalık etkeni *Mycoplasma agalactiae*'dir (agalaksiya salgınlarından %90 oranında izole edilebilmektedir) *Mycoplasma capricolum subs. capricolum*(Mcc), *Mycoplasma mycoides subs. capri* (Mmc)[(eski adı *Mycoplasma mycoides subs mycoides* Large Colony (Mmm LC)] ve *Mycoplasma putrafaciens* de kontagiyöz agalaksiyaya benzer klinik tablolar oluşturur<sup>9</sup>. Bulaşıcı Agalaksiya 1980 yılından bu yana Akdeniz ülkelerinde endemik olarak, Avrupa'da Balkan yarımadası, batı Asya, kuzey, merkez ve doğu Afrika gibi koyun ve keçi üretimi yapan çoğu ülkede görülmektedir<sup>2,6,8,10,14</sup>. Laktasyondaki hayvanlarda; genellikle mastitis görülürken, laktasyonda olmayan dişilerde, genç hayvanlarda ve erkeklerde; artritis, keratokonjunktivitis ve respiratörük problemler görülmektedir<sup>9</sup>.

Türkiye'de geçmişte yapılan çalışmalarda Bulaşıcı Agalaksiya Hastalığında koyun ve keçilerden *M.agalactiae*'nin izole edildiği bildirilmiştir<sup>15</sup>. Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde yapılan bir çalışmada 22 sürüden alınan toplam 144 örneğin 68'inde *Mycoplasma sp.* izole edilmiş, bunların 53 (%78)'ü *M.agalactiae* olarak tanımlanmıştır. Coğrafik olarak, Marmara bölgesinde hastalığın Ege ve Akdeniz bölgelerine göre daha yoğun olduğu belirtilmiştir<sup>12</sup>.

Bu çalışmada Bulaşıcı Agalaksi hastalığı semptomları gösteren bir keçi işletmesinde bakteriyolojik ve serolojik olarak incelenmesi ve Tylosin uygulaması sonrasında klinik bulguların ve süt ile etken saçılımının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Sürü

Bu çalışma Bursa Yenişehir ilçesinde bulunan Bulaşıcı Agalaksiya şüpheli semptomlar gösteren bir keçi işletmesinde gerçekleştirildi. İşletmede farklı yaşlarda (2-5 yaş), farklı ağırlıklarda (40-55kg) 105 dişi keçi ve 5 teke olmak üzere toplam 110 saanen keçisi mevcuttu. Tüm keçiler aynı ağılda farklı kompartmanlarda barındırılmaktaydı. Sürü daha önce Bulaşıcı Agalaksiya enfeksiyonuna karşı aşılanmamıştı. Sürüde ELISA testi ile serolojik inceleme yapıldı. Ayrıca klinik muayenede eklemlerinde şişlik

görülen keçilerden eklem sıvısı alındıktan sonra tüm semptom gösteren hayvanlara Tylosin tedavisi uygulandı. Laktasyon sonrasında sürü tekrar ELISA ile incelendi ve pozitif bulunan hayvanların hepsinden süt örnekleri alınarak bakteriyolojik olarak incelendi.

### Serolojik İnceleme

*M.agalactiae*' ya karşı antikor varlığını ortaya koymak için kuru dönemde ve laktasyon sonrasında 110 adet keçiden kan alındı. Kan örneklerinin 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmesi sonucu serumları çıkarıldı. Serum örnekleri İndirekt ELISA (ELISA *Mycoplasma agalactiae* verification, Institut Purquier, France) ile kit prosedürüne göre test edildi. ELISA testi sonunda, örneklerin OD (optik dansite) değerleri ELISA okuyucuda (ELx800, Biotek Instruments, USA) 450 nm filtre ile belirlendi.

### Eklem Sıvısı ve Süt Örnekleri

Laktasyon önce yapılan muayenelerde eklemlerinde şişlik bulunan keçilerden steril enjektör ile eklem sıvıları aspire edildi. Ayrıca laktasyondan sonra mastitis semptomu gösteren ve göstermeyen tüm seropozitif keçilerden süt örnekleri alındı. Bakteriyolojik inceleme yapmak üzere örnekler soğuk zincirde kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı.

