



**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİVAS VE TOKAT İLLERİNDE TÜKETİME SUNULAN AÇIK SÜTLERDE VE
SÜT ÜRÜNLERİNDE *BRUCELLA* ANTİKORLARININ ELISA
YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI VE *BRUCELLA MELITENSIS* VE
BRUCELLA ABORTUS'UN KEFİRDEKİ YAŞAM SÜRELERİNİN TAYİNİ**

ARŞ. GÖR. AYŞE HÜMEYRA TAŞKIN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

2012

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİVAS VE TOKAT İLLERİNDE TÜKETİME SUNULAN AÇIK
SÜTLERDE VE SÜT ÜRÜNLERİNDE *BRUCELLA*
ANTİKORLARININ ELISA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI VE
BRUCELLA MELITENSIS VE *BRUCELLA ABORTUS*'UN
KEFİRDEKİ YAŞAM SÜRELERİNİN TAYİNİ

ARŞ. GÖR. AYŞE HÜMEYRA TAŞKIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. ZEYNEP SÜMER

SİVAS-2012

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof. Dr. Ömer POYRAZ	_____
Üye	Prof. Dr. Levent ÖZDEMİR	_____
Üye (Danışman)	Prof. Dr. Zeynep SÜMER	_____

ONAY

Bu tez çalışması, 10/01/2012 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ali Altuğ BIÇAKCI
SAğLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

ÖZET

SİVAS VE TOKAT İLLERİNDE TÜKETİME SUNULAN AÇIK SÜTLERDE VE SÜT ÜRÜNLERİNDE *BRUCELLA* ANTİKORLARININ ELISA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI VE *BRUCELLA MELITENSIS* VE *BRUCELLA ABORTUS*'UN KEFİRDEKİ YAŞAM SÜRELERİNİN TAYİNİ

Ayşe Hümevra TAŞKIN

Yüksek Lisans Tezi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zeynep Sümer

2011, 88 sayfa

Bruselloz ülkemizde yaygın görülen; halk sağlığı, hayvan endüstrisi ve ekonomik kayıpları yönünden güncelliğini koruyan önemli zoonotik bir enfeksiyondur. Bu çalışma ile açıkta satılan çiğ süt ve süt ürünlerinin *Brucella* IgG pozitifliğinin saptanması amaçlanmıştır. Araştırmamızda ilk olarak 250 çiğ süt, 100 beyaz peynir, 50 tereyağ ve 50 adet yoğurt örneği olmak üzere toplam 450 örnek *Brucella* IgG pozitifliği yönünden ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. Sivas il merkezi ve çevre köylerinden alınan 150 adet çiğ süt örneğinin 85 (% 56.6) tanesi, Tokat il merkezi sokak sütçüleri ile Tokat'ın Reşadiye ve Pazar ilçelerinden temin edilen toplam 100 adet çiğ süt örneğinin 32 (% 32) tanesi *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde iller arasındaki fark anlamlıdır ($p=0.000$). Sivas il merkezinde toplanan 50 adet beyaz peynir örneğinin 2 (% 4) tanesi, Tokat il merkezinde toplanan 50 adet beyaz peynir örneğinin 9 (% 18) tanesi *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde iller arasındaki fark anlamlıdır ($p=0.002$). Yoğurt ve tereyağ örneklerinin hiçbirinde *Brucella* IgG antikorları yönünden pozitiflik saptanamamıştır.

Çalışmamızda ikinci bir araştırma konusu olarak farklı yoğunluklarda hazırlanan *Brucella melitensis* (RSKK 310) ve *Brucella abortus* (RSKK 279) bakterileri suşlarının, 3 farklı kaynaktan elde edilen (A, B marka ve ev yapımı) kefir içerisinde yaşam süreleri araştırılmıştır. Bakteriler A ve B marka kefirde 24, 48, 72. saat aralığında canlılığını sürdürürken 240 saatten itibaren üreyememektedir. Ev yapımı kefir içerisinde

ise 0-24 saat aralığında canlılığını sürdürürken 24 saatten itibaren üreyememektedir. Bu çalışma Sivas ve Tokat illerinde süt ve süt ürünlerinde *Brucella* cinsi bakterilerin bulunduğunu, süt ve süt ürünlerinin bruselloz bakımından risk oluşturabileceğini göstermiştir. Ayrıca probiyotik fermente bir süt içeceği olan kefirde *Brucella*'nın en çok 10 gün canlı kalabildiği tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: *Brucella*, Bruselloz, ELISA, Süt ve Süt Ürünleri, Kefir

ABSTRACT

RESEARCHING *BRUCELLA* PRESENCE BY ELISA METHOD IN MILK AND MILK PRODUCTS WHICH ARE CONSUMED IN SIVAS AND TOKAT TERRITORIES AND OBTAINING LIFE TIME OF *BRUCELLA MELITENSIS* AND *BRUCELLA ABORTUS* BACTERIA IN KEFIR

Research Assistant Ayşe Hümeyra TAŞKIN

Master Thesis, Department of Microbiology ve Clinical Microbiology

Supervisor: Prof. Dr. Zeynep Sümer

2011, 88 pages

Brucellosis is a common and important zoonotic infection which is always up-to-date in terms of public health, animal industry and economical loss. In this paper it was aimed to determine *Brucella* IgG positivenss in raw milk and milk products sold unpacked. In our study firstly, 450 samples consisting of 250 raw milk, 100 white cheese, 50 butter and 50 yoghurt samples were researched by ELISA method in terms of *Brucella* IgG positivenss. 85(%56.6) of 150 raw milk samples obtained from Sivas city center and neighbouring villages, 32(%32) of 100 raw milk samples obtained from Tokat city center, milkmen on streets, Resadiye and Pazar borough of Tokat were detected positive with regard to *Brucella* IgG. When evaluated statistically, the difference between the cities is significant (meaningfull) ($p=0.00$). 2(%4) of 50 white cheese samples gathered from Sivas city center and 9(%18) of 50 white cheese samples were detected positive in terms of *Brucella* IgG. When evaluated statistically, the difference between the cities is significant ($p=0.02$). None of the yoghurt and butter samples were detected positive in terms of *Brucella* IgG antibody

As a second research subject, the lifetime of the strains of *Brucella melitensis* (RSKK 310) and *Brucella abortus* (RSKK 279), prepared in different density, in Kefir obtained from three different sources (A, B brand and home-made) was studied. Bacteria survive 24, 48, 72. hours in A and B brand kefir, and they cannot multiply as from 240 hour. Bacteria in homemade kefir survive between 0-24 hour and cannot

multiply as from 24 hours. This study showed the presence of *Brucella* bacteria in milk and milk products in Sivas and Tokat, and it indicated that milk and milk products can creat risk in terms of Brucellosis. Also, it was concluded that in kefir, a probiotic fermented milk drink, *Brucella* can survive at most 10 days.

Key Words: *Brucella*, Brucellosis, ELISA, Milk and Milk Products, Kefir

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında beni yönlendiren, tecrübe ve fikirlerinden faydalandığım, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Zeynep SÜMER**'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Ömer POYRAZ**'a

Laboratuvar çalışmalarımındaki yardımlarından dolayı Sayın Öğr. Gör. **Tutku TUNÇ**'a ve çalışma ortamında her zaman ilgi ve hoşgörüsüyle bana destek olan değerli laboratuvar çalışanlarına,

Tez çalışmam için gerekli örneklerin toplanmasında yardımlarından ve göstermiş oldukları yakın ilgi ve destekten dolayı başta sevgili dostum **Merve KILIÇ**'a, Reşadiye, Sivas ve Tokat halkına,

Tez çalışmamda kullandığım *Brucella* türlerinin teminini sağlayan Sivas İl Halk Sağlığı Laboratuvarı Müdür Yardımcısı Sayın **Bio. Mehmet ATAŞ**'a teşekkür ederim.

Tüm öğrenim hayatım boyunca büyük destek ve ilgisini gördüğüm, hayatta her zaman nasıl dik durulacağını bana öğreten, daima akademik çalışma azmi ve kararlılığı veren, maddi manevi her türlü desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım babam **Doç. Dr. Ali TAŞKIN**'a, hayatımın her anında desteklerini, ilgilerini ve sevgilerini en derinden hissettiğim sevgili annem **Ayla TAŞKIN**'a ve kardeşim **Hacer TAŞKIN**'a teşekkürlerimi tüm kalbimle sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Brusellozun Tarihçesi	3
2.2 <i>Brucella</i> Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri.....	4
2.3 <i>Brucella</i> Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri.....	4
2.3.1 <i>B. abortus</i>	5
2.3.2 <i>B. melitensis</i>	5
2.3.3 <i>B. suis</i>	5
2.3.4 <i>B. neotomae</i>	6
2.3.5 <i>B. ovis</i>	6
2.3.6 <i>B. canis</i>	6
2.4 <i>Brucella</i> Türlerinin Antijenik Yapısı.....	8
2.5 Dirençlilik	8
2.6 Bulaş Yolları	9
2.7 Patogenez	11
2.8 Klinik	12
2.8.1 Asemptomatik Enfeksiyon	12
2.8.2 Akut Enfeksiyon	12
2.8.3 Subakut Enfeksiyon	13
2.8.4 Kronik Enfeksiyon	13
2.9 Komplikasyonlar	13
2.9.1 Osteoartiküler Sistem Tutulumu	14
2.9.2 Gastrointestinal Sistem Tutulumu	14
2.9.3 Ürogenital Sistem Tutulumu	14
2.9.4 Kardiyovasküler Sistem Tutulumu	14
2.9.5 Nörolojik Sistem Tutulumu	15
2.9.6 Pulmoner Sistem Tutulumu	15
2.9.7 Hematolojik Sistem Tutulumu.....	15
2.9.8 Kutanöz Sistem Tutulumu.....	15
2.9.9 Oküler Sistem Tutulumu	16
2.10 Teşhis	16
2.10.1 Rutin Laboratuvar İncelemeleri.....	16
2.10.2 Özgül Laboratuvar İncelemeleri	17
2.10.2.1 Direkt Tanı Yöntemleri	17
2.11 Tedavi	26
2.12 Epidemiyoloji	28
2.13 Koruma ve Kontrol.....	32
2.14 Kefirin Tanımı ve Kefir Danesinin Yapısı.....	32
2.14.1 Kefir Mikroflorasında Yer Alan Maya, Laktik Asit ve Asetik Asit Bakterilerinin İnhibisyon Oluşturma Özellikleri.....	33
2.14.2 Kefirin Besleme Değeri ve Sağlık Üzerine Etkileri.....	34
3. MATERYAL VE METOD.....	36
3.1 Süt ve Süt Ürünlerinde <i>Brucella</i> Antikorlarının Aranması.....	36

3.1.1 Örneklerin Toplanması ve Saklanması	36
3.1.2 Örneklerin ELISA Deneyi İçin Hazırlanması	40
3.1.3 ELISA Deneyinin Yapılışı	40
3.1.4 Sonuçların Hesaplanması	41
3.1.5 Verilerin Değerlendirilmesi.....	42
3.2 <i>Brucella</i> Bakterilerinin Kefirde Yaşam Sürelerinin Araştırılması	42
3.2.1 Kefir Örneklerinin Hazırlanması	42
3.2.2 <i>Brucella</i> Bakterilerinin Kefire İnokülasyon İçin Hazırlanması.....	43
3.2.3 Deneyin Yapılışı	44
3.2.4 Kontrol Grubu Kefir ve Patojenli Kefir Örneklerinin Serum Dekstroz Agar'a Ekim Aşaması	44
3.2.5 SDA'da Üreyen Bakteriler Arasında <i>Brucella spp</i> 'nin Varlığının Araştırılması	45
4.1 Süt ve Süt Ürünlerinde Yapılan ELISA Testi Sonuçları	48
4.1.1 Süt Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları	48
4.1.2 Peynir Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları.....	50
4.1.3 Yoğurt Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları.....	51
4.1.4 Tereyağ Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları.....	51
4.2 <i>Brucella melitensis</i> ve <i>Brucella abortus</i> Bakterilerinin Farklı Kefir Örneklerinde Yaşam Sürelerinin Tespiti İçin Yapılan Çalışma Sonuçları	51
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	52
6. KAYNAKLAR.....	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Örneklerin toplandığı steril kaplar.....	37
Şekil 3.2 Çiğ süt örneklerinin toplandığı Sivas il merkez ve çevre köylerine göre dağılımı.....	37
Şekil 3.3 Çiğ süt örneklerinin toplandığı Tokat il merkez ve ilçelerine göre dağılımı ..	38
Şekil 3.4 İl ve ilçelerden toplanan beyaz peynir örneklerinin dağılımı.....	38
Şekil 3.5 İllerden toplanan tereyağ örneklerinin dağılımı	39
Şekil 3.6 İlçe ve köylerden toplanan yoğurt örneklerinin dağılımı.....	39
Şekil 3.7 ELISA testinin pozitif ve negatif görüntüsü.....	42
Şekil 3.8 Araştırmada kullanılan kefir daneleri.....	43
Şekil 3.9 Serum Dekstroz Agarda (SDA) üremiş <i>Brucella spp.</i> kolonileri.....	46
Şekil 3.10 Monovalan aglütinasyon serumları.....	46
Şekil 3.11 Ev yapımı kefirde <i>Brucella abortus</i> varlığı ve yokluğu	477
Şekil 3.12 Ev yapımı kefirde <i>Brucella melitensis</i> varlığı ve yokluğu.....	477
Şekil 4.1 Sivas merkez ve çevre köylerinden alınan çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden dağılımı.....	499
Şekil 4.2 Tokat merkez ve ilçelerinden alınan çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden dağılımı.....	49
Şekil 4.3 İncelenen beyaz peynir örneklerinin IgG pozitifliği yönünden dağılımı.....	500

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 <i>Brucella</i> cinsi içerisinde bulunan tür ve biyotiplerin ayırtıcı özellikleri	7
Çizelge 2.2 Yıllara göre <i>Brucella</i> tarama ve pozitif olgu sayıları	31
Çizelge 4.1 Toplanan çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden değerlendirilmesi.	48
Çizelge 4.2 İncelenen çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden değerlendirilmesi	49
Çizelge 4.3 İncelenen beyaz peynir örneklerinin IgG pozitifliği yönünden değerlendirilmesi	50
Çizelge 4.4 Farklı kefir örneklerinde farklı yoğunluklarda inoküle edilen <i>Brucella abortus</i> ve <i>Brucella melitensis</i> türlerinin canlı kalma süreleri	53

KISALTMALAR DİZİNİ

Ig	İmmüoglobülin
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
S-LPS	Somatik- Lipopolisakkarit
SDA	Serum Dekstroz Agar
OD	Optik Dansite
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
RTD	Rutin Test Dilüsyonu
RES	Retikülo Endoteliyal Sistem
BOS	Beyin Omirilik Sıvısı
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAT	Serum Tüp Aglütinasyon Testi
RBPT	Rose Bengal Plate Testi
KFT	Kompleman Fiksasyon Testi
SAT	Serum Tüp Aglütinasyon Testi
WAT	Wright Aglütinasyon Testi
2-ME	2- Merkaptto-Etanol
IFA	İndirekt Floresan Antikor Testi
IFT	İmmünfloresan Testi
IHT	İndirekt Hemaglütinasyon Testi
RIA	Radioimmunoassay
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Gıda ve Tarım Teşkilatı
OIE	Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bruselloz *Brucella* cinsi bakterilerin sığır, koyun, keçi, domuz ve köpek gibi hayvanların, genital organları (testis, uterus) ile memelerine yerleşerek, abort (yavru atımı), infertilite (kısırlık), mastitis (meme iltihabı), orşitis (testis iltihabı) ve artritis (eklem iltihabı) gibi komplikasyonlara neden olan, dünyanın büyük bir kesiminde ve özellikle de endemik yörelerde yaygın olarak görülen, ciddi ekonomik kayıplara yol açan önemli bir zoonozdur. Etken gebe hayvanların koryonik membranlarında üremesi durumunda genelde düşüklere yol açması nedeniyle enfeksiyöz abortus, epizootik abortus, yavru atma hastalığı olarak da adlandırılır (1-3).

Dünyada birçok ülkede bruselloz ile mücadele kampanyaları başlatılmış ve birkaç ülke sığır brusellozunu büyük ölçüde eradike etmeyi başarmış olmasına karşın, koyun ve keçi brusellozu ise başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir şekilde devam etmektedir. Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda'da yıllar süren yoğun çabalarla bruselloz büyük ölçüde eradike edilmiştir. Buna karşın bazı Güney Avrupa ülkelerinde, özellikle Akdeniz Bölgesi, Orta Doğu, Batı Asya'nın gelişmekte olan ülkelerinde yaygınlığını sürdürmektedir. Akdeniz ülkelerinde ise bu enfeksiyon bir çok hastalık arasında ön sırada yer almaktadır. (4-6).

Ülkemizde bu güne kadar koyun ve keçilerde görülen bakteriyel orjinli yavru atmaların genellikle bruselloz sonucu oluştuğu, farklı bölgelerimizde hastalık prevalansının %0,6-%22 arasında değiştiği belirtilmektedir (7).

Gelişmiş ülkelerde hastalık genelde hayvanlarda kontrol altına alındığı halde, yurt dışı seyahatlerinde bulunan veya güvenli olmayan hayvan ürünlerini tüketen bireylerle, etkene maruz kalabilme olasılığı yüksek bazı meslek gruplarında (çiftçiler, veteriner hekimler, laboratuvar ve mezbaha çalışanlarında) görülmeye devam etmektedir (5).

Dünya'da ve ülkemizde bruselloz için temel bulaş kaynağı pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimidir. Yurdumuzda oldukça fazla miktarda üretilen süt ürünlerinin büyük çoğunluğu hijyenik olmayan şartlarda, ilkel yöntemlerle çiğ süttten üretilmektedir. Anadolu'da birçok yörede halkın hastalığı ve bulaş yollarını bilmelerine karşın süt ve süt ürünlerini kaynatmadan tükettikleri, kaynatma ve pastörizasyon gibi işlemlerden geçirilmiş sütlerden tereyağı ve peynirlerin gerek yapımının zor olması gerekse damak zevkine uygun olmaması nedeniyle bu alışkanlıklarını bırakmadan

retime ve tüketime devam ettikleri ve her yıl binlerce insanın bu hastalığa yakalandığı bildirilmektedir. Ayrıca hastalıkla birlikte insanlarda meydana gelen fiziki yetersizlik, iş gücü kaybı ve tedavi için yapılan masraflar ülke ekonomisine büyük bir yük getirmektedir. Teşhis ve tedavi anlamında büyük ilerleme kaydedilmesine rağmen bruselloz insan ve hayvanlar için sık görülen ciddi bir sağlık sorunu olarak güncelliğini korumaktadır (8).

Bu çalışmanın amacı, Sivas ili ve bazı köyleri ile Tokat il merkezinde tüketime sunulan açık çiğ sütlerde ve yoğurtlarda yine bu illerimizde bulunan değişik market ve semt pazarlarında satılan beyaz peynir, tereyağı gibi süt rnlerinde ELISA yöntemiyle *Brucella* IgG antikorlarını saptamak ve bruselloza yol açma riskini ortaya koymaktır. Ayrıca son yıllarda gündemde olan fermente süt içeceği kefirin içerisinde *Brucella* bakterisinin yaşam süresini belirlemek ve ev yapımı kefir ile ticari olarak tüketime sunulan farklı marka kefirlerdeki canlı kalma sürelerini karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Brusellozun Tarihçesi

Hayvanlardan insanlara bulaşan ve zoonoz hastalıkların önemli bir bölümünü oluşturan bruselloz, dünyanın büyük bir kesiminde binyılı aşkın süredir önemli bir problem olarak kendini göstermektedir. *Brucella* bakterilerinin insanda oluşturduğu enfeksiyonlar; bruselloz, Malta ateşi, Dalgalı (ondülan) ateş, Bang hastalığı olarak adlandırılır. Hayvanlardan insanlara geçmesi nedeniyle halk arasında mal hastalığı, koyun hastalığı olarak da bilinmektedir (3-9).

Brucella enfeksiyonlarının, insanların hayvanlarla olan ilişkilerinin başlamasına kadar uzanan bir tarihe sahip olduğu belirtilmektedir. M.Ö.450 yılında Epidémies adlı eserinde Hippocrates, ilk kez tekrarlanan ateş sonucu 4 ay içerisinde öldürücü olan bir hastalıktan bahsetmiştir ve bu hastalığı “humma” olarak tanımlamıştır (10,11).

1751 yılında bir Akdeniz adası olan Minorca'da İngiliz Ordusu'nda hekim olarak görev yapan Cleghorn, Hippocrates'in tanımladığı hastalığa uyan ateşli bir hastalıktan bahsetmiştir (11).

Bu hastalığın klinik özelliklerini kendi hastalığından yola çıkarak ilk defa 1861 yılında Mısır'da İngiliz Kraliyet kuvvetlerinde çalışan Jeffery Allen Marston bildirmiştir. Hastalık o zaman "Akdeniz Ateşi" olarak bilinmekteydi. Marston aynı zamanda, Malta ateşi hakkında detaylı bilgileri belgeleyen ilk kişidir (11,12).

Etmen ilk kez, 1887 yılında, İngiliz hekim David Bruce tarafından Malta ateşi olarak ifade edilen hastalıktan ölen bir askerin dalağında izole edilmiştir. Bruce, bu mikroorganizmaya önce *Micrococcus melitensis* adını vermiş, fakat daha sonra Bruce'a atfen adına *Brucella melitensis* denilmiştir (10,13).

Hutryra ve Marek, 1909 yılında Macaristan'da, Traum, 1914'de ABD'nin Indiana eyaletinde prematüre doğan domuzların karaciğer, mide ve böbreklerinden bakteriyi izole ederek buna *Brucella suis* ismini vermiştir (11,14).

Yurdumuzda bu etkenin tespitine yönelik ilk çalışmalar, 1915 yılında Kural ve Akalın'ın İstanbul'daki bir hastada, hastalığın tespiti amacıyla gerçekleştirmiş oldukları çalışmalarıyla başlamıştır. Daha sonra etken, Berke tarafından 1931 yılında sığırlarda, Gölem tarafından 1943 yılında koyun ve keçilerde, Köylüoğlu ve Aktan tarafından da 1944 yılında Bandırma merinos çiftliğindeki koyunlarda tespit edilmiştir (14,15).

2.2 *Brucella* Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri:

Brucella'lar küçük, 0,5-0,7µm eninde, 0,6-1,5 µm boyunda hareketsiz, sporsuz, kirpiksiz, çok defa ikişer ikişer uç uca durma alışkanlığında olan kok, kokobasil veya kısa çomak görünümünde gram negatif bakterilerdir. Bu durumları ile diplokoklara benzerlik gösterirler. Bazı suşlar dışında kapsülleri yoktur (3,16).

Gram boyamada bipolarite göstermezler. Asitlere dirençli bakteri olarak kabul edilmemekle birlikte zayıf asitlerle dekolaryasyona dirençlidir ve bu özellik etkenin Ziehl-Neelsen boyamada kırmızı renkte boyanmasına neden olur (3,17).

İnsanlar da dahil olmak üzere çeşitli organizmalarda intraselüler olarak yerleşen patojenler olduklarından ilk izolasyonlarında üremede güçlük gösterirler. Besiyerleri içerisine serum, gliserin, et özeti, triptoz gibi kompleks peptonlu bileşikler, glikoz, tiamin, niacin, nikotinic asit, vitaminler ve biotin gibi maddelerin eklenmesi üremelerini artırır. İnkübasyondan 2-3 gün sonra kolonileri görülebilmeye rağmen 4-5 gün sonra 2-3 mm büyüklüğe ulaşır. Kolonileri hemolizsizdir. Şeffaf besiyerinde çok açık bal sarısı, şeffaf, konveks, düzgün kenarlı, S tipi, parlak, küçük, su damlası gibi koloniler oluştururlar. Pigment oluşturmazlar. Optimum üreme ısıları 37°C'dir. 20°C-40°C arasındaki sıcaklıklarda da üreme olabilir. pH: 6.8-7'de ürerler. (3,17,18)

Brucella bakterileri Brain-Heart İnfüzyon yarıkatı besiyeri, karaciğer infüzyon agar, trypticase soya agarı, *Brucella* buyyonu ve agarı gibi besiyerlerinde iyi, kanlı agar ve çikolata agarda zayıf ürerken Eosine Methylene Blue (EMB) agar veya diğer enterik besiyerlerinde üremezler (3,11).