### Bakteriyolojik İnceleme

Bakteriyolojik incelemede; eklem sıvıları ve süt örnekleri (39 adet) Hayflick buyyon ve agarlara ekildi. %5'lik CO<sub>2</sub>'li ve nemli ortamda 3-4 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tipik 'sahanda yumurta' koloni oluşumu yönünden stereo mikroskopta incelendi. Üç kez pasajlandıktan sonra orijinal koloni morfolojisini koruyan örnekler *Mycoplasma sp.* olarak değerlendirildi. İzolatların biyokimyasal testler (dijitonin sensitivitesi, üreaz aktivitesi, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, fosfataz aktivitesi, tetrazolium redüksiyon testleri ve film ve spot oluşumu) ve üreme inhibisyon testi ile identifikasyonu yapıldı<sup>11</sup>.

### Tedavi

Klinik semptom gösteren bütün keçilere 5 gün süre ile 10 mg/kg dozda, kas içi yolla Tylosin® (Tylan®, Lilly Elanco, Türkiye) uygulaması yapıldı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası klinik muayeneleri yapıldı. Tedaviye yanıt klinik bulgulardaki düzelme ve klinik parametrelerin normale dönmesi ve laktasyon esnasında etken saçılımına göre değerlendirildi.

## Bulgular

Yapılan rutin klinik muayene bulgularına göre seropozitif saptanan keçilerde vücut sıcaklıkları 38,4-39,1 arasında değişmekteydi. Klinik bulgu saptanan 10 keçi haricinde seropozitif ve seronegatif hayvanlarda klinik parametreler referans sınırlar içerisinde tespit edildi. Klinik bulgu gösteren 10 adet keçinin 5'inde eklem şişliği saptandı. Bu hayvanlara ait eklem sıvılarının 4'ünden *M. agalactiae* izole edildi. Diğer 5 keçide yapılan muayene sonuçlarına göre ikisinde sol ön, ikisinde sağ ön, birinde sağ arka ayakta şişlik olmaksızın topallık olduğu tespit edildi.

Laktasyon öncesi serolojik olarak incelenen 110 kan serumunun 31'inde (%28,1) seropozitiflik belirlendi. Laktasyonu takiben tekrar yapılan ELISA testi sonucunda ise 34 (%30,9) keçide seropozitiflik saptandı.

Tylosin tedavisinin ardından keçilerde bütün klinik bulgular normal sınırlar içerisindeydi. Tylosin uygulanmayan 24 keçinin süt örneğinin 8'nden *M. agalactiae* izole edildi. Ancak Tylosin tedavisi gören 10 keçinin sadece bir tanesinde süttten etken izole edildi. Laktasyon öncesi ve sonrası toplamda bakteriyolojik inceleme amacıyla alınan 39 örnekten 13'ünde (%33) *Mycoplasma agalactiae* izole edildi. Bulaşıcı Agalaksiya hastalığına sebep olan diğer *Mycoplasma* türlerinden hiçbiri izole edilmedi. Sürüden bakteriyolojik inceleme için alınan çeşitli örneklerden *M. agalactiae* izolasyon oranları Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1. Bakteriyolojik inceleme için alınan süt ve eklem sıvısından izole edilen *M.agalactiae*'nin izolasyon oranları**

**Table 1. Ratio of *M.agalactiae* which were isolated from milk and synovial fluid for the bacteriological examination.**

Örnek tipi	Örnek adedi	<i>M.agalactiae</i> kültür pozitif (%)
Eklem sıvısı	5	4 (%80)
Süt*	10	1 (%10)
Süt**	24	8 (%33.3)
Toplam	39	13 (%33.3)

\*: Laktasyon öncesi seropozitif olup klinik bulgu gösteren ve Tylosin tedavisi uygulanmış keçilerden alınan süt örnekleri

\*\* : Laktasyon öncesi seropozitif olan ancak klinik bulgu göstermeyen, Tylosin tedavisi uygulanmamış keçilerden alınan süt örnekleri

## Tartışma

Sürülerde Bulaşıcı Agalaksiya hastalığının klinik teşhisi özellikle mastitis, keratokonjunktivitis ve eklem lezyonlarının görülmesi ile yapılabilmektedir<sup>1</sup>. Bu çalışmada 110 adet Saanen keçisi bulunan bir işletmede laktasyondan önce 5 keçide eklem şişliği, 5 keçide de şişlik olmaksızın topallık bulguları saptanmış ve klinik bulgular dahilinde Kontagiyöz agalaksiyadan şüphe edilmiştir.