2.3 *Brucella* Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri:

Brucella türleri Proteobacteria aleminde, Rhodospirilli sınıfında, Rhizobiales takımında, Brucellaceae ailesinde yer almaktadır. Uluslararası Sistematik Bakteriyoloji Komitesi, *Brucella* Toksonomisi Alt Komitesi'ne göre bu cinste birbirleriyle morfolojik ve kültürel yönden benzerlik gösteren *B.abortus* (dokuz biyotip), *B.melitensis* (üç biyotip), *B.suis* (beş biyotip), *B.ovis*, *B.canis* ve *B.neotemae* olmak üzere 6 tür yer almaktadır. Bunlardan *B.neotemae* ve *B.ovis* hariç hepsi insan için patojendir. Ancak dünya genelinde olguların çoğundan en invaziv ve patojenik tür olan *B.melitensis* sorumludur. Patojenite yönünden *B.melitensis*'i *B.suis* izlemektedir. *B.abortus* ise insanlarda *B.melitensis* ve *B.suis*'e göre daha hafif seyirli infeksiyonlar oluşturmaktadır. 1994'te İskoçya sahillerinde atık yapmış bir yunusun fetusunda farklı bir tür izole

edilmiş, incelenen DNA dizilerine göre önceleri *B.maris* olarak isimlendirilmiştir. Ancak yapılan son araştırmalarda *B.maris*, *B.pinnipediae* ve *B.cetaceae* olarak isimlendirilen iki yeni türe ayrılmıştır. Böylece *Brucella*'ların yunus, balina v.b. deniz memelilerinde enfeksiyonlara neden olduğu ispatlanmıştır (11,19,20).

Brucella cinsi içerisinde yer alan başlıca türler ve bu türlere ait özellikler aşağıda kısaca özetlenmiştir;

2.3.1 *B. abortus*

Serolojik ve biyokimyasal reaksiyonlarla belirlenebilen birbirinden farklı 9 biyotipi bulunan *B.abortus*, sığırlarda enzootik karakterde yavru atma hastalığının etkeni olup temelde sığırları enfekte etmesine rağmen deve, geyik, köpek, at, koyun, keçi, domuz ve insanlarda da enfeksiyona neden olmaktadır. Ağır gelişen bu mikroorganizma yavaşça yayılım gösterir ve yumuşak huylu enfeksiyonlara neden olur. İlk izolasyonlarında %10 CO₂'e gereksinim duyarlar ve H₂S üretirler. Genelde üreyi hidrolize ederler fakat bazı suşlar üreyi hidrolize etmeyebilir. Bazik fuksin, metil viyole, pyronin, safranin O varlığında ürerler. Tiyonin varlığında üremezler. Nitratları nitrite indirgerler (21,22).

2.3.2 *B. melitensis*

Tipik olarak koyun ve keçilerde brusellozun etkeni olan *B.melitensis* insanlarda da Malta Humması hastalığını oluşturmaktadır. İnsanlar için en tehlikeli *Brucella* türüdür. Katalaz ve oksidaz pozitifdir. *B. abortus*'un aksine üremeleri için CO₂'e gereksinim duymazlar ve H₂S üretmezler. Çoğunlukla üreyi hidrolize ederler fakat bazı suşları üreyi hidrolize etmeyebilir. Bazik fuksin, tiyonin, metil viyole varlığında ürerler. Nitratları nitrite indirgerler (21,22).

2.3.3 *B. suis*

B. suis diğer *Brucella* türlerine kıyasla konak yelpazesi daha geniş bir türdür. Domuzları, ren geyiklerini, vahşi karibuları, kemiricileri enfekte eder. 5 biyotipi vardır. Biyotip 2 hariç bütün biyotipleri insanları enfekte eder. Katalaz ve oksidaz pozitifdirler. Üremeleri için CO₂' e gereksinim duymazlar. Biyotip 1 çok miktarda H₂S üretirken diğer biyotipleri üretmezler. Üreyi çok hızlı hidrolize ederler. Tiyonin varlığında ürerler

fakat bazik fuksin, metil viyole, pyronin, safranin O ve malaşit yeşili varlığında üremezler (22)

2.3.4. *B. neotomae*

B. neotomae çöl farelerini enfekte eder. Katalaz pozitif, oksidaz negatiftir. Üremeleri için CO₂'e gereksinim duymayan etken, H₂S üretir ve üreyi çabuk hidrolize eder. Bazik fuksin, tiyonin mavisi ve safranin O varlığında üremezken, tiyonin varlığında ürerler. Nitratları nitrite indirgerler (22).

2.3.5. *B. ovis*

B. ovis koçlarda epididimit enfeksiyonlarından sorumludur. Koyun yetiştiriciliği yapılan bölgelerde özellikle ekonomik önemi olan dişi koyunlarda düşüklere neden olduğu bildirilmiştir. Keçiler deneysel olarak *B. ovis* ile enfekte edilmiştir. Diğer hayvan türlerini ve insanları enfekte etmezler. Katalaz pozitif, oksidaz negatiftirler. Üremeleri için CO₂'e gereksinim duyarlar. H₂S üretmezler. Diğer türlerin aksine üreyi hidrolize etmezler. Metil viyole ile inhibe olurlar. Bazik fuksin ve tiyonin varlığında ürerler. Nitratı nitrite indirgemezler (21,22).

2.3.6 *B. canis*

B. canis erkek köpeklerde epididimoorşit, dişi köpeklerde ise düşüklere neden olur. İnsanlarda enfeksiyon yaptığı bildirilmiş; fakat diğer hayvan türlerinde enfeksiyon henüz bildirilmemiştir. Katalaz ve oksidaz pozitifdir. Üremeleri için CO₂'e gereksinim duyarlar. H₂S üretmezler. Üreyi çok çabuk hidrolize ederler. Nitratları nitrite indirgerler. Üremeleri bazik fuksin ile inhibe olur. Tiyonin varlığında üreyebilirler (22).

Brucella türlerinin ve biyotiplerinin ayırıcı özellikleri toplu halde Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1: *Brucella* cinsi içerisinde bulunan tür ve biyotiplerin ayırtıcı özellikleri (1,2)

Tür	Biyotip	CO ₂	H ₂ S	Üreaz	Boyalı Besiyerlerinde Üreme					Aglütinasyon			Tb Fajı Erime		En Çok Duyarlı Konak
					Tiyonin			Bazikfuksin		Anti	Anti	Anti	RTD	10.000x RTD	
					a	b	c	b	c	A	M	R			
<i>Brucella mellitensis</i>	1	--	--	D	--	+	+	+	+	--	+	--	--	--	Koyun Keçi İnsan
	2	--	--	D	--	+	+	+	+	+	--	--	--	--	
	3	--	--	D	--	+	+	+	+	+	+	--	--	--	
<i>Brucella abortus</i>	1	+ --	+	1-2 h	--	--	--	+	+	+	--	--	+	+	Sığır Cinsi İnsan
	2	+	+	1-2 h	--	--	--	--	--	+	--	--	+	+	
	3	+ --	+	1-2 h	+	+	+	+	+	+	--	--	+	+	
	4	+ --	+	1-2 h	--	--	--	+	+	--	+	--	+	+	
	5	--	--	1-2 h	--	+	+	+	+	--	+	--	+	+	
	6	--	--+	1-2 h	--	+	+	+	+	+	--	--	+	+	
	7	--	--+	1-2 h	--	+	+	+	+	+	+	--	+	+	
	8	+	--	1-2 h	--	+	+	+	+	--	+	--	+	+	
	9	--+	+	1-2 h	--	+	+	+	+	--	+	--	+	+	
<i>Brucella suis</i>	1	--	++	0- 30 dk	+	+	+		--	+	--	--	--	+	Domuz İnsan Ren Geyiği
	2	--	--	0- 30 dk	--	+	+	--	--	+	--	--	--	+	
	3	--	--	0- 30 dk	+	+	+	+	+	+	--	--	--	+	
<i>Brucella rangifer</i>	4	--	--	0- 30 dk	+	+	+	+	+	+	+	--	--	+	
<i>Brucella neotomae</i>	1	--	+	0- 30 dk	--	--	+	--	--	+	--	--	--	+	Ağaç Rıtları
<i>Brucella ovis</i>	1	+	--	--	+	+	+	+	+	--	--	+	--	--	Koç
<i>Brucella canis</i>	1	--	--	0- 30 dk	+	+	+	--	--	--	--	+	--	--	Köpek, İnsan

a= 1/25.000, b= 1/50.000, c= 1/100.000, A= Mono Spesifik abortus serumu, M= Mono Spesifik melitensis serumu, R= Anti. Bruc. Serumu, D=değişken, Tb= Tbilisi, RTD= Rutin Test Dilüsyonu, Boya deneyleri Trypticase Soy agar veya Tryptose Agar'da yapılmıştır.

2.4 *Brucella* Türlerinin Antijenik Yapısı :

Somatik-lipopolisakkarit (S-LPS) antijenleri ve dış membran proteinleri hariç *Brucella* antijenleri tüm suşlarda ortak komponentlere sahiptir (19).

B. melitensis, *B. abortus* ve *B. suis*' in lipopolisakkaritlerinin A (abortus) ve M (mellitensis) olarak adlandırılan 2 farklı antijenik determinantı vardır. Bu determinantlar etkenlerin identifikasyonunda kullanıldığı gibi aynı zamanda *Brucella* bakterilerinin virulansından da sorumludur (3,17).

Lam aglütinasyon ve Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemleriyle A ve M epitoplarına spesifik monoklonal veya poliklonal antikolar saptanarak serovarlar arası farklılık ve A/M antijenik determinatlarının oranı belirlenmektedir. *B. abortus*, *B.melitensis* ve *B. suis*'de A antijeni, M antijeni veya hem A hem de M antijeni bulunabilmektedir. Fakat *B. canis* ve *B. ovis*'de A ve M antijenik determinantları bulunmaz. Somatik A ve M antijenleri *Brucella* bakterilerinde ayrı oranlarda bulunurlar. *B.melitensis*' te M antijeni A antijeninden fazlayken ($A/M = 1/20$), *B.abortus* ve *B.suis*' de ise oran tam tersidir ($A/M= 20/1$). Bu nedenle aglütinin absorpsiyon testleri kullanılarak *B.melitensis*'i diğerlerinden serolojik olarak ayırmak mümkün olduğu halde *B.abortus* ile *B.suis*'i birbirinden ayırmak olanaksızdır (3,23).

Brucella cinsi bakterilerin ayrıca yüzey katmanları diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi; en içte sitoplazma membranı, bunu çevreleyen sert peptidoglikan tabakası ve fosfolipid-LPS-proteinleri (OMP) içeren dış membrandan (OM) meydana gelir. Bazı suşlarda ayrıca yüzeyel L zarf antijeni varlığı ortaya konmuştur. Daha çok *B.abortus* kökenlerinde bulunan bu L antijeni, onların immün serumlarla aglütinasyonuna engel olmakta ancak serumlar 100°C'de yarım saat ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadır. Bu özelliği ile *Salmonella*'lardaki Vi antijenine benzemektedir (3,24).

2.5 Dirençlilik :

Brucella türleri ısı ve dezenfektanlara karşı dayanıksız olup, 60°C' de ısıtmakla 10 dakikada, 72 °C 15 sn'de, 100 °C hemen, %2'lik formol, %1'lik lizol eriyiğinde ise 15 dakikada ölürler. Pastörizasyon esnasında çabuk ölmelerinin

epidemiyolojik değeri vardır. Bu yüzden usulüne uygun olarak yapılan pastörize sütlerden hazırlanan peynir, tereyağı, krema gibi süt ürünlerinden bruselloz bulaşma riski bulunmamaktadır. Süt içinde 17 gün, taze beyaz peynirde 2,5-3 ay, % 10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, % 17 tuz içeren salamura peynirde 1 ay, soğutulmuş etlerde 14 gün yaşadığı, tereyağında 142 gün canlı kaldığı bilinmektedir. Kokuşmayla canlılıklarını kısa sürede kaybederler. Tuzlanmış domuz etinde 3 hafta, çeşme suyunda 8°C'de 57 gün, 25°C'de ise 10 gün canlılığını koruduğu, insan idrarında en az 7 gün, hayvan dışkısında açıkta 100 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay canlı kaldığı bildirilmiştir. Güneş görmeyen toprakta 10 haftadan, gübrede 2 yıldan, 4-8°C'de saklanan keçi peynirinde ise 6 aydan daha uzun süre yaşadığı gösterilmiştir (10,25).

Kültürleri buzlukta 3-6 ay kadar canlı kalabilir. Düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, enfekte çiğ süttten yapılmış dondurmada 30 gün, yaşayabilir. Tulum ve kaşar peyniri uzun süre bekletildiği için, yoğurt ise asiditesi fazla olduğundan hastalığı bulaştırmazlar. 0°C'de 2.5 yıl, dondurulmuş dokularda birkaç yıl, nemli toprakta 60 gün ve 20°C'de % 40 nemli ortamda 144 gün canlı kalabilir. Etlerin normal dinlendirilmesi süresince oluşan pH değişikliği (asitlik) ette bulunabilecek *Brucella* mikroorganizmalarını öldürmeye yeterlidir (3,26,27).

2.6 Bulaş Yolları

Brucella bakterileri insanlara; enfekte hayvanın sekresyonlarının, idrarının, düşük materyalinin hasarlı cilt ile direkt teması (%28-90), kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketimi (%30-72), enfekte aerosollerin inhalasyonu ile bulaşabilir. Canlı *Brucella* aşılarının inokülasyonları ile veteriner hekimlerde bulaşa neden olabilir. Ayrıca bruselloz nedeni ile düşük yapmış sığırın plasentası uterusu yapışiktır. Plasentayı çıkarmak için veteriner veya hayvan bakıcısının eli ile müdahale etmesi sırasında direkt temasla bulaşabilir. *Brucella* bakterisi ile enfekte kan ve sıvıların veya canlı *Brucella* aşısının kazayla konjunktivaya sıçraması sonucu konjunktiva yoluyla da bulaşabilir. Mikroorganizma ile çalışan laboratuvar personeli de risk grubundadır. Laboratuvar ortamında direkt inokülasyon veya inhalasyon yolu ile de bulaş söz konusudur. İnhalasyonla bulaş nedeniyle *Brucella* bakterileri potansiyel biyoterörizm ajanı olarak ilan edilmiştir.

1940'lı yıllarda Amerika Birleşik Devletleri ve bazı ülkelerde *B.suis* bakterileriyle biyolojik silah üretimi yapılmıştır (19,23,28).

Brusellozlu ineklerin çoğu aborttan sonra haftalarca, hatta aylarca sütleriyle etkeni çıkarır. Abort tarihinden 30-40 gün sonra etken hayvanların memelerine ve uterus yumrularına yerleşir. Etkenin sütle çıkışı periyodik olup, laktasyonun sonuna doğru sıklaşır. Özellikle doğumdan hemen sonra yani ağız sütü ile yaklaşık 200.000/ml etken atılır. Brusellozlu analardan doğan buzağuların patojenle enfekte oldukları, bunların 7 gün ile 16 hafta arasında dışkılarıyla mikroorganizmayı çıkardıkları saptanmıştır (23,28).

Hayvanlar arasında bulaş sindirim, deri ve mukoz membranlar yoluyla gerçekleşir. Aynı zamanda enfekte boğa ve koçların semenlerinde de etken bulunur ve çiftleşme ile de bulaşma olur. Mikroorganizma vücuda alındıktan sonra lenf nodlarına yerleşir ve bakteriyemi başlar. Bazı hayvanlarda (sığırlarda *B.abortus*) bakteri uterusu veya meme bezlerine yerleşir ve çoğalır. Zamanla süt, vajinal akıntı ve idrara da geçebilir (10,28).

İnsandan insana bulaş nadirdir ve ancak enfekte donörlerden kan transfüzyonu veya kemik iliği transplantasyonu yapılması sonucunda görülür. Ayrıca aynı süt ve süt ürünlerini yemek-içmek ve hasta hayvan ile temas etmek aile içi bulaşa neden olmaktadır. Neonatal enfeksiyon transplasental yolla veya enfekte anneden bebeğe geçebilir. Literatürde nadiren de olsa etkenin cinsel yolla bulaştığı ileri sürülen olgular bildirilmiş ve spermde bakteri üretilebilmiştir (19,23).

Brucella enfeksiyonu insanlara çeşitli yollardan bulaşmakla birlikte, ülkemizde en çok bulaşma çiğ süttten yapılan peynir ve krema yağlarla olur. Kırsal kesimde sütler pastörize edilmemektedir. Sıcak yaz günleri hayvanlardan sağılan sütlere, hiçbir ısıtma muamelesi uygulanmadan peynir mayası ilave edilir veya santrifüj esasına dayanan yağ makinelerinden krema yağlar elde edilir. Hastalığın yoğurt ile bulaşması söz konusu değildir. Çünkü yoğurt yapılırken süt mutlaka kaynatılır ve ilave edilen maya (yoğurt) sütü asidifiye eder. Yine kaynamış sütle hazırlanan kaşar ve tulum peyniri ile de hastalık oluşmaz. Sütün mutlaka pastörize edilerek tüketildiği yerlerde, direkt temas ile bulaşma, oral yoldan bulaşa göre daha ön plandadır. Enfekte hayvanın etinin, özellikle dalak,

karaciğer gibi retiküloendotelial sistem (RES) organlarının yeterince pişirilmeden yenmesi ile de enfeksiyon görülebilir (3,19,23,27-29).

2.7 Patogenez

Brucella bakterileri, gastrointestinal sistem, deri, nadiren de solunum yolu veya diğer mukozal yüzeylerinden alındıktan sonra, ilk üremesini bölgesel lenf bezlerinde (mezenterik, servikal, aksiller, supraklaviküler) yapar. Kan yoluyla RES organlarına yerleşir ve sonrasında gelişen bakteriyemi sonucunda tüm vücuda yayılır. Yerleştiği başlıca organlar; karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrek, endokard, santral sinir sistemi, testis ve overlerdir (19,29,30).

Brucella cinsi bakteriler *Micobacterium* ve *Listeria* gibi fakültatif intrasellüler patojenler olup, konağın fagositik hücreleri içerisinde çoğalabilirler. Etkenin fagositik hücreler içinde yaşayıp çoğalmasında etkili olduğu ileri sürülen savunma mekanizmaları arasında fagolizozom füzyonunun engellenmesi (hücre duvarında bulunan LPS'lerin oluşturduğu adenin ve guanin monofosfat gibi maddeler aracılığıyla), lizozomal enzimlere direnç göstermeleri, konaktan hidrojen peroksit (H_2O_2) üretiminin önlenmesi ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitesine sahip olmaları ile reaktif oksijen metabolitlerini uzaklaştırarak oksidatif yıkımlara karşı koymaları sayılabilir. Hücre içerisinde üremekte olan bakteri, aynı zamanda antikor tehdidinden ve kullanılan antimikrobiyal ajanlardan uzun süre korunmuş olur. Bu nedenle bruselloz tedavisinin uzun sürmesi gerekmektedir (1,8,29,31-34).

Brucella bakterileri infekte ettiği konakta hem hücresel hem de humoral immün yanıt meydana getirir. Humoral immünite reenfeksiyona karşı korunmada etkili iken, bakterisidal fazda, hücresel immünite daha önemli bir görev almaktadır. Enfeksiyonun kontrolü ve eradikasyonu, T lenfositlerden salgılanan lenfokinlerin makrofajları aktive etmesi ile sağlanır. Hastalığın 7-10. günlerinden itibaren duyarlı lenfositlerden salınmaya başlanan lenfokinler makrofajları uyarmakta, intrasellüler mikroorganizma öldürme işlemi hızlanmakta ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılığın da gelişimi ile organ granülomları meydana gelmektedir (34).

2.8 Klinik

Brucella enfeksiyonu çok sayıda semptomla sahip olması nedeniyle tanı konulması güç olan bir hastalıktır. Enfeksiyon sistemik ve sistemik olmayan birçok hastalığı taklit eder. Hastalığın inkübasyon süresi 2-3 hafta arasındadır. Bazı durumlarda bu süre haftalar hatta aylarca uzayabilir. Bunun nedeni de bakterilerin intrasellüler yerleşme ve yaşaması olarak kabul edilir. *Brucella* enfeksiyonlarının kendine özgü, diğer enfeksiyonlardan ayırt edici belirtileri yoktur. Klasik olarak titreme ile yükselen ateş, gece aşırı terleme, baş ağrısı, kırıklık, halsizlik, kilo kaybı, bel, sırt ve ense bölgelerinde eklemlerde şiddetli ağrılar ve çeşitli nonspesifik semptomlar görülebilir. Haftalarca, aylarca süren periyodik ateşler nedeniyle kullanılan "Ondülan (Dalgalı) ateş" kavramı *B.melitensis* enfeksiyonu başta olmak üzere bruselloz yerine de kullanılabilir. Özellikle geceleri yükselen ateş, gün içinde normale düşer. Daha sonra hasta kendini iyi hisseder fakat zamanla hastalık kronikleşir (19).

Hastalığın birbirinden farklı 4 klinik tablosu bilinmektedir (27):

- Asemptomatik Enfeksiyon (Ambulan Tip)
- Akut Enfeksiyon
- Subakut Enfeksiyon (Ondülan tip)
- Kronik Enfeksiyon

2.8.1 Asemptomatik Enfeksiyon;

Sadece yapılan serolojik taramalarla ortaya çıkarılabilen, belli başlı bir hastalık tablosu ve yakınmaya yol açmayan durumdur. Bu enfeksiyon türü daha çok enfekte hayvanlarla sık temasta bulunan mezbahe çalışanları, veteriner hekimler ve hayvancılıkla uğraşanlarda görülür. Kişi bakteriyi taşır ancak immünitesi baskılandığında yani fırsatçı uygun ortam bulduğunda belirgin enfeksiyon tablosu gelişir (19,27).

2.8.2 Akut Enfeksiyon;

Hastalığın tipik ve klasik formudur. Şikayet süresi iki aydan kısa olan olgulardır. Akut bruselloz hafiften çok ağır seyirli toksik tabloya kadar değişik bir spektrum

gösterebilir. Genellikle öğleden sonraları kendini gösteren huzursuzluk hissi, yorgunluk, kırgınlık, güçsüzlük, iştahsızlık, baş ağrısı, artralji, miyalji gibi genel enfeksiyon belirtileri ile sinsi olarak başlar. Akşam saatlerinde üşüme ve titreme ile ateş yükselir, her gün yavaş yavaş artarak 8-10 günde 39-40°C'ye ulaşır. Birkaç saat süren ateş, sabaha doğru bol terleme ile normale iner. Eğer tanı konmamış ve tedaviye başlanmamışsa ateş tekrar her gün kademe kademe düşer ve 2. haftanın sonunda normale iner. Hastada geçici bir iyilik hali başlamakla birlikte, 8-10 gün sonra aynı ateşli dönem tekrar başlar (ondülan ateş) (19,27,29,35).

2.8.3 Subakut Enfeksiyon;

Teşhiste yanılgılara yol açan, hafif ateş, halsizlik veya iştahsızlık gibi yakınmalarla kolaylıkla grip olduğu sanılan bir klinik tablodur. Birkaç tekrar sonrasında asemptomatik hale geçebildiği gibi, akut hastalığa da dönüşebilir (27,35).

2.8.4 Kronik Enfeksiyon;

Semptomların en az bir yıl sürdüğü olgularda söz konusudur. Bu olguların büyük çoğunluğunu, hastalığın başlangıcında uygun protokollerle tedavi edilmemiş veya kemik, eklem, karaciğer ve dalakta fokal süperatif tutulumu olan hastalar oluşturmaktadır. Daha çok 40 yaş üstü popülasyonda görülürken çocuklarda çok nadirdir (27,35).

2.9 Komplikasyonlar

Brucella enfeksiyonları, akut sistemik belirtilerin yanı sıra veya bunlar olmadan, özgül organ tutulumlarıyla da ortaya çıkabilir. Bu durum lokalize bruselloz ya da komplikasyon olarak da adlandırılan organ veya sistem tutulumlarıdır (35).

2.9.1 Osteoartiküler Sistem Tutulumu

Brusellozda en sık tutulan sistemlerden biridir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ateş ve terleme azalırken, hareket sistemi bulguları ön plana çıkar. Hastalığın geç dönemlerinde, yakınmaların nonspesifik olması nedeniyle tanı koymak güçleşir. Hastaların bir kısmı nörotik oldukları düşünülerek psikiyatri kliniklerine dahi gönderilebilirler (27,35).

2.9.2 Gastrointestinal Sistem Tutulumu

Akut sistemik brusellozlu hastaların %75'inde görülür. Hastalığın başlangıç döneminde iştahsızlık, karın ağrısı, kusma, diyare ya da kabızlık gibi gastrointestinal semptomlar sıktır. Brusellozlu hastalarda dalak ve karaciğer büyüklüğü genellikle birlikte bulunur. Özellikle *B.abortus* enfeksiyonlarında hücresel bağışık yanıt mekanizmalarının aktivasyonu sonucunda granülatöz hepatit gelişimine rastlanır. *B.melitensis*'de ise granülatöz hepatit görülmekle birlikte, granülsüz diffüz hepatit de belirlenebilir (3,27,35,36).

2.9.3 Ürogenital Sistem Tutulumu

Ürogenital sistem tutulumu brusellozda nadir görülmekle birlikte erkeklerde en sık rastlanan bulgu %0,1-2,7 oranlarında gelişen epididimoorşittir. Uygun şekilde tedavi edildiğinde hasarsız olarak iyileşir (3).

2.9.4 Kardiyovasküler Sistem Tutulumu

Endokardit komplikasyonu olguların %2'sinden azında görülmekle birlikte bruselloza bağlı en sık mortalite sebebidir. Çoğunlukla tanısı gecikmiş, 3 aydan eski olgularda görülür. Literatürde bu olgularda tek başına antimikrobiklerle tedavinin mümkün olabileceği bildirilmiş olsa da, endokarditin cerrahi endikasyonlarından birisinin de *Brucella* endokarditi olduğu unutulmamalıdır (3,19,27).

2.9.5 Nörolojik Sistem Tutulumu

Nörobruselloz, hastalığın endemik olduğu bölgelerde nadir görülen fakat ciddi seyreden bir komplikasyonu olup brusellozlu hastalarının %2-5'ini kapsamaktadır. Bazen menenjit tek klinik belirti olduğu halde bazen de hastalığın geç döneminde ortaya çıkar. Nörobrusellozda tanı, klinik bulguları olan hastalarda serumda ve beyin omurilik sıvısında (BOS) aglütinasyon testinin pozitifliği, BOS glukozunun azalması, protein artışı, pleositoz varlığı ile konmaktadır. BOS kültüründe *Brucella* bakterileri izole edilebilmektedir. Ayrıca BOS'da *Brucella* IgG, Ig M ve Ig A antikorlarının ELISA ile araştırılması oldukça değerlidir (3,27,35).

2.9.6 Pulmoner Sistem Tutulumu

Brusellozlu olguların yaklaşık dörtte birinde solunum semptomları vardır. Daha çok kontamine aerosollerin inhalasyonu veya bakterilerin akciğerlere bakteriyemi ile yayılımı sonunda görülebilir (3,19).

2.9.7 Hematolojik Sistem Tutulumu

Hastalığın seyri sırasında anemi, lökopeni ve trombositopeni oluşabilir. Bu bulgular *B.melitensis* olgularında diğer türlere göre daha sıklıkta görülmektedir (19).

2.9.8 Kutanöz Sistem Tutulumu

Olguların %5'inde cilt bulguları görülebilir. Makül, papül, raş, ülser ve eritema nodozum, morbiliform, skarlatiniform, ekzematiform tarzda döküntülerin yanında peteşi, purpura ve kutanöz vaskülit cilt tutulumu görülebilir. Bazen düşük yapan hayvanların plasentasını çıkarmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının önkollarında bruselloza bağlı dermatit görülebilir (3,35).

2.9.9 Oküler Sistem Tutulumu

Çok nadir görülen belirtilerdir. Üveit, optik nörit, endoftalmit, lakrimal bezlerin enfeksiyonu görülebilir (27).

2.10 Teşhis

Brucella enfeksiyonunun özgül belirti ve bulgusu olmadığı için hastalık öyküsü teşhiste oldukça önemlidir. Özellikle hastanın mesleği, hayvan teması, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünü tüketme öyküsü çok iyi sorgulanmalıdır (36).

Brucella hücre içi bakteri oluşu nedeni ile klasik belirtiler dışında her hastalığı taklit eder. Bu yüzden kesin tanı etkenin izolasyonu ile konur (37).

Brusellozun tanısında klinik ve otopsi bulguları hastalıktan şüphe uyandırır da kesin teşhise yardımcı olmaz. Kesin tanı amacıyla laboratuvar ortamında bakteriyoskopi, kültür ekimi, hayvan deneyleri, bakteriyofaj ve alerjik testlerle birlikte kontrol ve eradikasyon programlarının yürütülmesinde kan serumu, süt ve süt serumu, vaginal mukus ve seminal plazma ile yapılan başlıca serolojik teknikler; Rose Bengal Plate Testi (RBPT), Spot Testi, *Brucella* Kart Testi, Serum Tüp Aglütinasyon Testi (STA), Coombs Testi, Kompleman Fiksasyon Testi (KFT), Merkapt-ETanol/ Rivanol Tüp Aglütinasyon, İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHT), İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA), İmmunfloresan test (IFT), Radioimmunoassay (RIA), Süt Ring Testi, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), *Brucella* Capt (38-40).

Brusellozun laboratuvar tanısında yapılacak işlemler iki gruba ayrılır.

Rutin laboratuvar incelemeleri

Özgül laboratuvar incelemeleri

2.10.1 Rutin Laboratuvar İncelemeleri:

Bu incelemede sedimantasyon yüksekliği, anemi, lökopeni, lenfomonositoz, trombositopeni, hemolitik anemi, pansitopeni görülebilir. Karaciğer yerleşiminde karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma gibi lokal tutulumlara bağlı bulgular da görülür (19,41).

2.10.2 Özgül Laboratuvar İncelemeleri:

- Direkt tanı yöntemleri
- İndirekt tanı yöntemleri olarak ikiye ayrılır.

2.10.2.1 Direkt Tanı Yöntemleri:

Hastalık etkeninin kültürden izolasyonu veya nükleer materyallerin moleküler tanı teknikleriyle gösterilmesi temeline dayanan yöntemlerdir (19).

Kültür:

Etkenin varlığını saptamada altın standart test kabul edilen kültür ile mikroorganizmalar izole edilir. Ancak hastalık prevalansının çok düşük olduğu ülkelerde ve bölgelerde mikroorganizmanın tanınmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Ayrıca çok zaman alması, laboratuvar çalışanlarına bulaşma riski, kontamine materyallerden izolasyon şansının az olması ve özel besiyerlerine gereksinim duyması gibi dezavantajları olduğu bildirilmektedir (17).

Kanlı agar plağında 48 saatlik inkübasyondan sonra nokta şeklinde, renksiz, nonhemolitik koloniler ürerse ve mikroskopide ince, solgun boyanan gram negatif kokobasiller görülürse *Brucella* düşünülmeli ve klinisyen uyarılmalıdır. Örneği inceleyen herkes infeksiyonun aerosolle bulaşma riskinin yüksek olduğunu bilmelidir (42).

Genelde geç üreyen bir bakteri olmakla birlikte BACTEC (Becton Dickinson) BACT/ALERT (Bio-Merieux) sistemlerindeki aerobik kültürlerde 2-3 günde üremektedir. Bakteriler ayrıca komplikasyon gösteren olgularda; BOS, eklem sıvısı, periton, perikard sıvılarından, idrardan izole edilebilir; dalak, karaciğer, apse örneklerinden ve floralı bölgelerden izolasyon nadirdir (19,42,43).

Flora bakterilerinin üremesini engellemek için steril olmayan vücut bölgelerinden alınan örneklerin kültürü seçici besiyerlerine yapılmalıdır. Et ekstresi, triptoz, glikoz, ve tuz içeren ortamlarda birçok türün izole edilebilmesine karşın, birçoğu da tiamin, niasin, nikotinic asit, biotin ve serum gibi maddelerin varlığında üreyebilmektedir. *Brucella spp.* üretilmesinde kullanılan besiyerleri; antibiyotikli, glikozlu, serumlu buyyon ve agar, *Brucella* buyyonu ve agarı, çikolatamsı agar, albüm buyyonu ve agarı, kanlı agar, serum dekstroze agar ve

tripticase soy agardır. Bazı türler ise MacConkey agar, Thayer Martin, Martin-Lewis besiyerlerinde de ürer (42).

Kalender ve ark., (2001), Elazığ, Erzincan ve Tunceli illerinden örnek olarak 78 tane taze tulum peyniri numunesi toplamışlardır. Bu çalışmada; besiyeri olarak *Brucella* selektif agar, serum dekstrose agar ve karaciğer infüzyon buyyon kullanarak %10 CO₂'li ve aerop ortamda 7-10 gün inkübasyona bırakmışlardır. Örneklerin 16'sında *Brucella spp.* suşu izole etmişler, bunların 13 tanesini *B.melitensis* ve 3 tanesini *B.abortus* olarak tanımlamışlardır (44).

Nemli ortam *Brucella*'ların kolonilerinin S-R dönüşümünü hızlandırdığından özellikle iyice kurutulmuş katı besiyerleri tercih edilir (45).

Moleküler Yöntemler:

• Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

Brusellozun tanısında 1990 yılından itibaren kullanılmakta olan PZR duyarlılığının yüksek olması, hızlı olması, herhangi bir vücut dokusunda uygulanabilmesi ve bulaştıktan 10 gün sonra bile pozitif sonuç vermesi ve kontamine örneklerden etkilenmemesi nedeniyle tanıda önemli rol oynamaktadır. Tanı amaçlı kullanılabileceği gibi, tiplendirmelerde, epidemiyolojik çalışmalarda da kullanılır. Bruselloz tanısında PZR kültür ve serolojik testlerden daha duyarlıdır (42,45).

Hamdy ve ark., kültür ile PCR tekniğini karşılaştırdıkları bir çalışmada, geçmişte bruselloz yönünden pozitif bilinen bir çiftlikten 52 sığıra ait süt örneği toplamışlardır. Araştırmacılar, çalışmanın sonunda PCR ile % 55 pozitiflik saptarken örneklerin % 46' sından etken izolasyonu gerçekleştirdiklerini ve PCR testinin kültürden daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir (46).

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri:

Genelde önerilmeyen bu testler, in vitro olarak çok geniş bir yelpazede duyarlılık göstermelerine rağmen in vivo etkinliği oldukça azdır. Bu da bakterinin intrasellüler yerleşimi ile açıklanır. Başarılı bir tedavi için, hücre içine penetrasyonu iyi olan ilaçlar gerekir (47,48).

E-Test Yöntemi (AB Biodisk, İsveç):

Yayılmı temelıne dayanan, plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiyal ajanın MİK değeriinin saptanabildiği bir duyarlılık yöntemidir. Stripin bir tarafında ilaç, belirli ve sürekli bir konsantrasyon değışimi olacak şekilde bulunur. Diğer yüzünde de antimikrobiyal ajanın stripin ucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyonları bir cetvel gibi sıralanmıştır. Standart bakteri inokulumu, test için uygun katı besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra stripler yerleştirilir. İnkübasyon süresi sonunda elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenir. E-test stripleri -20 °C'de saklanır. Kullanımdan 30 dakika önce çıkarılıp oda sıcaklığına ulaşması sağlanır (19).

2.10.2.2 İndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler)

Hızlı, pratik ve kısa zamanda çok sayıda saha örneği ile çalışılabilme olanaklarından dolayı eradikasyon programlarının temel unsurunu teşkil eden serolojik testler bruselloz tanısında en çok tercih edilen yöntemleri oluşturmaktadır. Bu yöntemler hastalığa neden olan mikroorganizma ya da bu mikroorganizmanın antijenlerine organizmanın verdiği bağışık yanıt sonucu oluşan antikorların serolojik olarak belirlenmesi; antijenlere karşı organizmada ortaya çıkan aşırı duyarlılığın (alerji) 'deri testleri' ile araştırılması ile yapılan tanı yöntemleridir (17,19).

Yanlış pozitif ya da negatif sonuçların görülmesi, antikorların her zaman belli bir seviyede serumda olmaması, özellikle yeni atık yapmış hayvanlarda yaklaşık 2-3 hafta sonra oluşması gibi dezavantajları vardır. Araştırmacılar serolojik testlerin özellikle *Yersinia enterocolitica* 0:9, *Escherichia coli* 0:157, *Francisella tularensis*, *Salmonella urbana* 0:30 ve *Vibrio cholerae* gibi bazı Gram negatif bakterilerle şekillenen infeksiyonlarda çapraz reaksiyon verebildiklerini bildirilmektedir (17,42,49).

Hilbink ve ark., geyiklerde bruselloz sonucu oluşan antikorları saptamak için Serum Tüp Aglutinasyon Testi (SAT), Rose Bengal Plate Testi (RBPT) ve Kompleman Fiksasyon Testi (KFT) kullanmışlar, incelenen örneklerin % 35' inde pozitiflik saptamışlardır. Ancak, pozitif saptanan hayvanlardan etken izole edememişlerdir. Çalışmayı genişlettiklerin de serolojik testlerin hayvanların daha önce geçirdikleri *Y.enterocolitica* O:9 infeksiyonu nedeniyle çapraz reaksiyon

verdiğini saptamışlar ve hayvanların bruselloz yönünden negatif olduğunu bildirmişlerdir (50).

Hızlı Aglütinasyon Testleri:

- ***Rose Bengal Plate Testi (RBPT):***

Test “Rose Bengal” boyası ile muamele edilmiş ölü *B.abortus* 99 S suşunun tamponlu eriyikteki (pH: 3.65) süspansiyonlarından yararlanılarak yapılan lam aglütinasyon testi (RBPT), küçük sağlık birimlerinde veya polikliniklerde bruselloz tanısının kısa sürede konulmasını sağlayan, hızlı ve duyarlı bir testtir. Lam üzerine 0.003 ml antijen ve aynı miktarda hasta serumu damlatılır. 4 dakika süre ile karıştırılıp aglütinasyon olup olmadığı değerlendirilir. *Y.enterocolitica* O:9 suşuyla verdiği çapraz reaksiyon nedeniyle yanlış pozitifliklere yol açabilir.

Kenar ve ark., (2001), tarafından, Afyon merkez, Emirdağ ve Bolvadin ilçelerine bağlı altı farklı köyde farklı çiftliklerden 120 süt örneğine RBPT uygulanmıştır. Emirdağ'dan toplanan süt örneklerinin 6'sında (%5,0) pozitif sonuç gözlenirken diğer bölgelerde toplanan örneklerde test sonuçları negatif çıkmıştır (45,51).

- ***Spot Testi:***

Serum yerine tam kan kullanılarak yapılan bir aglütinasyon testidir. *B.abortus*'un 99-s kökeninden hazırlanan antijenler kullanılır ve özellikle kitle taramalarında parmaktan alınan kan ile çalışılır (42).

- ***Brucella Kart Testi***

Esas olarak hayvan serumunu test etmek için hazırlanmış, tamponlanmış ve boyanmış bakteri süspansiyonunun kullanıldığı bir aglütinasyon testidir. İnsan brusellozunun tanısında bu yöntem önerilse de günümüzde değersiz olduğu düşünülmektedir (19).

Tüp Aglutinasyon Testleri:

- ***Wright Aglutinasyon Testi (Standart Tüp Aglutinasyonu)= Serum Tüp Aglutinasyon Testi (STA)***

Bruselloz tanısı için, etkene karşı oluşan antikorların serumda saptanmasında yeni tanı yöntemleri ile birlikte değerlendirildiğinde STA, *Brucella* aglutininlerini saptamada yapılması en kolay, altın standart test olarak kabul edilir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır (19,52).

Kullanılan antijen *B.abortus* 99 veya *B.abortus* 1119 suşlarının S kolonilerinden hazırlanan fenolle inaktive edilmiş standart süspansiyondur (pH:7.2-7.4). LPS benzerliğinden dolayı *B.abortus*, *B.suis* ve *B.melitensis*'le eşit şekilde sonuç verir. STA testinin düşük spesifitesi diğer proteinlerle olan çapraz reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır. STA testi uygun tedavi protokolünün seçiminde ve hastalığın seyrini göstermede önemli olan farklı immünglobulin sınıflarını ayırt edemez (19,52).

STA testinde seri dilüsyonları yapılan hasta serumları üzerine eşit miktarda standart *Brucella* antijeni ilave edilir. 18-24 saat 37°C'de inkübasyondan sonra, aglutinasyonun tüpün dibinde yaygın bir kümeleşme şeklinde görülmesi pozitif olarak kabul edilmektedir (3,53).

Akut bruselloz belirti ve bulguları olan hastaların taranmasında STA testi uygun bir testtir. Ancak inkübasyon döneminde, kronik brusellozda ve özellikle aşılama veya enfeksiyon sonucu oluşan antikorların ayırımında kullanımı sınırlıdır. Ayrıca hastalıktan sonra titrenin uzun süre yüksek kalması nedeniyle tedavi takibinde ve *B.canis* enfeksiyonu tanısında kullanılamaması STA testinin dezavantajlarından (19,54).

- ***Coombs Reaktif ile Yapılan Tüp Aglutinasyonu:***

Klinik olarak bruselloz belirtileri olduğu halde yapılan aglutinasyon deneylerinin olumsuz olması, brusellozda sık rastlanan bir durumdur. Olay antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglutinasyon reaksiyonu oluşturmasını engelleyen mekanizmanın bulunmasından doğmaktadır. Bloke edici ya da blokan antikorlar olarak tanımlanan bu tip immünglobulinlerin varlığında, antijen-antikor

birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon meydana gelmemektedir. Bu şekilde olan brusellozlu hastaların serumlarındaki etken coombs testi ile ortaya konabilir ki bu da bir aglütinasyon testidir. Coombs testinde, aglütinasyon görülmeyen tüpler yüksek devirde santrifüjde çevrilir, (bu yüksek devir santrifüjleme ile mekanik olarak inkomple antikorların aglütinasyonu provake edilir) üç kez yıkanan çökeltide, coombs reaktifi ilavesi sonucu aglütinasyon olup olmadığına bakılır. Ortama ilave edilen coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. Böylece blokan antikorların etkisi coombs testi ile ortadan kaldırılabilir. Bu testin, özellikle WAT ile düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önemi vardır (3,19,45).

- ***Kompleman Fiksasyon Testi (KFT):***

KFT en sensitif ve en spesifik konvansiyonel serolojik yöntem olması nedeniyle bruselloz tanısında doğrulama testi olarak kabul edilmektedir. STA testi sonuçlarının yetersiz kaldığı veya negatif olduğu inkübasyon dönemi, geç kronik safha veya aşılmalarda KFT önemli tanı yöntemidir (42,47).

- ***Merkapto-Etanol/Rivanol Tüp Aglütinasyonu:***

STA ile saptanan immunglobulinlerin hangi sınıftan olduklarını belirlemek mümkün olmaz. Ancak deney öncesi hasta serumu 2-merkapto-etanol veya rivanol ile muamele edilirse Ig M sınıfı antikor moleküllerinin yıkıma uğratılması mümkündür. Bu işlemi takiben saptanacak pozitiflik IgG'lere bağlı olarak gelişecektir (19).

Brusellozun akut evresinde önce IgM, sonra IgG tipi antikorların oluştuğu, kronik dönemde IgG tipi antikorların yapımı devam ederken IgM tipi antikorların hızla kaybolduğu, ancak bazı olgularda kronik dönemde de IgM antikorlarının varlıklarını sürdürebildikleri bilinmektedir. Böyle bir durumda pozitif Wright aglütinasyonunun IgM veya IgG sınıfı antikordardan hangisi ile olduğunu ayırt etmek önemlidir. Bunun için hasta serumundaki IgM antikorları, Rivanol veya 2-Merkapto etanol ile ortadan kaldırılarak aglütinasyon deneyinde IgG antikorların

varlığı araştırılır. Bu şekilde işlem görmüş serumlarla yapılan aglütinasyon testinde olumlu sonuç elde edilmesi IgG antikorlarına bağlı olup, hastalığın kronikleştiği anlamını taşır (55,56).

Khorasgani ve ark., (2008) İran'ın Bushehr kasabasında 10.500 serum örneği üzerinde öncelikle RBPT testini kullanmışlardır. RBPT testi sonucu pozitif olan örnekler STA ve 2-merkaptoenol testi ile taranmıştır ve RBPT, STA test sonuçları sırasıyla %0,076 ve %0,057 bulunmuştur. 2-ME testi ile yalnızca bir örnekte pozitif sonuç elde edilmiştir (57).

- ***İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHT)***

Bakterinin lipopolisakkarit (LPS) kısımları ile kaplı, tannik asitle muamele edilmiş koyun eritositlerinin kullandığı bu testte çözülmüş antijenlerden yararlanır. Çok duyarlı olan bu yöntemde nanogram düzeyindeki immünglobulinler saptanabilir (55).

- ***İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA):***

Özel bir lama tespit edilen *Brucella* antijeni üzerine, hasta serumu eklenip inkübasyon ve yıkama işlemleri uygulanmaktadır. Antijen antikor birleşmesini göstermek için, floresan madde ile işaretlenmiş insan anti-globülin serumu kullanılmaktadır. Duyarlı ve özgül bir testtir (10).

- ***İmmüfloresan Test (IFT):***

Konvansiyonel metodlarla karşılaştırıldığında farklı antikor sınıflarını saptamadan başka bir avantajı yoktur (19).

- ***Radioimmunoassay (RIA):***

Testte kullanılan anti-human antikorlar iyot ile işaretlenir ve *Brucella*'ya karşı oluşan antikorlar saptanır. Bu testin sensitivitesi yüksektir. Fakat karışık olması

ve radyoaktif madde kullanılması nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır (52,58).

- ***Süt Ring Testi:***

Enfekte hayvan sürülerini belirlemede yararlanılan pratik bir tarama testidir. Taze sütle yapılan bu test, daha ziyade inek sütlerinde güvenilir sonuçlar vermekte, koyun ve keçiler için alerjik testler önerilmektedir. Test ısıtılmış, kaynatılmış, bozuk, pastörize, mastitli hayvanların sütlerinde uygulanmaz (52).

- ***Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA):***

Sığır brusellozunun teşhisi amacıyla kullanılan ELISA, yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahip olması, çok sayıda numunenin çalışılmasına imkan sağlaması, kısa sürede sonuç elde edilmesi gibi avantajlarından dolayı çeşitli alanlarda tanı amaçlı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikle de saha taramalarında büyük fayda sağlayan bu yöntem diğer testlerden farklı olarak, tüm antikor izotiplerinin güvenilir bir şekilde tespitine imkan verir (58).

ELISA testi ile hastalığın başlangıcında Ig M antikorları, üçüncü haftadan sonra ise IgG antikorları serumda saptanabilir. Hastalığın seyri sırasında IgG, IgM, IgA antikor titrelerindeki değişiklikler ELISA yöntemiyle klasik serolojik testlerden daha iyi tespit edilir ve bu test kronik bruselloz tanısında iyi bir seçenektir (43,59,60).

ELISA'nın kan kültürü pozitif hastalarda spesifitesi % 99.5, sensitivitesi % 100'dür (61).

Abuharfeil ve Abo-Shehada (1998), koyunlarda *B.melitensis* enfeksiyonunu tespitite kullandıkları RBPT, CFT, ELISA yöntemlerini karşılaştırmışlar ve ELISA yönteminin diğer testlere oranla daha yüksek bir özgüllüğe ve duyarlılığa sahip olduğunu bulmuşlardır (62,63).

ELISA'nın temel prensibi, bir enzime bağlanmış antiglobulin kullanarak ortamdaki antijen ile birleşen antikorların gösterilmesine dayanır. Bu amaçla, antijen solid faz denilen genellikle 96 çukurlu polyesteryn mikropleytlere pasif biçimde adsorbe edilir. Bunun yanı sıra polyethylene, naylon boncuk veya

nitroselüloz pleytler de kullanılmaktadır. Antijen olarak; ısı ile öldürülmüş *B.abortus* strain19 veya strain1119-3'ün potasyum klorürdeki ekstresi, sonikasyon antijeni, doğal hapten polisakkarit, sitosol antijeni, otoklav ekstraktı, santrifüj ekstraktı, smooth lipopolisakkarit ve dış membran proteini kullanılmıştır. Antijen adsorbe edilen ortama, içinde antikor olduğu düşünülen madde ilave edilir. Antikor antijen ile birleşir ve yıkama ile bile ortamdan uzaklaşmaz. Antijenle birleşmeyen serum komplementleri bu yıkama ile uzaklaşırlar. Ortamda antikor olup olmadığı, kullanılan antikor için hazırlanmış antijen antikor veya antiglobülin yani konjugat kullanmak suretiyle anlaşılır. Antikor varsa, konjugat antijen-antikor kompleksi ile birleşir. Konjugat olarak genellikle; alkalın fosfataz, galaktosidaz, horse radish peroksidaz enzimlerinden biriyle işaretlenmiş rabbit antibovın, goat anti-bovine IgG ile protein G antiglobulinleri kullanılmaktadır. Oluşan antijen-antikor-konjugat kompleksine ilave edilen substratın enzim ile oluşturacağı reaksiyon sonunda oluşan renge bakılarak sonuçlar çıplak gözle veya mikroplate okuyucusunda okunarak değerlendirilir. Substrat olarak da 5-aminoasitlik asit, ortofenil-diamin (OPD), 2,2-azino-3-etil bentiozalin 6-sülfonat (ABTS), P-nitrofenil, o-tolidin-5-amino-2-hidroksibenzoik asit kullanılmaktadır (2,14,28,49).