Bulaşıcı Agalaksiya'nın serolojik teşhisinde indirekt ELISA sıklıkla kullanılmaktadır. Peppin ve ark.<sup>13</sup> Fransa'da yaptıkları bir çalışmada ticari olarak bulunan 3 farklı indirekt ELISA kitinin spesifite ve sensitivitesini karşılaştırmışlar ve antijen olarak rekombinant P48 immunodominant proteinin kullanıldığı PourQuier Mycoplasma agalactiae ELISA kitinin diagnostik spesifite (%99) ve sensitivitesinin (%82) diğer ticari ELISA kitlelerine göre çok yüksek olduğu ve tekrarlanabilirliğinin mükemmel olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada serolojik inceleme amaçlı daha önce agalaksiya aşısı yapılmadığı bilinen sürüdeki tüm keçilerden (110) laktasyondan önce ve laktasyondan sonra kan alınmış ve serumları İndirekt ELISA (ELISA *Mycoplasma agalactiae* verification, Institut Purquier, France) ile test edilmiştir. Laktasyon öncesi serolojik olarak incelenen 110 kan serumunun 31'inde (%28,1) seropozitiflik belirlenmiş, laktasyonu takiben tekrar yapılan ELISA testi sonucunda ise 34 (%30,9) keçide seropozitiflik saptanmıştır. Serolojik testler aynı anda çok sayıda hayvanı analiz etmeyi sağlamakla beraber, belirlenebilir düzeyde antikor artışı infeksiyondan yaklaşık 2 hafta sonra oluşmaktadır<sup>4,13</sup>. Laktasyon öncesi ve sonrasında elde edilen seropozitiflikteki farklılık; ilk yapılan testte etkene maruz kalmış 3 keçide hastalığın perakut safhada olduğu ve belirlenebilir düzeyde antikor yanıtının oluşmadığını, laktasyon sonrası yapılan ikinci testte ise antikor yanıtı oluşmasına bağlı seropozitiflik verdiğini düşündürmüştür. Bu bulgular ile infekte sürülerde reaktör hayvanların belirlenmesinde tek bir serolojik testin yeterli olmadığını belirli aralıklarla serolojik testlerin tekrarlanması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Klinik ve serolojik teşhis bakteriyoloji ile doğrulanmalıdır. Bu çalışmada bakteriyolojik inceleme amacıyla alınan 39 örnekten 13 (%33) *M.agalactiae* izole edildi. Çalışmamızda Bulaşıcı Agalaksiya hastalığını oluşturabilen diğer

Mycoplasma türlerinin izole edilmemesi, hastalığın yaygın etiyolojik etkenin *M.agalactiae* olduğunu vurgulayan bildirimler ile uyumludur<sup>2</sup>. Örnek bazında laktasyondan önce 5 keçiden alınan eklem sıvılarının 4'ünde (%80), laktasyondan sonra seropozitif hayvanlardan alınan 34 süt örneğinin 9'unda (%26.4) *M. agalactiae* izole edildi. Tüm seropozitif keçilerin sütlerinden etkenin izole edilememesinin nedeni, infekte hayvanlarda etken saçılımının intermitent olması, yüksek persiste antikor varlığı ve antibiyotik tedavisi ile açıklanabilir<sup>3,5</sup>.

Bulaşıcı Agalaksiya enfeksiyonlarında aşılama kesin olarak koruyucu olmadığı için antimikrobiyal tedavi sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanılan antimikrobiyaller arasında tetrasiklin, makrolid antibiyotikler ve florokinolonlar yer almaktadır<sup>15</sup>. Antunes ve ark.,<sup>1</sup> tarafından yapılan bir çalışmada makrolid grubu antibiyotiklerin *Mycoplasma agalactiae* enfeksiyonlarında etkili olduğunu belirtirken, Kinde ve ark.<sup>7</sup>, tarafından yapılan bir çalışmada ise Tylosinin *Mycoplasma agalactiae* enfeksiyonlarında etkili olmadığını belirtmektedir.