- ***Brucellacapt:***

Kuyucuklarda gerçekleşen bir Coombs'lu *Brucella* aglütinasyon testidir. Coombs testi ile sensitivite-spesifitesi aynı ve ikinci seviye bir testtir. RB testi veya dipstick test gibi hızlı testlerin yerini alamaz, pahalı kompleks ve zaman alıcıdır (19,42).

Brusellargen Deri Testi:

Hücresele immüneyi gösterir. Özellikle hastalığın erken dönemlerinde, belirgin antikor yanıtı bulunmayanlarda *B.abortus* kolonilerinden hazırlanmış brusellargen deri testlerinden yararlanır. Alerjik tanı için bakterilerden elde edilmiş ve saflaştırılmış "Brusellargen" (nükleoprotein kompleksinden oluşmuştur) deri içine şırınga edilir. Test uygulanan bölgede deride, 24 saat içinde kızartı, ödem ve

sertlik şeklinde görülen reaksiyon pozitif kabul edilerek, bu kişilerin *Brucella*'lara karşı aşırı duyarlı oldukları anlaşılır. (2,3)

Hayvan Deneyi:

İçerisinde *Brucella* bakterilerin bulunduğu düşünülen ve doğrudan hastadan alınan 5-10 ml miktarında kan, kobayların deri altı kas veya peritonu içine enjekte edilerek yapılır. *Brucella* varsa hayvanlar 2-4 haftada ateş ve septisemi belirtileri ile hastalanırlar. Gebe hayvanlar yavrularını düşürürler. Öldürülen hayvanların büyümüş lenf gangliyonları, kan ve dalaklarından yapılan preparatlarda *Brucella*'ları görmek ve kültür yöntemleri ile üretmek mümkündür. Zor ve zaman alıcı bir deney olup artık kullanılmamaktadır (19).

2.11 Tedavi

Brusellozis olaylarında hasta hayvanlar için sağlım uygulaması yapılmaz ancak koruma tedbirleri alınabilir. Hasta ve reaktör oldukları saptanan hayvanlar mecburi kesime sevk edilir ve ihbarı zorunlu hastalıklar arasında yer alması nedeniyle Hayvan Sağlık Zabıta Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca resmi işlemler uygulanır (28).

Hastalığın tedavisi destek ve özgül olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Destek tedavisinde önemli bir husus yoktur. Bu evrede ağır yemeklerden kaçınılarak sindirimi kolay ve sulu gıdaların tüketilmesi ayrıca hastalığın ilk haftasında yatak istirahati önerilmektedir. Hasta evli bir kişiye eşi de mutlaka kontrolden geçirilmeli, sağlıklıysa eşinin tedavisi süresince seksüel ilişki yasaklanmalıdır (64).

Brusellozun özgül tedavisinde en önemli problem, etkenin hücre içi (intraseküler) üreme özelliği ve kanda nadiren serbest halde bulunmasıdır. İn vitro çalışmalarda birçok antibiyotiğin *Brucella* suşlarına karşı etkili olmasının belirlenmesine karşın, bu bakterilerin makrofaj ve retikuloendotelial sistem hücrelerine yerleşmeleri nedeniyle in vivo tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Kullanılan antibiyotik mutlaka makrofajların içine girebilmeli ve bakterisid etkili

olmalıdır. Hücrelerin içinde ulaşamayan antibiyotiklerle yapılan tedavi başarısız olmaktadır. (64).

Bruselloz tedavisinde günümüze dek kullanılan antibiyotiklerden bazıları:

1. **Tetrasiklin:** Bakteriyostatik olarak *bruselloz* tedavisinde etkilidir. Tek başına kullanılırsa relaps önemli bir problemdir ve çocuklarda etkisi azdır (19,24).
2. **Tetrasiklin-streptomisin kombinasyonu:** Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün önerdiği ilk rejimdir. Bazı araştırmacılar bu kombinasyonunun tedavide daha başarılı olduğunu ve bu tedavi uygulandığında nükslerin daha az görüldüğünü savunmaktadır (65,45).
3. **Ko-trimoksazol:** Çok yüksek relaps oranı görülmesi nedeniyle hiç önerilmemektedir (45).
4. **Rifampisin:** Hücre içine çok iyi penetre olup, yüksek anti-*Brucella* aktivitesi göstermekle birlikte, relaps gelişimi nedeniyle tek başına kullanımı önerilmemektedir (24,45).
5. **Doksisiklin:** 1970'li yılların başında denenmiş ve % 30'a varan relaps nedeniyle kullanımı terk edilmiştir (45).
6. **Doksisiklin-rifampisin:** WHO'nun 2004 'te önerdiği en son tedavi rejimidir. Doksisiklin (200mg/gün) ve rifampisin (600-900mg/gün) en az 6 hafta süreyle kullanılmasını önermektedir. Bazı araştırmacılar streptomisin-tetrasiklin kombinasyonunu, doksisiklin ve rifampisin kombinasyonu tedavisine göre daha başarılı bulduklarını yayınlamışlardır (45,47).
7. **Rifampisin-tetrasiklin kombinasyonu:** Hastaya 4-6 hafta verilebilir. Ancak Rifampisin ve tetrasiklin kombinasyonu bazı hasta gruplarında denenmiş olmasına rağmen yeterli sonuç elde edilememiştir (19,65).
8. **Rifampisin-ko-trimoksazol kombinasyonu:** Bu kombinasyonun etkili olduğuna dair az sayıda çalışma olmakla birlikte, genellikle önerilen bir tedavi değildir (45).
9. **Rifampisin- ofloksasin kombinasyonu:** Türkiye'de yapılan bir çalışmada daha önce başarısı kanıtlanmış olan bu kombinasyonun, doksisiklin-rifampisin kombinasyonu kadar etkili olduğu bulunmuştur (19,24).

Bilinen, genel kabul görmüş bu kombinasyonlara ve uzun süren araştırmalara rağmen *bruselloz* infeksiyonunun tedavi süresi diğer birçok infeksiyon hastalığının tedavi süresine göre daha uzundur. Tek antibiyotik ile tedaviye kalkışmak hem

bakterinin antibiyotiğe direnç kazanmasına hem de tedavinin başarısız olmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle kombine antibiyoterapinin uzun süre uygulamaları gerekmekte, aksi takdirde sağaltım başarısızlıkları ve relapslar gözlenebilmektedir. Relaps oranlarındaki gözlenen artış ve yan etkiler nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bruselloz tedavisinde yeni antibiyotik arayışları sürmekte ve uygun seçeneklerin belirlenmesi amacıyla yapılmış geniş olgu serilerinin sağlandığı çok merkezli, kontrollü çalışmalar bulunmaktadır (65,66).

2.12 Epidemiyoloji

Bruselloz, *Brucella* bakterilerinin yol açtığı, yüz yıllık bir geçmişe sahip olan, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonotik hastalıklardan birisi olarak kabul edilen büyük bir halk sağlığı problemidir. Her yıl 500.000 civarında yeni olgu bildirilmektedir (64).

Hastalığın endemisitesi farklı bölgelerde nüfusun sosyo-ekonomik ve kültürel özelliklerine ve yerel *Brucella* eradikasyon programlarının yoğunluğuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. İnsanlarda görülen infeksiyon hayvan rezervlerine göre şekillenir. Bir ülke veya bölgede hangi hayvan türü fazla ise insanlar arasında da o türün infeksiyonları çoğunluktadır. Farklı bölgelerde infeksiyon insidansında değişken sonuçlar alınmasının başlıca nedenlerinden biri, ulusal ve uluslararası hayvan ticaretinin hareketli olması ve hayvanların sık sık yer değiştirmesidir (3,66,67).

Brusellozun coğrafik sınırlaması belirgin olmamakla birlikte Portekiz, İspanya, Güney Fransa, İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Kuzey Afrika ülkelerinin yer aldığı Akdeniz Havzası ile Arap Yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir. Amerika, İngiltere, Orta ve Kuzey Avrupa, Güney Afrika ve Japonya'da *B.abortus*, keçi yetiştiriciliğinin yaygın olduğu subtropikal bölgelerde ve İran, Afganistan ve Pakistan gibi yerlerde *B.melitensis* yaygındır. *B.suis* Orta Avrupa ve ABD'nin bazı bölgelerinde ve Rusya'nın kutuba yakın bölgelerinde, *B.canis* ise Amerika, Meksika, Arjantin, İspanya, Çin, Japonya'da bruselloz etkeni olarak tespit edilmektedir. *B.ovis*'in insanlarda

enfeksiyon oluşturup oluşturmadığı tam olarak aydınlatılamamıştır. *B.neotamae* ABD'nin Utah eyaletinde (orman kenesinde) görülmektedir (15,17,45,66,67).

Amerika'da bildirilen bruselloz insidansı 1927'de 100'den fazla iken 1947 yılında pik yaparak 6321 olgu çıkmıştır. Enfekte sığır ile temas veya pastörize olmamış ürünlerin tüketimi ile ilgili olan *B.abortus* enfeksiyonları 1950'lerin sonuna kadar olguların çoğunu oluşturmuştur. Bu tarihten sonra çiftlik hayvanlarından hastalığın eradikasyonuna ve süt ürünlerinin pastörizasyonuna yönelik başlatılan çalışmalar ile bildirilen olgu sayısında azalmalar görülmüştür ve bugün için yılda yaklaşık 100-200 olgu bildirilmektedir (19,45).

Ülkemizde hayvanlar arasında oldukça yaygın bir hastalık olan bruselloz, özellikle Ankara Ovasında, Konya Yöresinde, Güneydoğu Anadolu'da Diyarbakır ve Urfa yörelerinde bulunan hayvanlarda sıklıkla görülmektedir. Hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı kırsal bölgelerde hastalık etkeni olarak en sık izole edilen tür *B.melitensis*'ken, büyük şehirlerde daha çok *B.abortus* enfeksiyonuna rastlanır. Türkiye'de farklı bölgelerde yapılan birçok çalışmada koyunlardaki düşük olgularının yaklaşık %20'sinden *B.melitensis*'in sorumlu olduğu bildirilmektedir. Ayrıca Türkiye'deki koyun endüstrisinin major problemlerinden biri olan bu tür, büyük ekonomik kayıplara da neden olmaktadır (45,51).

T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün yayınladığı Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi'ne göre Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıklar dört gruba ayrılır. Bruselloz "**Bildirimi Zorunlu Hastalıklar Grup A**" arasında yer almaktadır. Ancak bruselloz birçok ülkede ihbarı mecburi bir hastalık olmasına rağmen, resmi rakamlar gerçek enfekte insan sayısını yansıtmamaktadır. Olguların bildirilenden 10-25 kat daha fazla olduğu ve bunun başlıca nedeninin olguların çoğunlukla doğru teşhis edilememesinden ve bildirilmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ülkemizde hastalık bildirimlerinin hala yeterli düzeyde olmadığı dikkate alınır, gerçek bruselloz prevalansının sanıldığından daha yüksek olabileceği tahmin edilmektedir (5,30,68).

Ülkemizde bruselloz ile mücadele konusunda yapılan çalışmalar küçümsenmeyecek boyuttadır. Nitekim Türkiye'de bruselloz epidemiyolojisi konusunda en kapsamlı çalışma Çetin ve arkadaşları tarafından 1984-1987 yıllarında yapılmıştır. TÜBİTAK destekli olan bu çok merkezli çalışmada 70.009

serum örneğinin incelendiği, normal popülasyonda %1.8, riskli gruplarda % 6.0 oranında seropozitiflik saptandığı bildirilmiş, ayrıca *Brucella* bakterileri ile karşılaşan kişi sayısının 1.750.000 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Türkiye'de Doğu Akdeniz, Güneydoğu Anadolu bölgesi ve Doğu Anadolu bölgesinde Mersin, Hatay, Kahramanmaraş, Erzurum, Malatya, Diyarbakır ve Şanlıurfa illerini kapsayan illerde bruselloz seropozitifliğini saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada toplam 7458 serum örneği toplanmış ve seropozitiflik %1,28 olarak bildirilmiştir. Bu verilere göre bruselloz olgu sayısı gerçekte Sağlık Bakanlığı'na bildirilenden daha yüksek olduğu görülmektedir (26,69).

Türkiye'de hayvanlarda brusellozun prevalansını belirlemek amacıyla yapılan Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Araştırma Projesi ile 1998-1999 yıllarında 79 ilden tesadüfi örnekleme ile alınan toplam 34.958 adet sığır kan serumu ve 30.433 adet koyun kan serumu incelenmiştir. Hastalığın prevalansı sığırlarda %1.43, koyunlarda ise % 1.97 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma bulguları daha önceki yıllarda olduğu gibi, hayvan hareketlerinin fazla olmadığı ve yavru atma olgularının nadir olduğu Orta ve Doğu Karadeniz sahil şeridindeki iller dışında, ülke genelinde hastalığın yaygın olduğunu göstermektedir (5).

İnfeksiyonu kontrol altına almak ve eradikasyon çalışmalarına katkı sağlamak amacıyla yapılan bir başka çalışmada, 1991 yılında pilot olarak Trakya yöresinde ergin *Brucella* aşılama çalışmalarına başlanmış ve bu proje 1993 yılında sona ermiştir. Bu projenin sonuçlarının değerlendirilmesi amacıyla 1994 yılında Trakya Bölgesinde sero-epidemiolojik bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada bölgedeki 4 ilden (İstanbul, Tekirdağ, Kırklareli ve Edirne) 6089 sığır ve 4160 koyun kan serumu toplanmış bruselloz yönünden test edilmiştir. Alınan sonuçlara göre brusellozun prevalansı sığırlarda %1.06, koyunlarda %0.6 olarak tespit edilmiştir. 1994'ten itibaren ergin aşılama Bruselloz Mücadele Projesi kapsamına alınmış ve hastalığın prevalansının yüksek olduğu illerde zorunlu aşılama programları uygulamaya konulmuştur (70).

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Hayvan Hastalıkları ile Mücadele Genelgesinde 2010 yılında il bazında sığır ve koyun bruselloz prevalansına göre sığır brusellozunun en yüksek olduğu illerin Kars, Erzurum, Ardahan, Eskişehir, Ağrı iken koyun brusellozunun en yüksek olduğu illerin ise Kars, Yozgat, Kayseri, Nevşehir ve Kırşehir olduğu

bildirilmektedir. Yine aynı bakanlığın son 11 yıl içinde (2000-2011) büyük baş hayvanlar üzerinde yaptıkları saha tarama ve pozitif olgu sayıları **Çizelge 2.2'**de gösterilmektedir. Bu çizelgeden ülkemizde bruselloz olgularının arttığı görülmektedir. Ancak dünyada ülkemizde de olgu sayısının artması hastalığın yaygınlaşması şeklinde yorumlanmamakta, bu durum hastalığın daha iyi bilinip daha doğru tanı konulduğunun göstergesi olarak değerlendirilmektedir (5).

Çizelge 2.2 Yıllara göre *Brucella* tarama ve pozitif olgu sayıları

Yıllar	Taranan Hayvan Sayısı	Pozitif Olgu Sayısı
2000	2674	182
2001	1554	263
2002	566	72
2003	1066	229
2004	2701	301
2005	6122	759
2006	10131	1173
2007	8824	3234
2008	32.091	3840
2009	63.709	4446
2010	54.908	2738
2011	30.464	3570

Hastalık her yaşta ve her iki cinste eşit oranda görülmekle birlikte tipik olarak genç ve orta yaşlı erişkinleri tutmaktadır, çocuk ve yaşlılarda insidansı daha düşüktür. Ülkemizde bruselloz tanısı alan olguların %50-60'ı 20-50 yaş arasındadır. Meslek hastalığı özelliğinin önemli olduğu ülkelerde 20-60 yaşlardaki erkeklerde daha sık olarak görülmektedir. Ancak bazı serilerde örneğin; Isparta'dan bildirilen olgularda kadınların % 64'lük bir kesimi oluşturduğu, bunu da kırsal kesimde hayvan bakımı, süt ve süt ürünlerinin hazırlanmasında genellikle kadınların çalışmasına bağlanabileceği bildirilmiştir.

Hastalığın endemik olduğu bölgelerde aile içi salgınlar da görülebilmektedir (19,47,66).

2.13 Koruma ve Kontrol

Koruma ve kontrol kapsamında alınacak önlemlerden birkaçı özellikle kırsal kesimde yaşayan halkın bilinçlendirilmesi, tüketilen süt ve süt ürünlerinin kaynatılarak veya pastörize edilerek hazırlanmasının sağlanmasıdır. Risk altındaki meslek gruplarının (mezbaha işçileri, et paketleyicileri, veterinerler, hayvancılıkla uğraşanlar, laboratuvar çalışanları v.b) eldiven ve tüm kollarını örten giysiler giymeleri, gözlük ve maske takmaları gerekmektedir. Laboratuvar kaynaklı brusellozdan korunmak için ise *Brucella* ile ilgili işlemler bakteriyolojik güvenlik kabiniinde yapılmalıdır.

Ayrıca hastalığın kontrolü ve eradikasyonu çalışmalarında sektörler arası işbirliği büyük önem arz etmektedir. Sağlık Bakanlığı, Milli Eğitim Bakanlığı, iletişim sektörü, gıda sektörü, yetiştiriciler ve mahalli idarelerin koordineli çalışması gerekmektedir (70).

Pastörize olmamış veya iyice kaynatılmamış süt ve bu sütlerden yapılan peynir, krema, tereyağ, dondurma gibi süt ürünleri tüketilmemelidir. Yine bu nedenle şüpheli ürünlerin tüketiminden de kaçınılmalıdır (5).

Hayvan yetiştiricileri yavru atan hayvanların tüm atıkları çıplak el ile dokunulmadan imha edilmelidir. Atıklar çevreye atılmamalı başka hayvanların (kedi, köpek vb.) tüketmesine engel olunmalıdır. Ahır ve ağıllarda dezenfekte edilmeli, atık varlığında hemen bir veteriner hekime haber verilmeli ve hastalığın teşhisi konulduktan sonra hayvanlar mutlaka aşılanmalıdır (5).

2.14 Kefirin Tanımı ve Kefir Danesinin Yapısı

Kefir, sütte kefir daneleri kullanılarak etil alkol ve laktik asit fermantasyonları sonucu elde edilen, çok eski geçmişe sahip, fermente bir süt ürünüdür. Uzun zamandan beri Kafkasya'da bilinmekte ve yöre halkı tarafından geleneksel olarak üretilip tüketilmektedir. Kafkasya'da, deri tulumlar ya da meşeden yapılmış fiçiler içinde üretilen kefirin besleyici değeri ve fizyolojik özelliklerinin anlaşılmasından sonra 19. yüzyılın sonlarına doğru Doğu ve Orta Avrupa ülkelerinde de üretilmeye başlandığı belirtilmektedir (71).

Kefir daneleri 0,3-2 cm çapında, irili ufaklı düzensiz şekillerdedir. Danenin yüzeyi girintili çıkıntılı olup, karnabahar parçalarına benzer, elastiktir, renkleri beyaz ya da hafif sarımtıraktır. Daneler, mikrobiyal hücreler, bunların metabolik ürünleri, pıhtılaşmış süt proteinleri ve karbonhidratlardan oluşmuştur (72).

Kefir danelerinin dondurularak -20 °C'de saklanması ile mikrobiyal aktivitelerini 7-8 ay koruyabildikleri, buzdolabı koşullarında ise aktivitesini yaklaşık 10 gün sonra kaybettiği bildirilmiştir (73).

2.14.1 Kefir Mikroflorasında Yer Alan Maya, Laktik Asit ve Asetik Asit Bakterilerinin İnhibisyon Oluşturma Özellikleri

Kefir mikroflorasında, danenin orjinine bağlı olarak farklı mikroorganizma türleri bulunmaktadır. Bunlar laktozu fermente eden ve etmeyen mayalar ile homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterileri (laktobasiller, laktokoklar) ve asetik asit bakterileridir. Kefirde laktozu fermente eden ve edemeyen mayalarla birlikte laktik asit bakterileri simbiyotik olarak yaşamaktadırlar (74).

Çeşitli gıdalarda metabolik faaliyetleri sonucunda asit üreten bu mikroorganizmalar insanda hastalık yapan ve gıdaların bozulmasına neden olan birçok patojen mikroorganizmanın gelişimini inhibe edici veya öldürücü antimikrobiyal ürünler sentezler. Metabolizma ürünleri olan laktik asit, hidrojen peroksit, hidrojen sülfür gibi bileşikler ortamın pH'sını düşürerek patojen bakterilerin üremelerini kontrol altına alarak antagonistik etki gösterirler. Ayrıca kefirin bileşiminde bulunan antibakteriyel maddeler, asidik ortamda aktive olmaktadır (74,75,76).

Fermente gıdalarda (yoğurt, kefir) diğer mikroorganizmaların inhibisyonunda etkili unsurlardan biri düşük pH'dır. Düşük pH dışında antimikrobiyal etkiyi oluşturan en önemli faktörlerden biri ise bakteriosinlerdir. Bakteriosinler protein veya protein kompleksleri olup laktik asit bakterileri tarafından üretilen antimikrobiyal maddelerdir. Bu özellikleri sayesinde bazı gram

pozitif ve negatif bakterilere karşı inhibisyon etkisine sahiptir. Bu mikroorganizmalar arasında özellikle *Salmonella* türleri, *Staphylococcus aureus*, enteropatojenik *Escherichia coli*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Bacillus subtilis*, *Shigella dysenteriae* gibi enterik patojenlerin gelişmesini engeller (74,76).

2.14.2 Kefirin Besleme Değeri ve Sağlık Üzerine Etkileri

Kefir süttten yapıldığı için, süt içindeki yağ, laktoz, mineral maddeler ve vitaminler gibi besin maddelerinin hepsini yapısında bulundurmaktadır. Hatta oluşumu sırasında bazı vitaminlerin sentezlenmesi, proteinlerin ve laktozun kısmen parçalanması, kefirin besleme değerini artırmaktadır (77).

Kefirin yapısında bulunan mikroorganizmalar sütte meydana getirdikleri değişikliklerle onu daha kolay sindirilebilir hale getirirler. Böylece kefirdeki besin elementlerinin vücut tarafından daha kolay emilimi sağlanır. Özellikle sütteki laktozun, laktik aside dönüşmesi nedeniyle kefir, laktoz-intolerant kişiler tarafından da rahatça tüketilebilir. Ayrıca kalsiyum, fosfor, aminoasitler, folik asit ve B-vitaminleri bakımından oldukça zengin bir süt ürünü olan kefir, dünyanın bir çok değişik bölgesinde tüberküloz, kanser ve gastrointestinal rahatsızlıklarda tedavi amaçlı olarak geniş çapta kullanılmaktadır (78,79).

Kefirde bulunan laktik asit bakterilerinin alımından sonra insanlarda ve çeşitli hayvanlarda immün faaliyetler gözlenmiş ve laktik asit bakterilerinin insan ya da hayvan bünyesinde tümörler ya da enfeksiyonlara karşı spesifik olmayan direnci artırdığı ya da spesifik immün reaksiyonları kuvvetlendirici bir etki yaptığı görülmüştür. Laktik asit bakterileri immün sistem üzerine adjuvant etki göstermektedir. Adjuvant madde bir tedavide verilen ilacın etkinliğini artırmak amacıyla kullanılan madde olarak tanımlanmaktadır. İmmün sistem için düşünüldüğünde immün sistemin etkinliğini artıran unsur olarak tanımlanabilir (71).

Patojen bakterilere karşı; sürekli içildiğinde kefirle birlikte vücuda alınan yararlı bakteriler, özellikle de laktobasiller bağırsaklara yerleşerek, buradaki mikroflorayı düzeltmekte ve ürettikleri asit, hatta antibiyotik bileşiklerle hastalık

yapan bakterilerin ortadan kalkmasını sağlamaktadırlar. Laktik asit bakterileri ve mayaların mikroflorada bulunmalarından dolayı, kefir dış kaynaklı bağırsak mikroorganizmalarına karşı yüksek derecede antibiyotik etki gösterir. Ayrıca kefirdeki bakteriler tarafından üretilen laktik asit, asetik asit ve antibiyotik maddeler, ince bağırsaklarda saprofit bakteriler tarafından oluşturulan bozulma ve çürümleri önler. Çeşitli hastalıklar ya da antibiyotik tedavisi sonucunda bozulan bağırsak florasının yeniden düzenlenmesi amacıyla kefir tüketilmesi tavsiye edilmektedir. Bunun yanında kefir, bağırsakları çalıştırıp temizleyen, dışkıyı kolayca dışarı atılmasını sağlayan bir özelliğe de sahiptir (77, 78, 79).

Günümüz koruyucu hekimlik konuları arasında yer alan alternatif tıp uygulamalarından biri olan probiyotik gıdalar ve bunlar içerisinde ise probiyotik süt ürünleri giderek önemsenmektedir. Başlıca probiyotik niteliklere sahip ve doğal olarak yararlı mikroorganizmaları barındıran fermente bir süt ürünü olan kefir, son yapılan araştırmalar ile birlikte oldukça değerli bir içecek olarak karşımıza çıkmaktadır. Sentetik, katkılı içeceklerin sağlığımızı ciddi derecede etkilediği, zihinsel ve fiziksel gelişime katkısı olmadığı, zararlarının hayli fazla olduğu bilinmektedir. Kefir gibi doğal ürünlerin kullanılması sağlıklı ve kaliteli yaşam için toplumsal bir gereksinimdir. Kefirin sağlık açısından yararları anlaşıldıkça talebin daha da arttığı ülkemizde ev tipi kefir yapımının giderek yaygınlaştığı gözlenmektedir. Ülkemizde kefir üretiminin gelişimine katkıda bulunmak, özellikle Türk damak tadına uygun bir kefir mamulünün üretilmesi ve yaygınlaştırılmasını sağlamak amacıyla bu çalışma önemli olacaktır.

3. MATERYAL VE METOD

Bu araştırma Mart-Haziran 2011 tarihleri arasında Sivas ve Tokat yöresinde süt ve süt ürünlerinde *Brucella* IgG pozitifliğinin tarandığı kesitsel bir çalışmadır.

3.1. Süt ve Süt Ürünlerinde *Brucella* Antikorlarının Aranması

3.1.1 Örneklerin Toplanması ve Saklanması

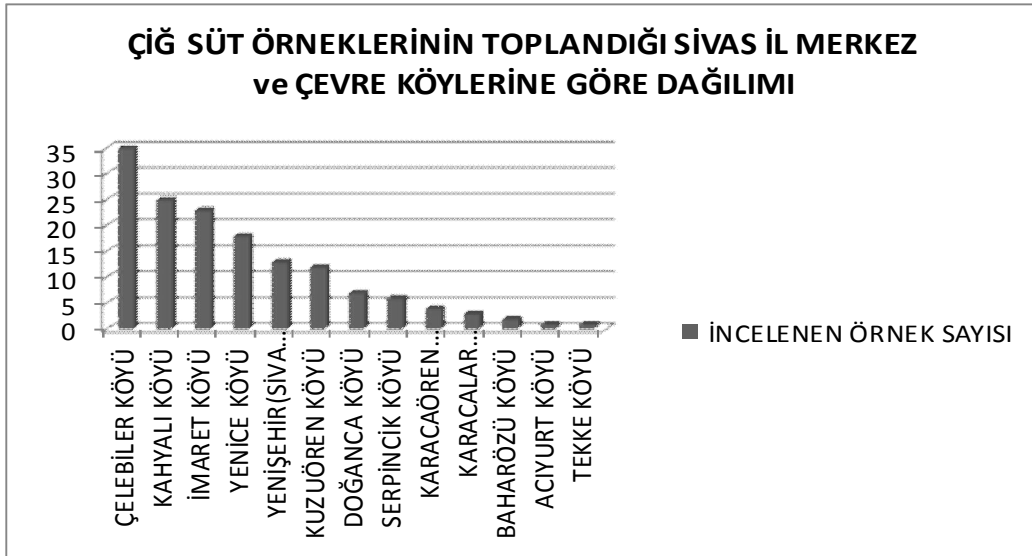
Araştırmada 250 çiğ süt, 100 beyaz peynir örneği, 50 adet yoğurt ve 50 adet tereyağı olmak üzere toplam 450 örnek toplanmış ve *Brucella* IgG pozitifliği yönünden ELISA yöntemiyle test edilmiştir. 250 çiğ süt örneğinin 150 tanesi Sivas il merkezi ve çevre köylerinden, 100 tanesi Tokat il merkezi sokak sütçüleri ile Tokat'ın Reşadiye ve Pazar ilçelerinden temin edilmiştir. 100 beyaz peynir örneğinin 50 tanesi Sivas il merkezinde bulunan şarküteri, market ve pazarlarda satılan beyaz peynirlerden, 32 tanesi Tokat il merkezinde bulunan mandıra, market ve pazarlarda satılan beyaz peynirlerden ve 18 tanesi çalışılan örnek çeşitliliğini artırmak için Tokat'ın Reşadiye ilçesinden temin edilmiştir. 50 adet yoğurt örneği süt temin edilen yerlerden ve 50 adet tereyağ örneği de yirmi beşer tane olmak üzere Tokat ve Sivas il merkezinde bulunan market ve pazarlardan temin edilmiştir. Süt örneklerinden yüzer ml, beyaz peynir, tereyağ ve yoğurt örneklerinin her birinden 20 gr steril kaplara alınıp, numaralandırılmıştır (Şekil 3.1) Soğuk zincir korunarak laboratuvara getirilmiş olan örnekler ELISA testi yapıncaya kadar derin dondurucuda - 20 ° C'de saklanmıştır.

Sivas il merkezi ve çevre köylerinden temin edilen 150 adet çiğ süt örneği ile Tokat il merkezi sokak sütçüleri, Tokat'ın Reşadiye ve Pazar ilçelerinden temin edilen toplam 100 adet çiğ süt örneği belirtilen sayılarda; Çelebiler Köyü (35), İmaret Köyü (23), Kahyalı Köyü (25), Karacalar Köyü (3), Tekke Köyü (1), Serpincik Köyü (6), Yenice Köyü (18), Yenişehir (Sivas Merkez) (13), Karacaören Köyü (4), Kuzu Ören Köyü (12), Doğanca Köyü (7), Baharözü Köyü (2), Acıyurt Köyü (1), Tokat Merkez (26), Reşadiye (50), Pazar (24) olmak üzere analiz için toplanmıştır.

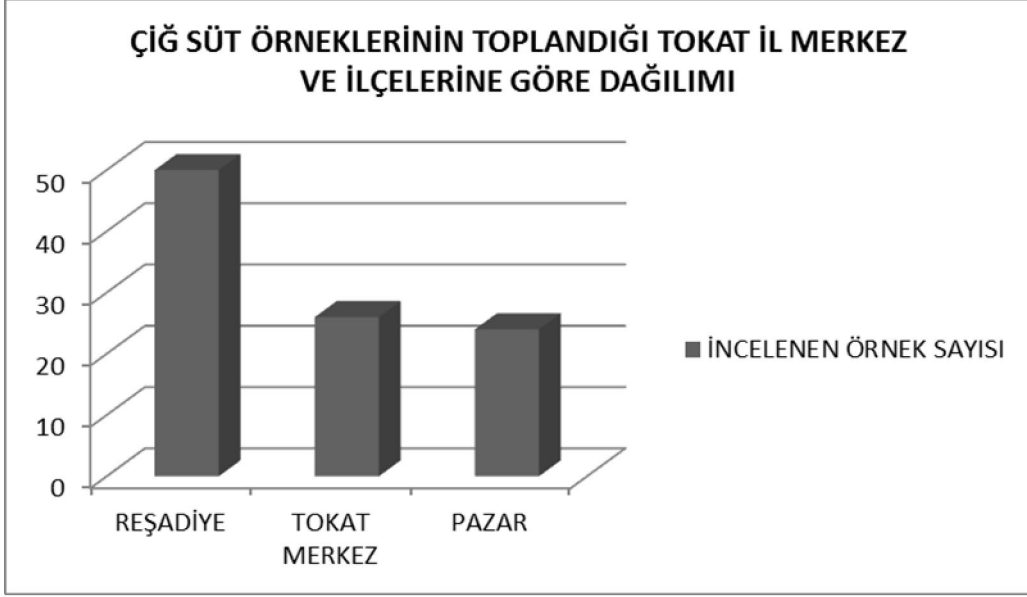
Yoğurt örneklerinin dağılımı; Yenişehir (Sivas Merkez) (6), Yenice Köyü (4), Acıyurt Köyü (2), İmaret Köyü (7), Karacalar köyü (1), Yapalı Köyü (2), Çelebiler Köyü (3), Reşadiye (14), Pazar (11).



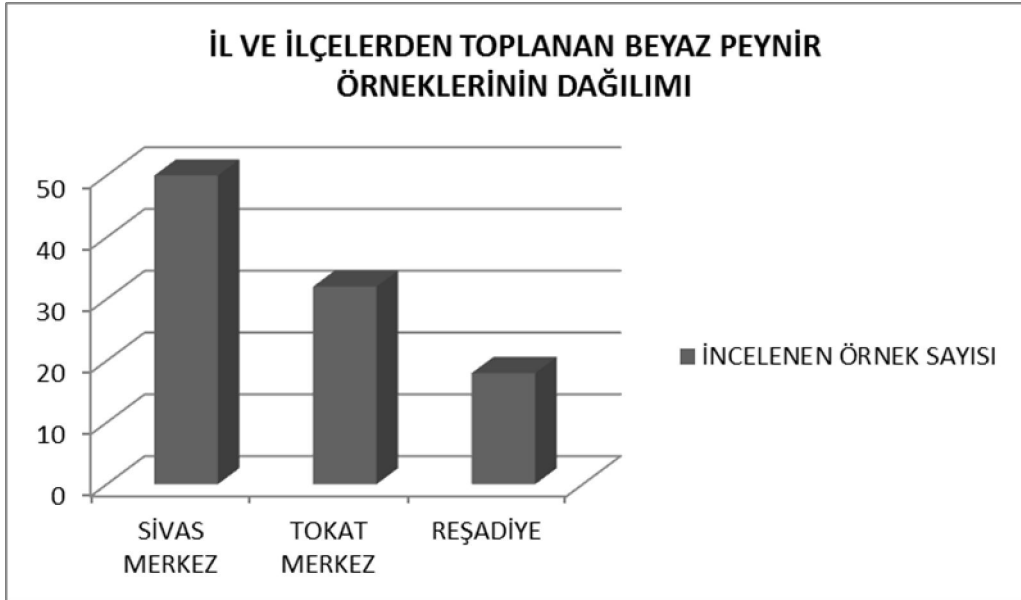
Şekil 3.1 Örneklerin toplandığı steril kaplar



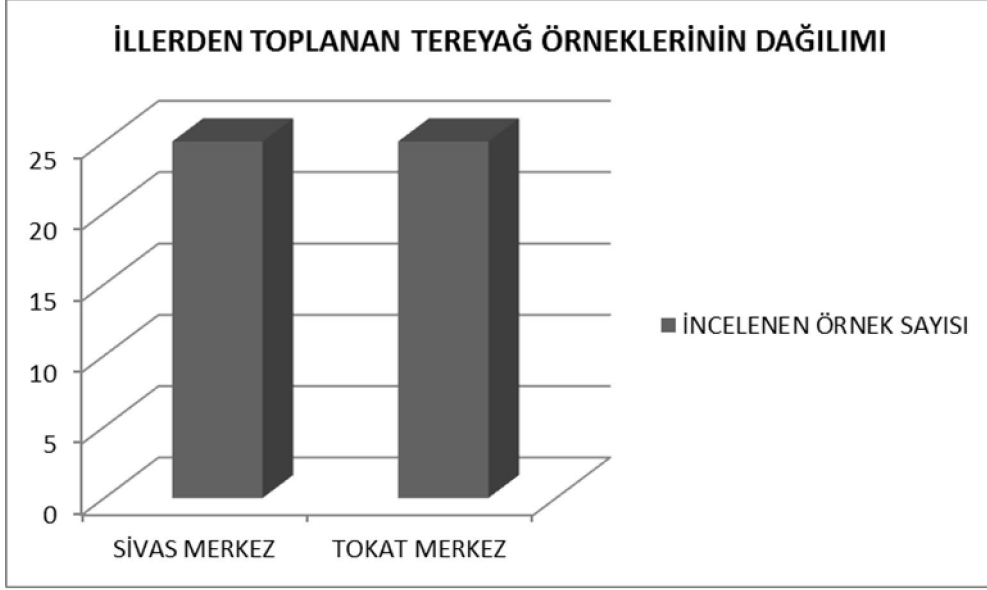
Şekil 3.2 Çiğ süt örneklerinin toplandığı Sivas il merkez ve çevre köylerine göre dağılımı



Şekil 3.3 Çiğ süt örneklerinin toplandığı Tokat il merkez ve ilçelerine göre dağılımı



Şekil 3.4 İl ve ilçelerden toplanan beyaz peynir örneklerinin dağılımı



Şekil 3.5 İllerden toplanan tereyağ örneklerinin dağılımı



Şekil 3.6 İlçe ve köylerden toplanan yoğurt örneklerinin dağılımı

3.1.2 Örneklerin ELISA Deneyi İçin Hazırlanması

Derin dondurucuda saklanmış olan süt, peynir, tereyağ ve yoğurt örneklerinin çalışma öncesinde oda sıcaklığına getirilerek çözünmesi sağlanmıştır. Örneklerin tamamının bir anda çalışılması mümkün olmadığından doksanar adet örnek çözülmüş ve beş aşamada çalışılmıştır. Süt örnekleri için çalışma öncesi herhangi bir işlem yapılmamıştır.

Araştırmada kullanılan beyaz peynir, tereyağ ve yoğurt örneklerinin her birinden alınan yaklaşık 5 gr örnek, 15 ml serum fizyolojik içerisinde steril plastik kaplarda ezilerek homojen hale getirildi. Homojenize olmuş bu örnekler daha sonra epondorf tüplerine koyuldu, etiketleme yapıldı ve bu şekilde çalışma için hazır hale getirildi.

3.1.3 ELISA Deneyinin Yapılışı

Bu işlemde Institut Pourquier (France) marka *Brucella* IgG-ELISA Kitinin kullanma prosedürüne uyularak sırasıyla aşağıdaki işlemler yapılmıştır.

- Kit içerisinde hazır liyofilize halde bulunan pozitif ve negatif kontrol sütleri birer ml distile suyla hazırlandı.
- Örnekler (kontroller ve analiz edilen örnekler) Dilüsyon Buffer-1 ile 1/5 oranında dilüye edildi.
- Plağın her bir kuyucuğuna Dilüsyon Bufferdan 200 µl koyuldu.
- Üretici firmanın önerdiği şekilde ELISA 96 kuyucuklu mikro ELISA plağına 2 negatif, 2 pozitif süt örneklerinden 50 µl, diğer kuyucuklara ise test edeceğimiz örneklerden 50 µl koyuldu.
- Plaklar nazik bir şekilde çalkalanarak kuyucuklardaki bileşenler homojenize edildi.
- Plak bir alüminyum folya ile kapatıldı ve 1,5 saat süreyle +21°C'de karanlık bir ortamda inkübasyona bırakıldı.
- ELISA Yıkama Solüsyonu 1/20 oranında dilüye edildi. Plak inkübasyon tamamlandığında bu dilüye edilmiş olan ELISA yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkandı.
- Yıkama işlemi sonunda mikropalak kurulama kâğıdı üzerine ters çevrilerek fazla kalan sıvının giderilmesi sağlandı.

- Dilüsyon Bufferda konjugat 1/100 oranında dilüye edildi.
- Bu dilüye edilmiş konjugat her bir kuyucuğa 100 µl dağıtıldı.
- Plak bir alüminyum folyo ile kapatıldı ve 30 dk süreyle +21°C de karanlık ortamda inkübe edildi.
- Daha sonra plak tekrar ELISA yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkandı.
- Yıkama işlemi sonunda mikropalak kurulama kâğıdı üzerine ters çevrilerek fazla kalan sıvının giderilmesi sağlandı.
- Yıkama işleminin bitiminde tüm kuyucuklara 100 µl substrat solüsyonu koyuldu.
- Plak bir alüminyum folyo ile kapatıldı ve 20 dk süreyle +21°C de karanlık ortamda inkübe edildi.
- Süre sonunda her bir kuyucuğa “Stop Solüsyonu” ndan 100 µl dağıtıldı.
- Renkli solüsyon homojenize oluncaya kadar plaklar nazikçe çalkalandı. Renk değişimi olan kuyucuklar tespit edilip vakit kaybetmeden ölçüldü.
- ELISA okuyucusunda OD (Optik Dansite) 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okutuldu ve sonuçların yazıcıdan çıktısı alındı.

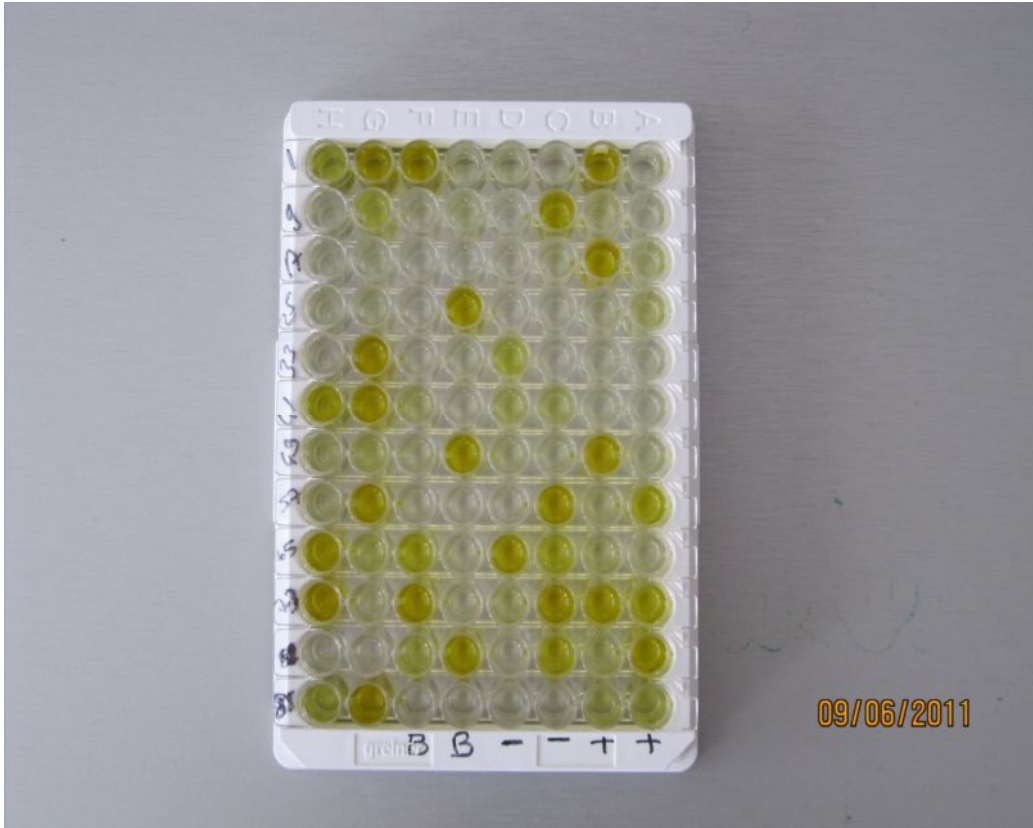
3.1.4 Sonuçların Hesaplanması

- Institut Pourquier (France) marka *Brucella* IgG-ELISA kitinin kullanma prosedürüne göre pozitif kontrol sütün OD 450 değeri minimum 0.400 olmalıdır.
- Pozitif kontrol sütün OD 450 deki değerinin ve negatif kontrol sütün OD 450 deki değerinin birbirine oranı 3'e eşit veya daha fazlaysa sonuçlar dikkate değerdir.
- Her bir örneğin hesaplanması:

$$\%S/P = 100 \times \frac{(OD\ 450\ \text{örneğin değeri} - OD\ 450\ \text{Negatif kontrol değeri})}{OD\ 450\ \text{pozitif kontrol değeri} - OD\ 450\ \text{negatif kontrol değeri}}$$
- Çalışmada birden fazla negatif ve pozitif değer araştırıldığından pozitif ve negatif kuyucuklarda bulunan örneklerin OD değerlerinin hesaplanmasında iki negatif değer ve iki pozitif değer ortalaması alındı.

3.1.5 Verilerin Değerlendirilmesi

- Örneğin %S/P oranı %45'e eşit veya daha düşükse negatif olarak değerlendirildi.
- Örneğin %S/P oranı %45 ve %55 arasında ise şüpheli olduğu düşünülür. Bu örneklerin değerlendirilmesi için ikinci bir test gerekti.
- Örneğin %S/P oranı %55'e eşit veya daha büyük ise pozitif olarak değerlendirildi.



Şekil 3.7 ELISA testinin pozitif ve negatif görüntüsü

3.2 *Brucella* Bakterilerinin Kefirde Yaşam Sürelerinin Araştırılması

3.2.1 Kefir Örneklerinin Hazırlanması

Araştırma için üç farklı kefir örneği kullanıldı. Bunlardan biri halk arasında elden ele dağıtılan kefir danelerinden üretilen kefir, diğerleri ticari olarak tüketime sunulan hazır kefir. Pastörize süttten 1000 ml steril kaba alınıp içerisine halktan

temin ettiğimiz kefir danelerinden 15-20 gr ilave edilip iyice karıştırıldı ve kabın kapağı kapatılıp ortam ısısı 20-25 °C' de olacak şekilde 24 saat inkübasyona bırakıldı. Kefir danelerinin ayrılması için bir kabın üzerine yerleştirilen plastik süzgeçten geçirildi. Hazırlanan ve ticari olarak satın alınan kefirler 100 ml'lik steril kaplara yirmişer ml olmak üzere dağıtıldı. Her 3 kefire ait ikişer örneğe (*B.melitensis* ve *B.abortus* için) hiçbir işlem yapılmadı ve kontrol grubu olarak etüve kaldırıldı. İnokülasyon için patojen bakteriler olarak *B.melitensis* ve *B.abortus* kullanıldı.



Şekil 3.8 Araştırmada kullanılan kefir daneleri

3.2.2 *Brucella* Bakterilerinin Kefire İnokülasyon İçin Hazırlanması

Brucella spp. floralı ve kontamine (süt, plasenta vb) olmayan materyallerden primer izolasyonu ve pasajlarla bakteri devamlılığının sağlanmasında ideal ortam Serum Dekstroz Agardır (SDA). Çalışmamızda *Brucella* bakterilerinin (*B.melitensis* ve *B.abortus*) üretilmesi ve izolasyonu için ticari olarak sağlanan SDA (Salubris) kullanılmıştır (80).

Kefir örneklerine inoküle edilen patojen bakteri türleri; Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi kültür koleksiyonundan temin edilen *B.abortus* (RSKK 279) ve *B. mellitensis* (RSKK 310) suşlarıdır.

SDA katı besiyerinde üretilen patojen bakteriler kefire inokulasyondan önce peptonlu saline içerisinde McFarland bulanıklığına göre farklı yoğunluklarda hazırlandı.

3.2.3 Deneyin Yapılışı

Çalışmamızın bu bölümünde 3 çeşit kefir steril kaplara ikişer ml dağıtıldı. Daha sonra *Brucella* bakterilerinin sayısı yaklaşık olarak, McFarland standart tüplerinin bulanıklığı skalası yardımı ile tayin edildi. Bu yüzden McFarland standart tüplerinden 6, 8 ve 10 bulanıklık oranında bakteriler süspanse edildi.

McFarland 10 bulanıklık derecesi = $3,0 \times 10^9$ bakteri .

McFarland 8 bulanıklık derecesi = $2,4 \times 10^9$ bakteri

McFarland 6 bulanıklık derecesi = $1,8 \times 10^9$ bakteri

Brucella melitensis ve *Brucella abortus* bakterilerinden hazırlanan farklı bulanık derecelerindeki bakteri süspanسیونları kontrol grubu dışında yirmişer ml'lik kefir örneklerinin içerisine 100 µl oranında ilave edildi. Böylece her bir bakteri süspanسیونu 1:200 oranında dilüye edildi. Sonuç olarak her bir deney ortamında;

McFarland 10 bulanıklık derecesi= $3 \times 10^9 / 200 = 1,5 \times 10^7$ bakteri .

McFarland 8 bulanıklık derecesi= $2,4 \times 10^9 / 200 = 1,2 \times 10^7$ bakteri .

McFarland 6 bulanıklık derecesi= $1,8 \times 10^9 / 200 = 0,9 \times 10^7$ bakteri inoküle edilmiş oldu.

Her bir bakteri konsantrasyonu için altışar kez ekim yapılarak işlem tekrarlandı. Daha sonra örnekler 37 °C' de inkübasyona bırakıldı. Toplam 114 kefir örneği 1, 2, 3 ve 10. günlerde (24, 48, 72 ve 240. saat) SDA besiyerine ekimi yapılarak *Brucella* bakterilerinin kefirde canlı kalabilme süreleri araştırıldı.