Sunulan çalışmada, Tylosin uygulaması sonrasında klinik bulguların ortadan kaybolması ve tedavi gören keçilerin birisi hariç sütlerinden etken izole edilememesinden dolayı tedavinin etkili olduğu, *Mycoplasma agalactiae* enfeksiyonlarında Tylosinin sütle etken saçılımını önemli ölçüde önlediği belirlenmiştir.

## Kaynaklar

1. Antunes, N.T., Tavío, M.M., Assunção, P., Rosales, R.S, Aquili, V., De la Fé, C., Poveda J.B., 2007. In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* large colony type to 15 antimicrobials. *Vet Microbiol.* 17, 72-75.
2. Bergonier, D., Berthelot, X., Poumarat, F., 1997. Contagious agalactia of small ruminants:current knowledge concerning epidemiology,diagnosis and control. *Rev.Sci.Tech.* OIE, 16, 848-873.
3. Castro-Alonso, A., De La, Fe C., Espinosa De Los Monteros, A., Rodriguez, F., Andrada, M., Poveda, J.B., Herraéz, P., 2010. Chronological and immunohistochemical characterization of the mammary immunoinflammatory response in experimental caprine contagious agalactia. *Vet.Immunol.and Immunopathol.* 136, 43-45.
4. Castro-Alonso, A., Rodriguz, F, De la Fe, C., Espinosa de los Monteros, A., Poveda, J.B., Andrada, M., Herraéz, P., 2009. Correlating the immune response with the clinical-pathological course of persistent mastitis experimentally induced by *Mycoplasma agalactiae* in diary goats. *Research in Veterinary Science.* 86, 274-280.
5. De La Fe, C., Assunção, P., Antunes, T., Rosales, R.S., Poveda, J.B. 2005. Microbiological survey for *Mycoplasma* spp. in a contagious agalactia endemic area. *The Veterinary Journal.* 170, 257-259.
6. Erdag, O., 1989. Investigation on the preparation and application of vaccine against contagious *Mycoplasma agalactiae* or sheep and goats in Turkey. *Proc. Int. Symp. Mycoplasma.* Theiler, pp.20-22.
7. Kinde, H., DaMassa, A.J., Wakenell, P.S., Petty, R., 1994. *Mycoplasma* infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). *J Vet Diagn Invest.* 6, 423-427.
8. Lambert, M., 1987. Contagious agalactia in sheep and goats. In: *Mycoplasmoses of ruminants.* *Rev.Sci.Tech.OIE,* 6, 699-711.
9. Madanat, A., Zendulkova, D., Pospisil, Z., 2001. Contagious Agalactia of sheep and goats. *Acta Veterinaria Brno.,* 70, 403-412.
10. Nicholas, R.A.J., 1995. Contagious agalactia. *St Vet J.,* 5, 13-515.
11. Office International des Epizooties (OIE), 2008. Contagious agalactia, *Terrestrial Manual,* 992-997.
12. Özdemir, Ü., Türkaslan, J., 2003. Bulaşıcı Agalaksi Salgınlarından İzole Edilen *Mycoplasma* Türleri. *Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg.* 34, 1-2.
13. Pepin, M., Dufour, P., Lambert, M., Aubert, M., Valognes, A., Rotis, T., Van de Wiele, A., Bergonier, D., 2003. Comparison of three enzyme-linked immunosorbent assays or serologic diagnosis of contagious agalactia in sheep. *J Vet Diagn Invest.* 15, 281-285.
14. Sarris, K.,1996. Contagious agalactia In: Frey J. and Sarris K.: *Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics.* European Commission, European Communities Official Publications Office, Luxemburg, 12-15.
15. Watson, W.A., Cottew, G.S., Erdag, O., Arisoy, F., 1968. The pathogenicity of *Mycoplasma* organisms isolated from seep and goats in Turkey. *J. Comp. Pathol.,* 78, 283-291.