3.2.4 Kontrol Grubu Kefir ve Patojenli Kefir Örneklerinin Serum Dekstroz Agar'a Ekim Aşaması

Hazırlanan kefir örnekleri 37 °C' de inkübasyona bırakıldı ve 24 saat sonra kefir örneklerinden 50 µl steril pipetle alınarak Serum Dekstroz Agar' a steril şartlarda özeye ekim yapıldı. Besiyerine ekim işlemi yapıldıktan sonra kefir örnekleri

tekrar 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. 48-72-240. saatlik zaman diliminde tüm kefir örneklerinde de aynı yol takip edildi. Böylelikle kefir örneklerinde *Brucella*’nın canlılık süresi araştırılmış oldu.

3.2.5 SDA’da Üreyen Bakteriler Arasında *Brucella spp*’nin Varlığının Araştırılması

Kefir mikroflorasında *Brucella* bakterilerinin yaşam sürelerini belirlemek için Serum Dekstroz Agarda üreyen bakteriler tek tek çalışıldı. Her güne ait her bir plakta üreme kontrolü ile identifikasyon çalışmaları yapıldı. Plaklarda gözlenen her bir farklı koloniden gram boyama yapılarak bakteri morfolojisi değerlendirildi. Gram boyamada “gram negatif küçük kokobasil, kokoid veya kısa basil” morfolojisinde bakterilerin görüldüğü ve *Brucella spp.* için uyumlu olduğu düşünülen kolonilerden de monovalan aglütinasyon yöntemiyle *B.melitensis* ve *B.abortus test* edildi.

3.2.6 İstatistiksel Analiz

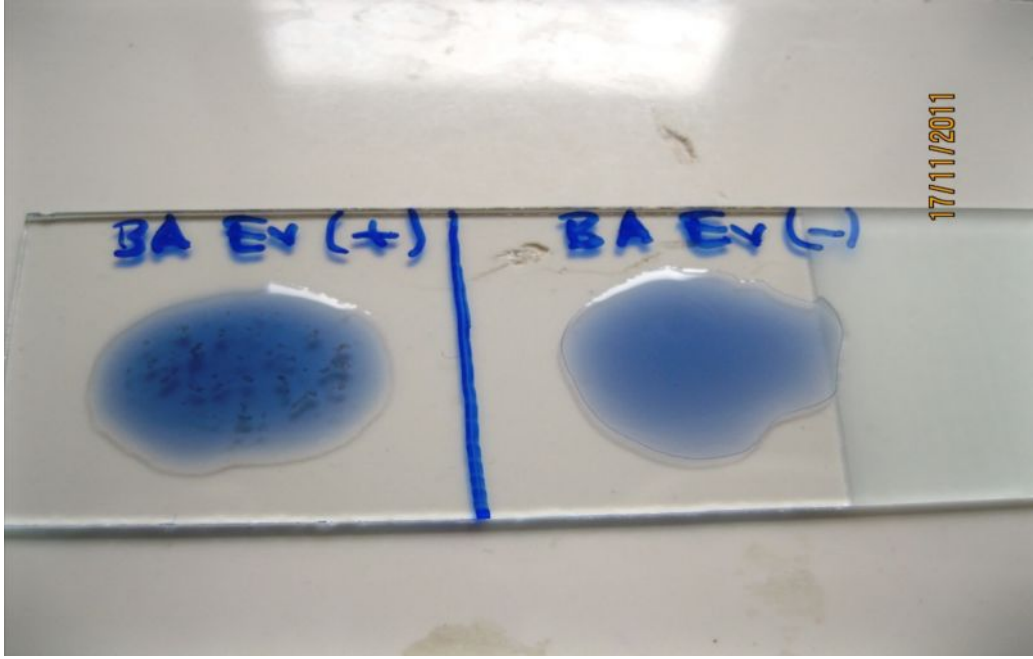
Suçların istatistiksel analizinde X_2 (Ki-kare) testi kullanıldı. Değerler tablolarda sayı ve yüzde şeklinde belirtildi.



Şekil 3.9 Serum Dekstroz Agarda (SDA) üremiş *Brucella spp.* kolonileri



Şekil 3.10 Monovalan aglütinasyon serumları



Şekil 3.11 Ev yapımı kefirde *Brucella abortus* varlığı ve yokluğu



Şekil 3.12 Ev yapımı kefirde *Brucella melitensis* varlığı ve yokluğu

4. BULGULAR

4.1 Süt ve Süt Ürünlerinde Yapılan ELISA Testi Sonuçları

4.1.1 Süt Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları

Sivas il merkezi ve çevre köylerinden temin edilen toplam 150 adet çiğ süt örneği, Tokat il merkezi sokak sütçüleri ile Tokat'ın Reşadiye ve Pazar ilçelerinden temin edilen toplam 100 adet çiğ süt örneği ELISA yöntemi ile *Brucella* IgG Pozitifliği yönünden incelenmiştir.

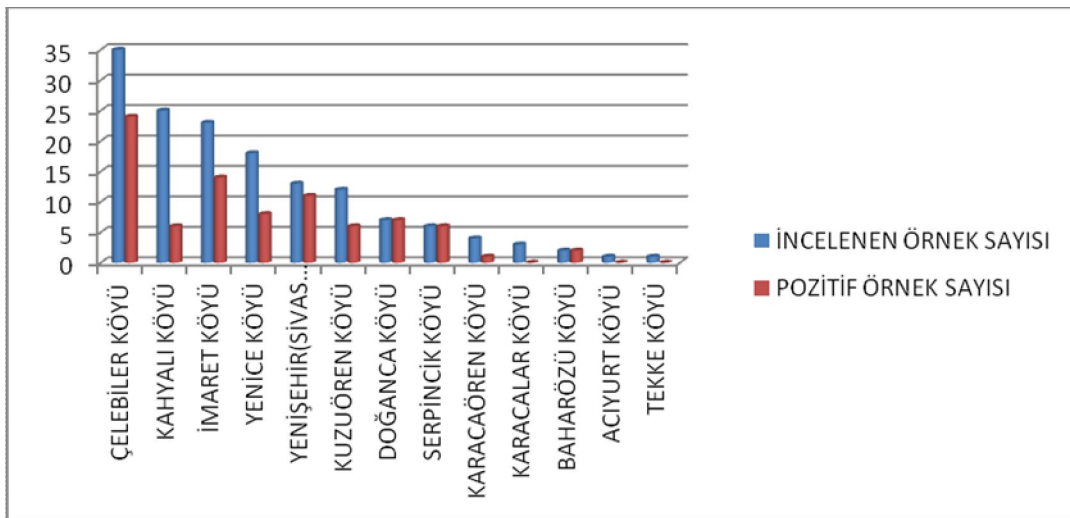
Toplam 250 adet çiğ süt örneğinin 117 (% 46.8) tanesi *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. Sivas il merkezi ve çevre köylerinden alınan 150 adet çiğ süt örneğinin 85 (% 56.6) tanesi *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunurken, Tokat il merkezi sokak sütçüleri ile Tokat'ın Reşadiye ve Pazar ilçelerinden temin edilen toplam 100 adet çiğ süt örneğinin 32 (% 32) tanesi *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde Sivas'ta bulunan IgG pozitiflik oranı Tokat ile kıyaslandığında daha yüksektir. Bu iller arasındaki fark anlamlıdır ($p=0.000$) ($p<0.005$)

Çizelge 4.1 Toplanan çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden değerlendirilmesi

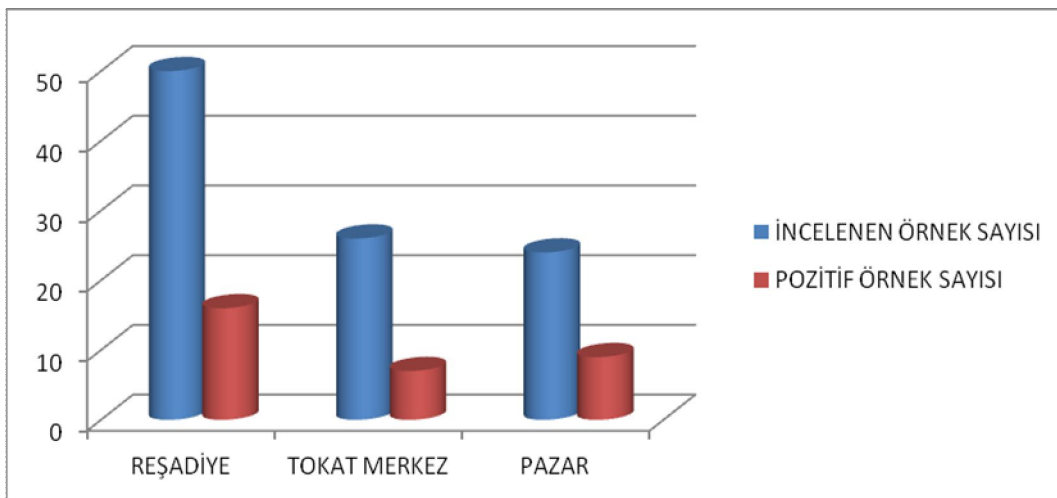
Sivas Merkez ve Köyleri	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	%
Çelebiler Köyü	35	24	68.5
Kahyali Köyü	25	6	24.0
İmaret Köyü	23	14	60.8
Yenice Köyü	18	8	44.4
Sivas Merkez	13	11	84.6
Kuzuören Köyü	12	6	50.0
Doğanca Köyü	7	7	100.0
Serpincik Köyü	6	6	100.0
Karacaören Köyü	4	1	25.0
Karacalar Köyü	3	0	—
Baharözü Köyü	2	2	100.0
Aciyurt Köyü	1	0	—
Tekke Köyü	1	0	—
Reşadiye	50	16	32
Tokat Merkez	26	7	26.9
Pazar	24	9	37.5
Toplam	250	117	46.8

Çizelge 4.2 İncelenen çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden değerlendirilmesi

Alındığı Yer	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	%
Sivas Merkez ve Köyleri	150	85	56.6
Tokat Merkez ve İlçeleri	100	32	32.0



Şekil 4.1 Sivas merkez ve çevre köylerinden alınan çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden dağılımı



Şekil 4.2 Tokat merkez ve ilçelerinden alınan çiğ süt örneklerinin IgG pozitifliği yönünden dağılımı

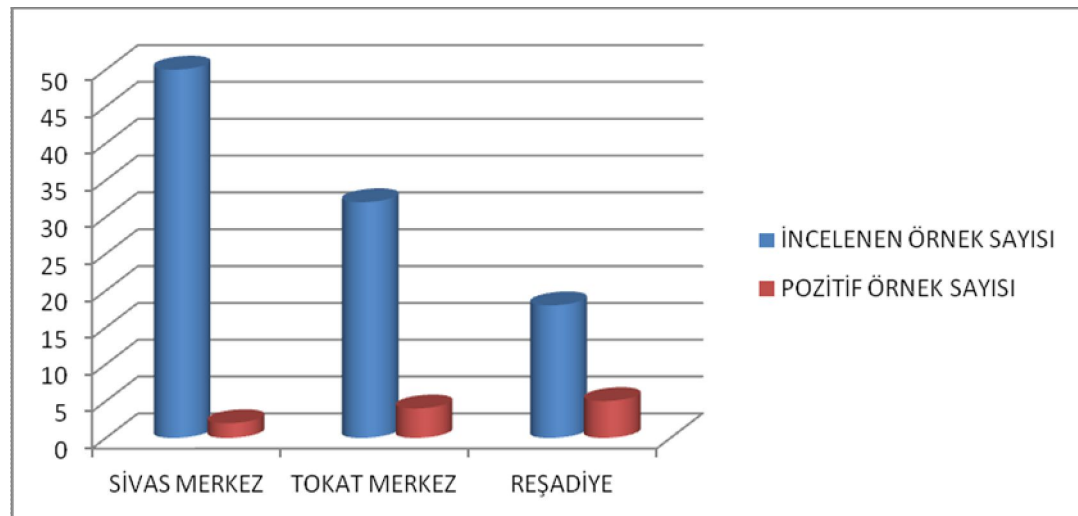
4.1.2 Peynir Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları

Bu çalışmada; kullanılan beyaz peynir örneklerinin 50 tanesi Sivas il merkezinde bulunan şarküteri, market ve pazarlarda satışa sunulan beyaz peynirlerden, 32 tanesi Tokat il merkezinde bulunan mandıra, market ve pazarlarda satılan beyaz peynirlerden ve 18 tanesi de çalışılan örnek çeşitliliğini artırmak için Tokat'ın Reşadiye ilçesinden toplanmıştır.

100 adet beyaz peynir örneğinin 11 tanesi (%11) *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. Sivas il merkezinde toplanan 50 adet beyaz peynirler örneğinin 2 (% 4) tanesi, Tokat il merkezinde toplanan 32 adet beyaz peynir örneğinin 4 (% 12.5) tanesi, Reşadiye ilçesinden toplanan 18 adet beyaz peynir örneğinin 5 (% 27.7) tanesi *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde Tokat ve Reşadiye'den alınan peynir örneklerinde IgG pozitifliği Sivas'a kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar arasındaki fark anlamlıdır (p=0.002).

Çizelge 4.3 İncelenen beyaz peynir örneklerinin IgG pozitifliği yönünden değerlendirilmesi

Alındığı Yer	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	%
Sivas Merkez	50	2	4.0
Tokat Merkez	32	4	12.5
Reşadiye	18	5	27.7
Toplam	100	11	11.0



Şekil 4.3 İncelenen beyaz peynir örneklerinin IgG pozitifliği yönünden dağılımı

4.1.3 Yoğurt Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları

Çalışmada kullanılmak üzere temin edilen toplam 50 adet yoğurt örneğinin 25 tanesi Tokat'ın Reşadiye ve Pazar ilçelerinden, 25 tanesi ise Sivas il merkezi ve çevre köylerinden (çiğ süt temin edilen yerlerden) toplanmıştır ve ELISA yöntemiyle *Brucella* IgG pozitifliği yönünden incelenmiştir.

Buna göre 50 adet örneğin hiçbirinde *Brucella* IgG antikorları yönünden pozitiflik saptanmamıştır.

4.1.4 Tereyağ Örnekleriyle Yapılan ELISA Testi Sonuçları

Çalışmada kullanılan 50 adet tereyağ örneğinin 25 tanesi Sivas ve geri kalan 25 tanesi ise Tokat il merkezinde bulunan market ve pazarlardan temin edilmiş ve ELISA yöntemiyle *Brucella* IgG pozitifliği yönünden incelenmiştir.

Buna göre 50 adet tereyağ örneğin hiçbirinde *Brucella* IgG antikorları yönünden pozitiflik saptanamamıştır.

4.2 *B.melitensis* ve *B.abortus* Bakterilerinin Farklı Kefir Örneklerinde Yaşam Sürelerinin Tespiti İçin Yapılan Çalışma Sonuçları

Araştırmada pastörize sütlerden hazırlanan 3 farklı kefir türüne ait toplam 114 kefir örneğiyle çalışılmıştır. Bu kefir örneklerinden 6'sı kontrol amaçlı kefir, 108 tanesi inkübasyon öncesinde *Brucella spp.* inoküle edilen kefir örnekleridir.

Bu bakterilerden 3 farklı seri olarak $0,9 \times 10^7$, $1,2 \times 10^7$ ve $1,5 \times 10^7$ bakteri yoğunlukları ile 24-48-72 ve 240. saatlerde SDA' a ekim yapılmıştır (Şekil 3.9). İnkübasyon sonrası SDA' da üreyen tüm bakteriler çalışılmıştır. Gram boyamada *Brucella spp.* için uyumlu olduğu düşünülen kolonilerden monovalan aglütinasyon (Şekil 3.10) yöntemiyle *B.abortus* (RSKK 279) ve *B.mellitensis* (RSKK 310) test edilmiştir. Yaptığımız bu çalışma sonucunda; *B. abortus* (RSKK 279) ve *B. mellitensis* (RSKK 310) bakterileri marketlerde satışa sunulan A ve B marka kefirlerde, $0,9 \times 10^7$, $1,2 \times 10^7$ ve $1,5 \times 10^7$ oranlarındaki bakteri yoğunluklarında 24, 48, 72. saatlerde üreyebilmekte, 240 saat sonunda üreyememektedir. Ev yapımı kefir içersinde ise bu üç bakteri yoğunluklarında ilk

0-24 saat aralığında canlılığını sürdürürken, 24 saatten itibaren üreyememektedir (Şekil 3.11,12). Sonuçlar Çizelge 4.4'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Farklı kefir örneklerinde farklı yoğunluklarda inoküle edilen *Brucella abortus* ve *Brucella melitensis* türlerinin canlı kalma süreleri

Patojenler	Kefir Türleri	Bakteri Yoğunluğu	24. saat		48. saat		72. saat		240. saat	
			Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
<i>B. abortus</i>	A Markası	0,9x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,2x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,5x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
	B Markası	0,9x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,2x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,5x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
	Ev Tipi	0,9x10 ⁷	6	0	0	6	0	6	0	6
		1,2x10 ⁷	6	0	0	6	0	6	0	6
		1,5x10 ⁷	6	0	0	6	0	6	0	6
	Kontrol Grubu	—	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. melitensis</i>	A Markası	0,9x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,2x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,5x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
	B Markası	0,9x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,2x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
		1,5x10 ⁷	6	0	6	0	6	0	0	6
	Ev Tipi	0,9x10 ⁷	6	0	0	6	0	6	0	6
		1,2x10 ⁷	6	0	0	6	0	6	0	6
		1,5x10 ⁷	6	0	0	6	0	6	0	6
	Kontrol Grubu	—	0	0	0	0	0	0	0	0

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hayvanlardan insanlara bulaşan zoonoz hastalıkların önemli bir bölümünü oluşturan bruselloz dünyanın büyük bir kesiminde bin yılı aşkın süredir önemli bir sağlık problemidir (3).

Dünyada ve ülkemizde bruselloz için temel bulaş kaynağı pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin (taze peynir, krema, tereyağ vs.) tüketimidir. Gelişmekte olan ülkelerde ve ülkemizde oldukça fazla miktarda üretilen süt ürünlerinin büyük çoğunluğu hijyenik olmayan şartlarda, ilkel yöntemlerle çiğ süttten üretilmekte ve bu da hastalığın halen ciddi bir sağlık sorunu olma özelliğini koruduğunu göstermektedir. Anadolu'da bruselloz olgularının incelendiği araştırmalarda, birçok bölgede halkın hastalığı ve bulaş yollarını bilmelerine karşın yeterince veya hiç kaynatmadan hazırladıkları süt ürünlerini tükettikleri ve bu durumun önlenemediği görülmüştür (35,68).

Koşar ve ark., (2001), 280 bruselloz olgusunu değerlendirdikleri bir çalışmada hastaların %40'ının, brusellozun pişmemiş süttten ve süt ürünlerinden bulaştığını bilmelerine karşın, pişmiş süttten yapılan tereyağı ve peynirin gerek yapımının zor ve zaman alıcı olması gerekse damak zevklerine uygun olmaması nedeniyle bu alışkanlıklarını bırakmadıklarını, üretime ve tüketime devam ettiklerini söylediklerini belirtmiştir. Türkiye'de sindirim yoluyla oluşmuş bruselloz oranı diğer ülkelere göre daha yüksektir. Ülkemizde süt ve süt ürünlerinin kullanımını araştıran bir çalışmada, peynir yapımında %70 çiğ süttten yararlanıldığı belirlenmiştir (45,81).

Süt insanlara yararlı olduğu kadar mikroorganizmaların gelişmesi için ideal bir kültür ortam olma özelliğiyle hastalıklara yakalanmada ciddi bir rezervuar olarak karşımıza çıkmaktadır. Küçük aile işletmelerinde geleneksel yöntemlerle ve kontrolsüz olarak çiğ süttten üretilen peynirlerin, sütler ya sağılır sağılmaz ya da mayalanma sıcaklığı olan 32-34 dereceye kadar ısıtıldıktan (kaynatma işleminin yetersiz yapılması) sonra mayalandıkları ve hayvanda bulunan, dolayısıyla da sütte varlığını koruyan bruselloz etkenlerinin taze peynir aracılığıyla tüketiciye bulaştığı bilinmektedir (26).

Hastalığa yakalanma oranı, çiğ süttten yapılan krema ve tereyağların yenilmesi halinde de oldukça yüksektir. Çünkü özellikle krema yapımında uygulanan santrifüj yönteminde *Brucella*'lar süt yağında yaygın biçimde toplanmakta, etkenin miktarı 10-15 kat artmaktadır. Bu nedenle tereyağlarının daha yüksek oranda *Brucella* içermesi olasıdır. Buna karşın yağsız sütte bulaşma olasılığı daha azdır (82).

Bu şekilde çiğ sütte imal edilen peynir ve tereyağlarında hem tüketici sağlığını hem de ürünlerin kalitesini olumsuz yönde etkileyen patojen ve diğer arzu edilmeyen mikroorganizmaların bulunma olasılığı yüksektir. Bu mikroorganizmaların sayıları ve çeşitleri; ürünün pH değeri, rutubet oranı ve olgunluk süresi (peynir için) gibi özelliklere bağlı olarak farklılık göstermektedir. Peynirde olgunlaşmanın ilk günlerinde genel mikroorganizma sayısının yüksek olduğu ancak olgunlaşma süresi arttıkça zamana bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Pastörize edilmemiş koyun ve keçi sütlerinden yapılan yumuşak peynirlerde *Brucella*'nın varlığı, 1995 yılında Avrupa Veteriner Danışmanlar Komitesi ile yapılan görüşmeler de dikkate alınarak tartışılmış ve 60 günlük peynir olgunlaşma süresinin tüketicileri tehdit eden potansiyel brusellozun eliminasyonu için yeterli olabileceği sonucuna varılmıştır (26,68).

Abdelkareem (2008), Trakya Yöresinde ilçe ve köy işletmelerinde yetiştirilen 75 ineğe ait süt örneklerini *Brucella* varlığı yönünden araştırmıştır. Bakteriyolojik çalışmalar sonucunda 75 adet örneğin 3 tanesinde (%4) *Brucella spp.* izole edilirken, PZR incelemelerinde ise toplam 17 (%22,66) örnekte *Brucella* spesifik DNA saptanmıştır (17).

Aydın (2007), Mersin ilinde süt ve süt ürünlerinde PZR ve kültür yöntemiyle *Brucella* cinsi bakterileri araştırmış, toplam 457 süt örneğinin 1'inde (%0,22) hem kültür hem de PZR yöntemiyle *B.melitensis* biyotip 1 izole etmiştir. 105 dondurma örneğinin 1'inde (%0,95) kültür yöntemiyle *B.melitensis* biyotip 3 izole edilirken, PZR işlemiyle *Brucella* DNA'sı saptanmamıştır. Peynir örneklerinden kültür işlemiyle *Brucella spp* izole edilmemiştir (68).

Terzi (2006), Samsun merkez ve köylerinden temin edilen 50 adet inek sütü ve 50 adet keçi sütü olmak üzere toplam 100 adet süt örneğinde aglütinasyon testi (SAT) ve Milk Ring Test (MRT) ile *Brucella* antikorlarının varlığını araştırmış, yapılan Milk Ring Test (MRT) sonuçlarına göre inek sütü örneklerinin 10'u (%20), keçi sütü örneklerinin de 6'sı (%12) *Brucella* antikorları yönünden pozitif bulunurken, serum aglütinasyon testinde (SAT) saptanan antikor titrelerine göre inek sütü örneklerinin 4'ü pozitif (%8), 3'ü şüpheli (%6), 43'ü negatif (%86), keçi sütü örneklerinin ise 3'ü pozitif (%6), 2'si şüpheli (%4), 45'i de (%90) negatif olarak bulunmuştur (83).

Sümer ve ark., (2000) tarafından Sivas il merkezindeki lokanta çalışanları içinden basit rastgele örnekleme yöntemi ile seçilen 108 kişide *Brucella* seropozitifliği

araştırılmış, alınan serum örneklerinin incelenmesi sonucu 3(% 2.8) kişide seropozitiflik saptanmıştır (84).

Sümer ve Poyraz (2000), Sivas ili Eğerci Beldesi erişkin nüfusunda bruselloz seropozitifliğini ELISA yöntemi ile 182 kişiden 17'sinde (%9.3) saptamışlardır. Seropozitiflik oranı kadınlarda % 5.1, erkeklerde ise % 12.5 olarak bulunmuştur. En yüksek oranda seropozitiflik 20 yaş altı (% 16.7) ve 30-39 yaş (% 14.8) gruplarında bulunmuştur (85).

İlimizde Alim ve Hakgüdenler (1998), tarafından kasaplar ile süt ve peynir imalathanelerinde çalışan 148 kişide Wright aglütinasyon yöntemi ile araştırma yapılmış, kasaplarda % 11.3, süt ve peynir imalathanelerinde çalışanlarda % 7.1 oranında pozitiflik saptanmıştır (86).

Bianciflori ve ark., (1996), İtalya'da 48 süt örneği üzerinde yaptıkları bir araştırma sonucunda pozitiflik oranının %60 olduğunu, Thoen ve ark., (1995), Amerika Birleşik Devletler'inde 334 süt örneği üzerinde yaptıkları araştırmada pozitiflik oranının % 16 olduğunu kaydetmişlerdir (87,88).

ELISA yöntemi akut ve kronik bruselloz tanısında Ig sınıflarının profilini veren hızlı, yüksek derecede duyarlı, özgül, güvenilir, ucuz bir yöntemdir ve çeşitli alanlarda geniş kitlelerin taranmasında uygundur. Ancak ülkemizde, sütlerde ELISA ile *Brucella* tespitine yönelik araştırmaların sayısı azdır (19,28,43,59).

Taşkın (2007), tarafından Ankara ili merkez ve merkeze bağlı ilçelerde yapılan bir çalışmada 100 çiğ süt örneği ve 200 beyaz peynir örneği olmak üzere toplam 300 örnek ELISA yöntemiyle incelenmiştir. 100 adet çiğ süt örneğin 16 (%16)'sı *Brucella* antikorları yönünden pozitif bulunmuştur. 200 adet beyaz peynir örneğinin hiçbirisinde *Brucella* IgG antikorları saptanamamıştır (26).

Serttaş (2006), Isparta merkez ve merkeze bağlı ilçelerden 500 adet süt örneği üzerinde ELISA ve Milk Ring Testi (MRT) yöntemini kullanarak yapmış olduğu çalışmada, MRT testi ile 281 (%56,1), ELISA testi ile 36 (%17,2) pozitif sonuç elde etmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak ELISA testinin MRT testinden daha duyarlı ve daha doğru sonuçlar verdiğini görmüştür (21).

Rajaii ve ark., (2006) brusellozis teşhisinde STA ve ELISA testlerini karşılaştırmış ve ELISA'nın STA testine göre daha duyarlı ve teşhis için daha uygun bir test olduğunu bulmuşlardır (89).

Funk ve ark., (2005) yapmış oldukları çalışmada *B.melitensis*'e ait spesifik antikorların belirlenmesinde ELISA testinin Süt Ring Test'ine göre çok daha spesifik ve özgül olduğu sonucuna varmışlardır (90).

Vanzini ve ark., (1998), 2119 adet süt örneği ile 527 serum örneği üzerinde ELISA yöntemini kullanarak yapmış oldukları çalışmalarında aynı anda çok sayıda örnekle çalışma imkanı sağlayan bu testin, diğer metotlara göre yüksek bir özgüllüğe ve duyarlılığa sahip olduğunu ifade etmişlerdir (91).

Güllüce ve Leloğlu (1996), tarafından Kars merkez ve ilçelerine bağlı, 22 yerleşim biriminden, aşısız ve enfekte sürülerden 712 adet süt örneği toplanmış, ELISA ve MRT ile çalışılmıştır. *B.abortus*'a karşı oluşan antikorlar saptanmıştır. Süt örneklerinde ELISA ile 467 (% 65.59), MRT ile 401 (% 56.32) pozitif sonuç belirlenmiştir (92).

Görüldüğü gibi dünyada ve ülkemizde yapılan birçok araştırmada ELISA yöntemi diğer birçok serolojik yöntemle karşılaştırıldığında, çok daha duyarlı, özgül, güvenilir ve aynı zamanda, çok sayıda örneğin çalışılmasına imkan sağlayan bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle bizde süt ve süt ürünlerinde *Brucella* antikorlarının aranmasında ELISA yönteminin kullanılmasının daha uygun olacağı sonucuna vardık.

Adıgüzel ve ark., (2004) Erzurum ilinde ineklerde *B.abortus* seropidemiolojisini saptamak amacıyla yaptıkları bir çalışmada, Erzurum'a bağlı bazı köylerden toplanan 560 süt örneğini ELISA yöntemi ile çalışmış, 96 (%17)'sında *B.abortus* IgG açısından pozitif bulmuşlardır (93).

Türütoğlu ve ark., (2003) Burdur yöresinde inek ve koyun sütlerinde *Brucella* etkenleri ve bu etkenlere karşı oluşan antikorların varlığını ve enfeksiyonun bölgedeki durumunu belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, bölgeden toplanan 630 süt örneğinde *Brucella spp*'nin izole etmediklerini ve bruselloz oranının ineklerde %1, koyunlarda % 3,5 olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir (94).

Brezilya'da Langoni ve ark.'nın (2000) yaptığı bir çalışmada serolojik yöntemlerle pozitif olarak nitelendirilen ineklerden alınan süt örneklerine bakteriyolojik kültür işlemleri yapılmış, sonuç olarak 49 süt örneğinden 15'inin (%30.61) *B. abortus* açısından pozitif olduğu tespit edilmiştir (95).

Uraz ve Yücel (1999), çiğ süt örneklerinde Ring Testi ile *Brucella* varlığının araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada çeşitli yörelerden toplanan 211 çiğ süt örneğinin 32'sinde (% 15.16) Ring testi ile *Brucella* varlığı tespit etmişlerdir (96).

Çalışmamızda Sivas il merkezi ve çevre köyleri ile Tokat il merkezi ve ilçelerinde yaşayan sokak sütçülerinden temin edilen toplam 250 adet çiğ süt örneğinin 117 (% 46.8) tanesi *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. Sivas il merkezi ve çevre köylerinden alınan 150 adet çiğ süt örneğinin 85 (% 56.6) tanesinde *Brucella* antikorları görülürken, Tokat il merkezi sokak sütçüleri ile Tokat'ın Reşadiye ve Pazar ilçelerinden temin edilen toplam 100 adet çiğ süt örneğinin 32 (% 32) tanesi *Brucella* antikorları yönünden pozitif bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde bu iller arasındaki fark anlamlıdır ($p=0.000, p<0.05$). Sivas ilinden toplanan süt örneklerinde Tokat'a göre daha yüksek oranda *Brucella* IgG pozitifliğinin görülmesi, Sivas'ta örneklerin temin edildiği köylerde halkın hayvanlarının örnekleri toplamaya başladığımız dönemden kısa bir süre önce hastalık geçirmiş olması, buna bağlı olarak özellikle büyük baş hayvanlarda yavru atma olaylarındaki artışın bu sonuçta etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca Sivas'tan alınan örnek dağılımının daha çok köylere ait olması, köylerdeki hayvanların, şehirde yaşayanlara oranla daha yüksek bruselloz riski taşıyabileceği ve bu durumun sonuçları etkileyebileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamız, araştırma sonuçları ile ilgili olarak bölge halkının bilgilendirilmesi ve brusellozdan korunmada gerekli önlemleri almaları konusunda yönlendirilmiş olmaları bakımından değerlidir.

Çalışmamızda kullandığımız çiğ sütlerin yarısına yakınında (% 46,8) *Brucella* IgG görülmesinin nedenlerinden birinin örneklerin mart, nisan ve mayıs aylarında yani ilkbaharda toplanmış olması ve buna bağlı olarak bruselloz görülme sıklığının mevsimsel değişiminin bu sonuçta etkili olduğu düşünülmektedir. Bruselloz şikayetleri nisan, mayıs ayları gibi ilkbahar ve yazbaşı dönemlerinde başlamaktadır. Bunun nedeni ülkemizde döl mevsiminin ocak sonu, şubat başında olması, abortuslar nedeniyle çevrenin kontamine olma olasılığının artması ve ayrıca doğal olarak, taze peynir, tereyağ, kaymak gibi süt ürünlerinin en çok bulunduğu ve tüketildiği dönemin de ilkbahar olmasıdır.

Taşçı ve ark. (2009), Ankara'da tüketime sunulan mutfaklık tereyağ, krema ve krem şantili pastalarda *Brucella spp.* varlığını araştırmışlar, incelenen toplam 135 örneğin hiçbirinde *Brucella spp.* izole etmemişlerdir (97).

Sarısayın ve Eroğlu (1978), Marmara ve Trakya bölgelerinden temin ettikleri 103 krema (kaymak), 52 tereyağı, 53 dondurma ve 52 kremalı pasta olmak üzere toplam 260 örneğin kültür yöntemiyle incelemişler, ancak örneklerin hiçbirisinden *Brucella spp.* izole edememişlerdir (98).

Sabbaghian ve Nadim (1975), İran'da yaptıkları çalışmada Nadim, 146; Sabbaghian ise, 198 tereyağı örneğinde *Brucella spp.* saptayamadıklarını bildirmişlerdir (99).

Bizim çalışmamızda da kullandığımız 50 adet tereyağ örneğinin hiçbirinde *Brucella* IgG yönünden pozitiflik saptanamamıştır. Bu sonuç diğer araştırmalarla uygunluk göstermektedir. Neden olarak tereyağın infekte hayvanların sütlerinden hazırlanmamış olması, sütlerin kaynatılması, pastörize edilmesi veya yoğurdun yayıkılarak tereyağ elde edilmesi gibi sebepler düşünülmektedir. Ancak araştırdığımız tereyağ örneklerinde *Brucella* antikorlarının görülmemiş olması Türkiye'de bu etkenin tereyağlarında görülmeyeceği anlamı taşımaz. Bu sebeple tereyağ örneklerinin çiğ ve yetersiz ısı işlem görmüş sütlerden üretilebileceği dikkate alındığında etkenin izole edilebileceği olasılığı daima düşünülmeli ve yeterli ısı işlem görmemiş ürünlerin bruselloz yönünden sağlık riski taşıyacağı bilinmelidir.

Çalıştığımız 50 adet yoğurt örneğinin hiçbirinde *Brucella* IgG antikorları yönünden pozitiflik saptanamamıştır. Neden olarak yoğurdun üretim prosesinde sütün ısı işlemine tabi tutulması, *Brucella* IgG antikorlarının protein yapılarının ısı işlemle denatüre olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ataş (2005) Sivas il merkezinde satışa sunulan peynirlerden 135 adet taze beyaz peynir örneği üzerinde yaptığı çalışma sonucunda örneklerin 8'inde (% 5.9) *Brucella* bakterisi izole etmiştir (100).

Alim ve Tomul (2005), Sivas il merkezindeki semt pazarlarında satılan taze peynirlerde *Brucella* cinsi bakterilerin araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada 2003 yılında toplanan 42 örneğin 3'ünde (%7.1) ve 2004 yılında toplanan 47 örneğin 4'ünde (%8.5) *Brucella* cinsi bakterilerin ürediğini tespit etmişlerdir (101).

Buğdaycı (2003) tarafından Kayseri ilindeki ilçe ve semt pazarlarında satışa sunulan çiğ sütlerden yapılmış taze beyaz peynirlerden 100 adet örnek alınmış ve yapılan araştırmalar sonucunda örneklerin 13'ü (%13) *Brucella* yönünden pozitif bulunmuştur (102).

Kasımoğlu' nun (2002) yaptığı bir çalışmada, Kırıkkale'de 35 çiğ süt örneği, 35 keçi peyniri ve 35 inek peyniri örneğine bakteriyolojik kültür yapılmış ve 35 keçi peynirinin 5'inde (%14.2) *B.melitensis* izole edilmiştir. Çiğ süt ve inek peynirlerinde *Brucella spp.* saptanamamıştır (103).

Patır ve ark.'nın (2001), Elazığ'da tüketime sunulan taze beyaz peynir ve tulum peynirlerinde *Brucella* etkenini araştırdığı bir çalışmada, 30 beyaz peynir örneğinin 1 tanesinde (%3,33) ve 55 adet tulum peynirinin 1'inde (%1,18) olmak üzere toplam 2 örnekte (%2,35) *Brucella spp.*'ye rastlanmıştır (104).

Kalender ve ark., (2001) Elazığ, Tunceli ve Erzincan illerinden toplanan 78 taze tulum peyniri örneğinin 16'sından (%20.5) *Brucella* izole etmişlerdir (44).

Acedo ve ark., (1997) Meksika'da 289 adet çiğ süt ve 335 adet Meksika beyaz peynirinde *Brucella* bakterilerinin varlığını araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda çiğ süt örneklerinin 7'sinde ve peynir örneklerinin 25'inde *Brucella spp* izole ettiklerini bildirmişlerdir (105).

Yıldırıcı (1993) tarafından İstanbul ilinde 50 değişik tulum peyniri örneği üzerinde yapılan araştırmada *Brucella* bakterilerinin varlığı araştırılmış ve incelenen örneklerde *Brucella* bakterileri saptanamamıştır. Bu çalışmada ayrıca pastörize edilmemiş çiğ sütlerden kontamine edilerek üretilen tulum peyniri örnekleri + 4 °C'de 90 günlük dönem boyunca olgunlaşmaya bırakılmış ve *B.mellitensis* suşlarının olgunlaşmanın 30. gününden itibaren ortamdan kaybolduğu tespit edilmiştir (106).

Tunçbilek (1992) Ankara'da kurulan semt pazarlarında satılan 66 ve Ankara'nın değişik semtlerindeki marketlerde satılan 34 adet beyaz peynir örneğini *Brucella*'ların varlığı yönünden incelemiş, semt pazarlarından aldığı 66 örneğin 4'ünden *Brucella* bakterilerini izole ederken (% 6.06), marketlerde satılan, imal tarihi ile orijini bilinmeyen peynirlerden alınan 34 peynir örneğinden *Brucella* izolasyonu gerçekleştiremediğini bildirmiştir. Ayrıca *Brucella* bakterilerinin izole edildiği peynir örneklerinin hepsinin çiğ süttten yapılmış peynirler olduğu da araştırmacı tarafından bildirilmektedir (107).

Çalışmamızda Sivas ve Tokat il merkezinde bulunan şarküteri, market ve pazarlarda satışa sunulan peynirlerden toplanan 100 adet beyaz peynir örneğinin 11 tanesi (%11) *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. Sivas il merkezinde toplanan 50 adet beyaz peynir örneğinin 2 tanesi (% 4), Tokat il merkezinde toplanan 32 adet beyaz peynir örneğinin 4 tanesi (% 12.5), Reşadiye ilçesinden toplanan 18 adet beyaz

peynir örneğinin 5 tanesi (% 27.7) *Brucella* IgG yönünden pozitif bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde bu iller arasındaki fark anlamlıdır ($p=0.02$, $p<0.05$). Tokat ilinden temin edilen peynir örneklerinde Sivas'a kıyasla *Brucella* IgG bakımından daha yüksek oranda pozitiflik görülmesinin nedeni, peynirlerin özellikle il merkezinde kurulan pazarlardan, çevre köylerden satılmak üzere şehir merkezine getirilen peynirlerden ve Reşadiye ilçesinden alınmış olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Semt pazarlarında açıkta satışa sunulan peynirlerden özellikle taze peynirlerin bruselloz hastalığındaki rolü açıktır. Kaynatma ve pastörizasyon gibi işlemlerden geçirilmiş sütlerden peynir yapımının zor ve zaman alıcı olması, kaynama sonrası elde edilecek olan peynir miktarında ve lezzetinde azalma olacağı düşüncesi, kaynatma için gerekli olan yakıt maliyetinin yüksek oluşu gibi nedenlerle sütler ısıtma işlemine tabi tutulmadan mayalanmaktadır. Sivas'tan alınan peynirlerin büyük bir kısmı market ve şarküterilerden temin edilmiştir. Bu gibi yerlerde satılan peynirler çok farklı markalarla satışa sunulmaktadır. Bu firmalar üretim süreçlerinde belirli ölçütlere uymak ve özellikle sütlerin pastörizasyonu konusunda gerekli şartları yerine getirmek zorundadır. Bunun sonucu olarak her ne kadar çiğ sütlerdeki *Brucella* IgG pozitifliği Sivas'ta anlamlı derecede yüksekse de kalite standartlarına uygun olarak üretilmiş peynirler daha sağlıklı bir şekilde tüketiciye ulaşmaktadır.

Gıda ürünlerindeki bulaşın araştırıldığı çalışmalarda ya doğrudan antijenik yapılar ya da antikorlar aranmaktadır. Gıdalarda *Brucella* IgG pozitifliği *Brucella spp* varlığı veya yokluğu hakkında kesin bilgi vermemekte; ancak hayvanın *Brucella* ile karşılaşmış olduğunu göstermektedir. *Brucella* etkeninin gösterilmesinde kültür yöntemleri daha belirleyicidir. Bu nedenle gıdalarda *Brucella* IgG pozitifliği bulaş tam anlamıyla göstermese de hastalığın yaygınlığı konusunda yeterli bilgi edinmemizi sağlamaktadır.

Türkiye'de ilk kez 1931 yılında kültür ırkı hayvanların ithaliyle sorun olmaya başlayan sığırlardaki *B.abortus* enfeksiyonu, ülkemiz için hala önemli hayvan hastalıklarından birisi olarak varlığını sürdürmektedir. Bu nedenle çeşitli ülkelerden ithal edilecek canlı hayvanların seçilmesinde özellikle aşılama durumları ve yapılacak serolojik ve izolasyon çalışmaları ile negatif olduklarının saptanması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, sığır işletmelerinde *Brucella* enfeksiyonu varlığının periyodik olarak kontrol edilmesi, özellikle halk sağlığının korunması açısından da büyük önem taşımaktadır. Nitekim 1984 yılında bruselloz kontrolü ve eradikasyonu programı

başlatılmış ve bu proje kapsamında 2010 yılına kadar 4-8 aylık bütün dişi buzağuların *B.abortus* S 19 ile, koyun ve kuzuların ise *B.melitensis* REV I ile aşılması hedeflenmiştir. Projenin uygulanmaya geçirilmesini takip eden 1989 yılında sığır ve koyun bruselloz sero-prevalansı sırasıyla %3,56 ve %1,26 iken bu oranlar 1991 yılında %1,01 ve %1,83 olarak değişmiştir. Ancak projenin yürütüldüğü yıllarda insan bruselloz olgularında bir artış kaydedildiği görülmüştür. 1986'da 100.000'de 3,03 olan insan bruselloz sıklığı, 1996'da 100.000'de 15,11'e yükselmiştir. Araştırmacılar, bu durumun enfeksiyona yakalanma olgularındaki artıştan ziyade, tarama çalışmalarının kalitesinin ve doğru teşhis sayısının artmasına bağlı olduğunu belirtmektedir. Çalışmalar ister hayvanlar üzerinde, isterse gıdalar üzerinde yapılmış olsun, araştırmalardan elde edilen bulguların doğrudan karşılaştırılması, ancak araştırmaların yapıldığı ülkelerdeki tarama sayıları ve kaliteleri dikkate alındığında bir anlam ifade edecektir. Dolayısıyla, yapılması gereken en doğru şey, ülkemizdeki bu çeşit çalışmaların sayı ve kalitesini arttırmaktır (21,51,108).

Çalışmamızda ikinci araştırma olarak, günümüzde halen önemli bir patojen olma özelliğini koruyan *B.melitensis* ve *B.abortus* bakterilerinin, probiyotik niteliklere sahip ve doğal olarak yararlı mikroorganizmaları barındıran oldukça değerli fermente bir süt ürünü olan kefirde yaşam süreleri tespit edilmiştir. Bu amaçla üç farklı kefir örneği kullanılmıştır. Birisi halk arasında elden ele dağıtılan kefir danelerinden üretilen ev yapımı kefir, diğer ikisi marketlerde satışa sunulan iki farklı markaya ait kefirlerdir. *B.melitensis* ve *B.abortus* inokule edilen kefir örnekleri 10 gün boyunca izlenmiş ve yaşam süreleri tespit edilmiştir. Patojenler ev usulü yapılan kefirde sadece 24 saat yaşamlarını sürdürürken, marketlerden temin edilen kefirlerde 10 gün süreyle yaşamış ve bu süre sonunda yaşam belirtisi görülmemiştir. Yaşama süreleri bakımından iki bakteri türü arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

Ev yapımı kefirde mikroflorayı baskın olarak *Candida spp.* oluştururken, diğer kefirlerde laktik asit bakterilerinin baskın olduğu görülmüştür. Bilindiği gibi kefir mikroflorasında yer alan mayalar ve laktik asit bakterileri antimikrobiyal etkiye sahiptir. Ev yapımı kefir ile diğer farklı iki markaya ait kefirlerde patojenlerin yaşama sürelerindeki farklılığın laktik asit bakterileri ve *Candida spp.* tarafından oluşturulan metabolik ürünlerdeki farklılığa bağlı olabileceği düşünülmektedir. Oluşturulan metabolik ürünlerin *Brucella spp*'nin gelişimi üzerindeki antimikrobiyal etkisi dışında, ortamda gelişen diğer mikroorganizmaların da *Brucella* bakterilerinin üremesini

baskılaması ve ortamda azalan besin elementleri açısından rekabetin de bu sonuçta etkili olabileceği düşünülmektedir.

Kefir mikroflorasında mayalar, laktik asit bakterileri ve asetik asit bakterileri bulunmaktadır. Kefirde, laktik asit fermentasyonları ve alkol fermentasyonları birlikte gerçekleşir. Laktik asit bakterileri laktik asit üretirken mayalar alkol ve karbondioksit üretir. Üretilen bu metabolizma ürünleri ortamın pH'sını düşürerek insanlarda hastalık yapan ve gıdalarda bozulmalara neden olan birçok patojen mikroorganizmanın üremesini inhibe etmektedir (73,74).

Ito ve ark. (2003) yapmış oldukları çalışmada *Lactobacillus lactis subsp. lactis*'in H₂O₂ oluşumuyla *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria* türleri üzerinde inhibitör etkili olduğunu belirtmiş olup aynı zamanda pH'ın da belirtilen türlerin gelişiminde olumsuz yönde rol oynadığını tespit etmişlerdir (109).

Corderio ve ark., (2002), Portekiz'de yapmış oldukları çalışmada *Lactobacillus plantorum*'un pH 2-8 arasında *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus*, *E. coli*, *Salmonella* üzerinde bakterisidal etki gösterdiğini belirtmişlerdir (110).

Marquina ve ark., (2002) yapmış oldukları bir çalışmada farelerin intestinal mikroflorasında bulunan laktik asit bakterileri ve mayaların Enterobacteriaceae familyasının mikrobiyal popülasyonunda azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (111).

Etöz (2006), kefirdeki laktik asit bakterileri ve mayaların patojen mikroorganizmalar üzerindeki etkisini araştırdığı bir çalışmada *Candida spp.*'nin antimikrobiyal etkisinin diğer laktik asit bakterilere oranla daha etkin olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışma bizim sonuçlarımızla uygunluk göstermektedir. Bizim araştırmamızda da *Candida spp.*'nin *Brucella spp.* üzerinde diğer laktik asit bakterilere oranla daha kuvvetli bir antimikrobiyal etki gösterebileceği düşünülmektedir(74).

Sonuç olarak önemli zoonozlardan biri olan brusellozun Türkiye' de duyarlı hayvanlar arasında ve insanlarda oldukça yaygın görülmesi nedeniyle kontrol ve eradikasyonu ile ilgili programların aksatılmadan ve dikkatlice yürütülmesi, bölgesel hastalık oranlarının belirlenmesi açısından benzeri çalışmaların belirli zaman aralıkları ile tekrar edilmesi gerekmektedir.

Özellikle kırsal kesimde yaşayan halkın bilinçlendirilmesi, tüketilen süt ve süt ürünlerinin kaynatılarak veya pastörize edilerek hazırlanması sağlanmalıdır. Bilhassa

köylerde çiğ süttten üretilen peynirlerin en az 3 ay süreyle salamurada bekletilmesi, ya da kaşar peynirine işlenmesi ile de etkenin bertaraf edilmesi mümkündür. Ayrıca çiğ etlerin kesinlikle tüketilmemesi ve sakatatların iyice pişirilerek tüketilmesi önerilmektedir.

Risk altındaki meslek gruplarının (mezbaha işçileri, et paketleyicileri, veterinerler, hayvancılıkla uğraşanlar, laboratuvar çalışanları v.b.) eldiven ve tüm kollarını örten giysiler giymeleri, gözlük ve maske takmaları alınacak önlemlerdir. Laboratuvar kaynaklı brusellozdan korunmak için ise *Brucella* ile ilgili işlemler bakteriyolojik emniyet kabiniinde yapılmalıdır. En yaygın şekilde kullanılan dezenfektanların normal koşullarda önerilen konsantrasyonlarındaki sulu çözeltileri *Brucella spp.*'lerini öldürmek için yeterlidir (%0.1 süblime, %2 formalin ve %1 lizol). Seyreltilmiş hipoklorit çözeltileri, etil alkol, isopropanol, iyodoforlar ve tercihen fenol bileşikleri cilt dekontaminasyonunda oldukça yararlıdır. Özellikle yüzeylerde ısı uygulaması ile dekontaminasyon gerçekleştirilmelidir (112).

Bruselloz olgularının mutlaka Sağlık Bakanlığı'na ihbarı yapılarak, o bölgenin bruselloz yönünden geniş incelenmesi sağlanmalı ve bruselloz tanısı alan kişilerin aile bireyleri taranmalı, gerekirse tedavi önlemleri alınmalıdır.

Çalıştığımız diğer bir araştırma konusu olan kefirin, hayvan çalışmalarında antimutajenik, antioksidant, antimikrobiyal gibi birçok önemli özelliği gösterilmiş olsa da, insan sağlığı üzerine yararlı etkilerini gösteren literatür çalışmaları oldukça azdır. Kefir ve benzeri probiyotik ürünlerinin kullanımının özendirildiği günümüzde bu konuda yapılacak klinik çalışmaların arttırılması ve bu tür ürünleri kimlerin kullanmasının doğru olacağı, varsa yan etkilerinin ortaya koyulması gereklidir.

6. KAYNAKLAR

- [1] Alton, G. G., Jones, L. M., Angus, R. D. ve Verger, J. M. (1998). Techniques for the Brucellosis laboratory, INRA, Paris, 383-422.
- [2] Bilgehan, H. (1992). Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir, 203-207.
- [3] Bilgehan, H. (2004). *Brucella*. Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 10.baskı, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 157-168 .
- [4] Corbel, M. J. (1997). Brucellosis: an overview. 1st International Conference on Emerging Zoonose. Emerg. Infect. Dis., PubMed, Jerusalem, Israel, 3:213-21.
- [5] Anonim, (2010). Brusellozis. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. (<http://www.tarim.gov.tr>).
- [6] Büyük, F., Şahin, M. (2011). Kars Yöresinde atık yapan ineklerin çeşitli örneklerinde *Brucella* etkenlerinin kültürel ve moleküler yöntemlerle araştırılması ve olguların epidemiyolojik analizi, Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 17(5): 809-816.
- [7] Güllüce, M., Adıgüzel, A. ve Algur, Ö.F. (2003). Erzurum Bölgesinde Temin Edilen Çeşitli Peynir Örneklerinde *Brucella* Antijenlerinin ELISA ile Saptanması, Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg., Erzurum. 33: 356-360.
- [8] Heck, F.C., Williams, J.O., Pruett, J., Sanders, R. ve Zink, D.L. (1980). Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detectory Antibodies to *Brucella abortus* in Bovine Milk and Serum, Am. J. Vet. Res., 41 (12), 2082-2084.
- [9] Funk, N.D., Tabatabai, L.B., Elzer, P. H., Hagius S. D., Martin B. M. ve Hoffman L. J. (2005). Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Brucella melitensis* Specific Antibodies in Goat Milk, Journal Of Clinical Microbiology, Feb., 721-725.
- [10] Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M., Leloğlu, N., Kahraman, M., Ilgaz, A. ve Diker, K.S. (1997). Özel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi No: 26, Ankara, 110-124.
- [11] Eduardo, G. ve Carlos, C. (1998). *Brucella*. In: Sherwood, L., Gorbach, M.D, John, G., Barlett, M.D, Neil, R. ve Blackow, M.D. (Ed), *Infectious Diseases* Second Edition, Philephia: Wb Saunders Company, 1837-1845
- [12] Davis, R., Bickett-Weddle, D., Holzbauer, S. ve Gladon J. (2004). "Brucellosis". Iowa State University Centre for Food Security And Public Health. Erişim: <https://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/ppt/Brucellosis.ppt>.
- [13] Corbel, M. J. (1997). Brucellosis; an overview. Emerg. Infect. Dis., 3(2), 1-15.

- [14] Güllüce, M. (1993). “Kars ve Çevresinde, Sığırlarda *Brucella abortus*'a Karşı Oluşan Antikorların ELISA ve Diğer Serolojik Yöntemlerle (RBPT, SAT, MRT) Saptanması ve Sonuçların Karşılaştırılması.” Doktora tezi, K.Ü. Sağ. Bil. Ens., Kars.
- [15] Çevik, M.A. (2001) Bruselloz Epidemiyolojisi, Ankem Derg. 15(3): 568-570.
- [16] Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, T.T. ve Williams, S.T. (1994). Bergey's manuel of determinative bacteriology. 9th. Edi. Baltimore, USA., 547-557.
- [17] Abdelkareem, A. A. (2008). “Trakya Yöresinde Yetiştirilen Sığırların Sütlerinden *Brucella* Türlerinin Varlığını Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırılmalı Olarak Araştırılması” Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, İstanbul.
- [18] Gazapo, E. (1989). Changes in IgM and IgG Antibody Concentrations in Brucellosis Over Time: Importance for Diagnosis and Follow-Up, The Journal of Infectious Diseases, 159: 219-225.
- [19] Altay, G. (2008). Kültür Pozitif 70 Bruselloz Hastasının Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Değerlendirilmesi & Antibiyotik Duyarlılıklarının E-Test Yöntemi ile İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- [20] Shafferman, A., Ordentlich, A. ve Velan, B. (2010). The Challenge of Highly Pathogenic Microorganisms, Mechanisms of Virulence and Novel Medical Countermeasures, Chapter 14, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 135-143.
- [21] Serttaş, B. (2006). Isparta İl ve İlçelerinde Çiğ Sütlerde *Brucella abortus*'a Karşı Oluşturulan Antikorların ELISA ve RİNG Testleri ile Araştırılması, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- [22] M. J. Pickett, M.J ve J. G. Calderone, J.G (1963). Criteria for Identification of *Brucella* Species, Am J Public Health Nations Health. California, 53(4): 655–656.
- [23] Shapiro, D., S ve Wong, J., D. (1999). *Brucella*. Murrey, P. R, Baron E. P., Faller, M. A., Tenover, F. C, Yolken, R., H., (Ed). Manual of Clinical Microbiology, 7. Edition, American Society for Microbiology, 625-629.
- [24] Badur, S. (1990). Bruselloz'da Serolojik Tani ve Seroepidemiyoloji. KlimikDerg. 3(1):17-20.
- [25] Taşçı, F. (2004). Gıda Kaynaklı Bruselloz ve Önemi, Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med., 1-2-3: 137-142.
- [26] Taşkın, N. (2007). Ankara İlinde Tüketime Sunulan Sokak Sütlerinde ve Beyaz Peynirlerde *Brucella* Varlığının ELISA Yöntemiyle Araştırılması ve *Brucella* Bakterisinin Kefirde Yaşam Süresinin Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- [27] Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Akay, Ö. (1992). Özel mikrobiyoloji, bakteriyel ve mikotik infeksiyonlar, Atatürk Ün. Kars Vet. Fak. Yayın. Erzurum, 197s.
- [28] Yumuşak, N. (2006). Adıyaman yöresindeki koyun ve keçilerde brucellozis'in seroprevalansının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
- [29] Young, E.J. (1995). An overview of human brucellosis, Clinic infection diseases, (21): 283–289.
- [30] Yılmaz, M. (2007). Türkiye’de sık karşılaşılan hastalıklar, Enfeksiyon Hastalıkları, Romatizmal Hastalıklar, Afetlerde Ezilme Yaralanmaları Sempozyumu Bildiri Özleri, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Ocak, 215-226.
- [31] Gross, A., Terraza, A., Ouahrani-Bettache, S., Liautard J. P ve Dornand, J. (2000). In vitro *Brucella suis* infection prevents the programmed cell death of human monocytic cells. Infect immun, 68:342–351.
- [32] Doğanay, M., Aygen, B. (2003). Human Brucellosis: an overview. Infection Diseases. 7:173–182.
- [33] Teixeira-Gomesü, A.P., Cloeckart, A. ve Zygmunt, M.S. (2000). Characterization of heat, oxidative, and acid stress response in *Brucella melitensis*. Infect Immun, 68:29-54.
- [34] Chugh, T.D., Nusrat, H. ve Mustafa A.S.A. (2001). Study of Secreted Cytokine Profile İn Human Brucellosis. 11th ECCMID, 1-4 April Congress Book, İstanbul, 601s.
- [35] Yüce, A., Çavuş, S.A. (2006). Türkiye’de Brusellozis: Genel Bakış. Klimik Dergisi. 19 (3): 87-97.
- [36] Kocagöz, S. (2005). Brusellozis, İç Hastalıkları. İlçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G., (Ed), Güneş Kitabevi, 2:3202-3206.
- [37] Töre, O. (1987). Bruselloz Tanısında İlişkin Sorunlar, I Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 20-23 Nisan, İzmir.
- [38] Alaçam, E., Görgül, S., İmren, H.Y., Şahal, M. ve Tuncer, Ş.D. (1997). Sığır Hastalıkları. Medisan Yayın Serisi, 289-292.
- [39] Esenal, O.M., Keskin, O., Yardımcı, H. ve Altay, G. (2001). Sığır, Koyun ve Keçi Brusellozis'inin Serolojik Tanısında Konvansiyonel Testler ve Coombs Testinin Kullanılması., A. Ü. Vet. Fak. Derg., 48(1) 97- 102.
- [40] Fidancı, H.A., Akın, S., Alabay, M. ve Güvener, N. (1995). Sığırlarda *Brucella abortus*'a Karşı Oluşan Antikorları Saptamada ELISA ve Diğer Serolojik Tekniklerin Karşılaştırılması. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 42: 553-557.

- [41] Solomon, H.M. ve Jackson, D. (1992). Rapid Diagnosis of *Brucella melitensis*'in Blood: Some Operational Characteristics of the BACT/ALERT, J Clin Microbiol; 30: 222-226
- [42] Fındık, D. (2005). Brucelloz Tanısında Sorunlar, Klimik 2005 XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı, 102-105.
- [43] Aktaş, O. (2003). Brusellozda Mikrobiyolojik Tanı, ANKEM Derg, 17: 336-339.
- [44] Kalender, H., Özcan, C. ve Arslan, N. (2001). Taze tulum peynirlerinden *Brucella* izolasyonu, Türk Mikrobiyoloji Cem. Dergisi, 31: 184-186.
- [45] Dabanlıoğlu, B. (2005). Erzincan ili ve Yöresinde Bruselloz Seroprevalansı ve Seropozitif Olguların Klinik Bulgularla ilişkisi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- [46] Hamdy, M. E. ve Amin, A.S. (2002). Detection of *Brucella spp*'in the milk of infected cattle, sheep, goats and camels by PCR. Am J Vet Res, 163:299-303.
- [47] Young, E. J. (2005). *Brucella* species. Mandell, G.L., Bennett J.E, Dolin, R. (Ed.). 6th edition, Philadelphia: Churchill-Livingstone, 2669-2674.
- [48] Rubinstein, E., Lang, R., Shasha, B., Hagar, B., Diamanstein, L., Joseph, G., Anderson, M. ve Harrison, K. (1991). Invitro susceptibility of *Brucella melitensis* to antibiotics. Antimicrob Agents Chemother, 35:1925-1927.
- [49] Baldwin, C.L. ve Roop, R.M. (2002). *Brucella* Infections and Immunity. Paradise, L., J., Friedman, H., Bendinelli, M., (Ed), Chapter 15, Kluwer Academic Press, New York/Boston/Dordrecht/London/Moscow, 255-271.
- [50] Hilbink, F., Fenwick, S.G., Thompson, E.J., Kittleberger, P.M. ve Ross, G.P. (1995). Non spesific seroreaction against *Brucella abortus* in ruminant in New Zealand and the presence of *Yersina enterocolatica* 0:9. Vet. J., New Zealanda, 43:175-178.
- [51] Kenar, B. ve Altındış, M. (2001). Afyon bölgesi süt örneklerinde *Brucella* antikoru araştırılması, Türk Hij. Den. Biyol. Derg., 58(3): 87-92.
- [52] Dahouk, S.A., Tomaso, H., Nöckler, K., Neubauer, H. ve Frangoulidis, D. (2003). Laboratory-based diagnosis of Brucellosis-A review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of *Brucella spp*. Clin Lab; 49: 487-505.
- [53] Sözen, T.H., Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M. (2002). İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 486-491.
- [54] Pappas, G., Akritidis, N. ve Bosilkovski, M. (2005). Brucellosis, N Engl J Med, 352: 2325-2336.
- [55] Arda, M. (1990). Hayvanlarda Brusellozis. 24. Türk Mikrobiyolojisi Kongresi Erciyes Üniversitesi Matbaası, Kayseri, 89-103.

- [56] Aral, M., Çıragil, P. ve Gül, M. (2005). Brusellozun Serolojik Tanısında İmmunokapture Aglutinasyon Testinin Değerlendirilmesi, KSÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2(3): 57-61.
- [57] Khorasgani, M. R., Esmaili, H., Pourkarim, M. R., Mankhian, A. R. ve Salehi, T. Z. (2008). Anti-*Brucella* antibodies in blood donors in Boushehr, Comparative Clinical Pathology, Iran, 17(4): 267-69.
- [58] Moreno, E. ve Moriyó, I. (2006). The Genus *Brucella*. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt (Ed.) Third Edition, Chapter 3.1.16, 5: 315-456.
- [59] Köprülü, N. (2008). Kahramanmaraş İl Merkezinde Bruselloz Hastalığının Seroprevalansı, Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- [60] Ariza, J., Corredoira, J. ve Pallares, R. (1995). Characteristics of and Risk Factors for Relapse of Brucellosis in Humans , Clin. InfectDis., 20: 1241-1249.
- [61] Memish, Z.A. ve Mah, M.W. (2001). Brucellosis in a laboratory workers at a Saudi Arabian Hospital. American Journal of Infection Control, 29: 48-52.
- [62] Yaylı, G. (2003). Brusellozun Laboratuvar Tanisinda Sorunlar, XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Klimik Derg., 16:211-213
- [63] Abuharfeil, N., Abo-Shehada, M.N. (1998). A comparison between three serological tests for *Brucella melitensis* infection in sheep. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 22(2), 119-122.
- [64] Gotuzzo, E. (1998). *Brucella*. Gorbachi, S.L, Banlett, J.G., Blacklow, N.R., (Ed) In: Infectious Diseases second edition, WB sounders company, Philedelphia, 1837-1844.
- [65] Tosyalı, E. (2008). *Brucella melitensis* enfekte makrofajlarda cisplatin tedavisinin konak savunma sistemi güçlendirici etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Vet) Anabilim Dalı, Hatay.
- [66] Korkmaz, E. (2006). Düzce Bölgesinde Hayvan ve Hayvansal Ürünlerle Uğraşan ve Uğraşmayan İki Farklı Grupta *Brucella* Seropozitifliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- [67] T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü: Bulaşıcı Hastalıkların Bildirimi Sistemi Yönergesi (<http://www.saglik.gov.tr>)
- [68] Aydın, F.E. (2007). Süt ve Süt Ürünlerinde *Brucella* Cinsi Bakterilerin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

- [69] İyisan, S. (2006). Hayvanlarda Brucellosis'in Epidemiyolojisi, I. Ulusal Zoonoz Kongresi Kitabı, Ankara, 53-54.
- [70] Anonim (2004). Bruselloz. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ve Temel Sağlık Hizmetleri genel Müdürlüğü. AER Aylık Epidemiyoloji Raporu, 3(2).
- [71] Alpkent, Z. ve Demir, M. (2004). Kefir ve Kefirin Sağlık Üzerine Etkileri, Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü.
<http://www.altinkilic.com/akademikarastirmalar.html>.
- [72] Beshkova, D.M., Simova, E.D., Simov, Z.I., Frengova, G.I. ve Spasov, Z.N. (2002). Pure Cultures for Making kefir. Food Microbiology, 19:537-544.
- [73] Turan, İ., İlter, T. (2007). Kafkas Dağlarından Günümüze: Kefir, Güncel Gastroentoloji Dergisi, 11(2): 65-75.
- [74] Etöz, D. (2006). Kefirden İzole Edilen Maya ve Bakterilerin Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerine İnhibitör Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [75] Akçelik, M. ve Ayhan, K. (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı, Sim matbaacılık., Ankara.
- [76] Kılıç, S. (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, 451s.
- [77] Libudzisz, Z. ve Piatkiewicz, A. (1990). Kefir Production in Poland. Dairy Industries International, 55(7), 31-34.
- [78] Anonim (1998). Kefir's History, Kefir's Production, Kefir's Health Benefits. Functional Foods Magazine's article about Lifeway Foods (www.kefir.com).
- [79] Çevikbaş, A., Yemni, E., Ezzedenn, F., W. ve Yardımcı, T. (1994). Antitumoural Antibacterial and Antifungal Activities of Kefir and Kefir Grain. Phytotherapy Research, 8:78-82.
- [80] Ekici, K., Cosun, H., Tarakçı, Z. ve Öndül, E. (2006). The contribution of herbs to the accumulation of histamine in otlu cheese, J Food Biochem, 30:362-371.
- [81] Koşar, A., Aygündüz, M. ve Yaylı, G. (2001). İki yüz seksen Brusellozis Olgusunda Farklı İki Tedavinin Karşılaştırılması, İnfeksiyon Dergisi, 15(4):433-437.
- [82] İnal, T. ve Ergün, O. (1990). Süt Ürünleri Teknolojisi, Panzehir Yayınları, İstanbul.
- [83] Terzi, G. (2006). Samsun Bölgesinden Toplanan Sütlerde Milk Rink Test ve Aglutinasyon Testi ile *Brucella* Antikorumun Araştırılması, TAF Presentive Medicine Bulletin, 5(3) 196-203.

- [84] Sümer, Z., Alim, A., Sümer, H. ve Özdemir, L. (2000). Sivas il merkezindeki lokanta çalışanlarında *Brucella* seropozitifliği. *İnfeksiyon Derg* 14(1): 69-70.
- [85] Sümer, Z., Sümer, H. ve Poyraz, Ö. (2000). Eğerci beldesi erişkin nüfusunda Bruselloz seropozitifliği. *İnfeksiyon Derg* 14(1): 65-67.
- [86] Alim, A., Hakgüdener, Y., Karagöz, N., Vural, H. ve Kahraman, Ö. (1998). Sivas yöresindeki kasaplarda ve süt ürünleri imalathanelerinde çalışanlarda Brusellozis seropozitifliği. *Türk Hij Dern Biyol Derg*, 55(1): 25-29.
- [87] Bianciflori, F., Nannini, D., Di Matteo, A. ve Belfiore, P. (1996). Assessment of An Indirect ELISA in Milk For the Diagnosis of Ovine Brucellosis, *Comp.Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 19(1):17-24.
- [88] Thoen, C.O., Haas, C.A., Angus, R.D. ve Townsend, A.S. (1995). Evaluation of Potassium Chloride Extract of *Brucella abortus* in an ELISA for Detecting *Brucella* Antibodies in Bulk Tank Milk Samples From Cows, *Vet. Microbiol.*,45:185-189.
- [89] Rajaii, M., Naghili, B. ve Pourhassan, A. (2006). Comparison of ELISA and STA Tests in Diagnosis of Brucellosis, *Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases*. 1(3):145-147.
- [90] Funk, N.D., Tabatabai, L.B., Elzar, P.H., Hagijs, S.D., Martin, B.M. ve Hoffman, L.J. (2005). Indirect Enzyme- Linked Immunosorbent Assay For Detection of *Brucella melitensis*- Specific Antibodies in Goat Milk, *Journal of Clinical Mikrobiyoloji*, Feb., 721-725.
- [91] Vanzini, V.R., Aguirre, N., Lugaresi, C.I., De Echaide, S.T., De Canavesia, V.G., Guglielmo, A.A., Marchesino, M.D. ve Nielsen, K. (1998). Evaluation of an Direct ELISA for The Diagnosis of The Bovine Brucellosis in Milk and Serum Samples in Dairy Cattle in Argentine. *Prev. Vet. Med.*, 36(3):211-217.
- [92] Güllüce, M. ve Leloğlu, N. (1996). Detection of *Brucella abortus* Antibodies in Cows Milk of the Kars Area by ELISA and MRT, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 20:251-255.
- [93] Adıgüzel, A., Güllüce, M. ve Algur, Ö.F. (2004). Erzurum'a Bağlı Bazı Köylerden Toplanan Süt Örneklerinde *Brucella abortus* Antikorlarının ELISA ile Araştırılması, *İnfeksiyon Dergisi*, 18(2):187-191.
- [94] Türütoğlu, H., Mutluer, M. ve Uysal, Y. (2003). Burdur Yöresinde Toplanan Sütlerin *Brucella* İnfeksiyonu Yönünden Araştırılması. *Turk J. Vet Anim Sci*, 27:1003-1009.
- [95] Langoni, H., Ichihara, S.M., Silva, A.V., Pardo, R.B., Mendonca, L.J.P., Machado JAD. (2000). Isolation of *Brucella spp* from milk of brucellosis positive cows in São Paulo and Minas Gerais states. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*, 37(6): 444-448

- [96] Uraz, G. ve Yücel, N. (1998). Çiğ Süt Örneklerinde Ring Testi ile *Brucella* Varlığının Araştırılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. Ankara. 11(2):393-400
- [97] Taşçı, F. ve Kaymaz, Ş. (2009). Ankara’da Tüketime Sunulan Mutfaklık Tereyağı, Krema ve Krem Şantili Pastaların *Brucella spp.* Yönünden İncelenmesi, Fırat Üniversitesi, Sağ. Bil. Vet. Derg. 23(1):5-8.
- [98] Sarısayın, F. ve Eroğlu, M. (1978). Marmara ve Trakya Bölgesinde Üretilen Tereyağ, Krema (Kaymak) ile Bunlardan Yapılan Pasta ve Dondurmanın İnsanlardaki *Brucella* İnfeksiyonu Yönünden Rolü. Pendik Vet Bak Ser Enst Derg; 10(1): 22-29.
- [99] Sabbaghian, H. (1975). Fresh With Cheese As a Source of *Brucella* Infection. Publ Hlth 40:165-169.
- [100] Ataş, M. (2005). Sivas İl Merkezinde Satışa Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin *Brucella* Bakterileri Yönünden İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- [101] Alim, A. ve Tomul, D.Z. (2005). Sivas İl Merkezindeki Semt Pazarlarında Satılan Taze Peynirlerin *Brucella* Yönünden Araştırılması. Mikrobiyol Bült 39(2): 219-223.
- [102] Buğdaycı, K. (2003). Kayseri İlinde Çiğ Sütlerden Yapılan Taze Beyaz Peynirlerde *Brucella spp.* Aranması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- [103] Kasımoğlu, A. (2002) Determination of *Brucella spp.* in Raw Milk and Turkish White Cheese in Kırıkkale, Dtsch. Tierarztl. Wschr., 109:324-326.
- [104] Patır, B. ve Dinçoğlu, A.H. (2001). Elazığ’da Tüketime Sunulan Taze Beyaz Peynirler ile Tulum Peynirlerinde *Brucella spp.* 'nin Varlığı Üzerine Araştırmalar, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Veteriner), 15(1):15-22.
- [105] Acedo, E., Diaz, M.E. ve Leon A.B. (1997). Incidencia de *Brucella spp.*, En Leche Cruda Y Queso Fresco Regional. Alimentaria 35:57-60.
- [106] Yıldırıncı, G. (1993). İstanbul Piyasasında Satışa Sunulan Tulum Peynirlerinde *Brucella* Etkenlerinin Mevcudiyeti Üzerine Araştırmalar, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- [107] Tunçbilek, M. (1992). Ankara Piyasasında Satılan Taze Beyaz Peynirlerin Brusellozis Riski Yönünden İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [108] Anonymous, (2001). Türkiye’de Sığır ve Koyunlarda Brusellozis’in Sero-Epidemiyolojisi, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Araştırmaları, 5-37.

- [109] Ito, A., Sato, Y., Kudo, S., Sato, S., Nakajima, H. ve Toba, T. (2003). The Screening of Hydrogen Peroxide-Producing Lactic Acid Bacteria and Their Application to Inactivating Psychrotrophic Food-Borne Pathogens, *Curr Microbiol.*, 47(3):231-236.
- [110] Cordeiro, J., da Silva, T.B., Delgado, A., Pereira, S., Brito, D. ve Peres, C. (2002). Antimicrobial Activity of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated From Traditional Lactic Acid Fermentation of Portuguese Table Olives, *Acta Hort. (ISHS)*, 586:633-636
- [111] Marquina, D., Santos, A., Corpas, I., Munoz, J., Zazo, J. ve Peinado, J.M. (2002). Dietary Influence of Kefir on Microbial Activities in The Mouse Bowel, *Lett Appl Microbiol.*, 35(2):136-140.
- [112] Cengiz, A.T. (2000). Brusellozda Korunma ve Tedavi, Prof. Dr A. Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Bruselloz Simpozyumu Kitabı, 57-67

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Ayşe Hümevra TAŞKIN
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 07/08/1985
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Erzincan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
E-posta Adresi	ahumeyrataskin@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2008
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2012

İş Tecrübesi

Karaman Üniversitesi	Araştırma görevlisi, 2009-2010
Erzincan Üniversitesi	Araştırma görevlisi, 2010-