



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA (VETERİNER) ANABİLİM DALI

**KONJUNKTİVAL BRUSELLA AŞISININ KOYUNLARDA  
BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRE DÜZEYLERİNE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Özkan Yiğit**

**Samsun  
Temmuz-2016**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA (VETERİNER) ANABİLİM DALI

**KONJUNKTİVAL BRUSELLA AŞISININ KOYUNLARDA  
BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRE DÜZEYLERİNE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Özkan Yiğit**

**Danışman  
Doç. Dr. Gülay ÇİFTÇİ**

**Samsun  
Temmuz-2016**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Özkan Yiğit tarafından Doç. Dr. Gülay ÇİFTÇİ Danışmanlığında hazırlanan 'Konjunktival brusella aşısının koyunlarda bazı biyokimyasal parametre düzeylerine etkisi' başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 20 /07 /2016 tarihinde yapılan sınav ile Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ali ERTEKİN  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD

Üye : Doç. Dr. Gülay ÇİFTÇİ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD

Üye : Doç. Dr. Ayşegül ÇEBİ  
Giresun Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / .... /.....

**Doç. Dr. Aydın HİM**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen başta Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali ERTEKİN'e bu konunun seçilmesinde ve çalışmalarımın yürütülmesinde büyük katkısını gördüğüm tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'e, çalışmalarım boyunca katkılarını esirgemeyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Gül Fatma YARIM, Sayın Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Sayın Doç. Dr. Cevat NİSBET'e Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Alper ÇİFTÇİ'ye ve bilgisine danıştığım, desteğini esirgemeyen tüm meslektaşlarıma, iş arkadaşlarıma ve tüm hayvan yetiştiricilerine teşekkür ederim. Bununla birlikte, başta sevgili eşim Esra YİĞİT, kızım Deniz YİĞİT olmak üzere aileme tüm yaptıkları ve destekleri için teşekkür ederim.

Bu çalışma, PYO.VET.1904.14. proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### KONJUNKTİVAL BRUSELLA AŞISININ KOYUNLARDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRE DÜZEYLERİNE ETKİSİ

**Amaç:** Bu çalışmada Bruselladan korunmak için aktif bağışıklık sağlayan *B.melitensis* Rev.1 konjunktival Brusella aşısının bazı biyokimyasal parametre düzeylerinin aşılamaya bağlı olarak değişiminin araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada 30 adet 5 aylık dişi Karayaka ırkı koyun hayvan materyali olarak kullanılmıştır. Deneme gruplarını ise kontrol grubu için kan alındıktan sonra aşılama grupları oluşturulmuştur. Aşı *Brucella melitensis* 'e karşı tek doz yapıldı ve 4 ay boyunca her ay Vena Jugularis'ten kan alındı. Konjunktival olarak 1 doz aşılama (40µl) aşı içeriğinde *Brucella melitensis* Rev.1 0.5 – 2 X 10<sup>9</sup> mikroorganizma (CFU) içermektedir. Tüp aglütinasyon testi ile antikor düzeyleri belirlendi. Koyunlarda ALP, ALT, AST, LDH, glukoz, total protein ve albumin gibi bazı biyokimyasal parametreler serum da biyokimya otoanalizöründe ticari otoanalizör test kitleri kullanılarak ölçüldü.

**Bulgular:** Rose bengal pleyt testlerinin değerlendirilmesi sonucunda aşı öncesi alınan kanlara ait serumların tümünün negatif olduğu ve deneme gruplarına ait 120 adet serumun ise pozitif reaksiyon verdiği görüldü. RBPT sonucunda değerlendirilen serumların SAT sonuçlarında aşı sonrasında 1. ayda aşı öncesine göre önemli düzeyde antikor titresinin arttığı (P<0.001), 2. aydan itibaren ise düşmeye başladığı belirlendi. Glukoz, ALT, AST aktivitesinin aşılama sonrasında istatistiksel olarak önemli değişiklik olmadığı (P>0.05) total protein ve ALP miktarının aşı sonrasında önemli düzeyde azaldığı (P<0.05), LDH düzeyinin ise önemli ölçüde arttığı belirlendi (P<0.05).

**Sonuç:** Bruselladan korunmak için düşük dozda yapılan Konjunktival Brusella aşısını takiben antikor titresini arttığı 1 ayda LDH, ALP ve total protein ve albumin miktarlarını etkilediği daha sonraki aylarda ise aşı öncesi grubun düzeyine yaklaştığı ve konjunktival Brusella aşısının Bruselladan korunmak için güvenli olarak kullanılabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Biyokimyasal parametre; *Brucella melitensis*; konjunktival aşı; koyun

Özkan YİĞİT, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz - 2016

## ABSTRACT

### EFFECT OF THE CONJUNCTIVAL BRUCELLA VACCINE ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN SHEEP

**Aim:** In this study, investigation of the changes in the levels of some biochemical parameters such as in the blood of Karakaya sheep due to the vaccination for the prevention of brucellosis active immunological conjunctival Brucella Vaccine is aimed.

**Material and Method:** There are 30 Karakaya sheep which are 5 months old and female were used as an animal material. Trial groups formed which are vaccinated after drawing blood for control groups. The vaccine was done single dose against *Brucella melitensis* and every month blood was drawled from Vena jugularis during 4 months. The vaccine, vaccinated 1 dose as a conjunctival, contains *Brucella melitensis* Rev.1 0.5-2x10<sup>9</sup> microorganism in the content. Antibody levels were determined by tube agglutination test. Some biochemical parameters in sheep such as ALP, ALT, AST, LDH, glucose, total protein and albumin measured using commercial autoanalyzer in serum biochemistry autoanalyzer.

**Results:** In consequence of evaluation of the Rose Bengal Platy tests, results of the serums belonging to bloods taken before vaccination were negative and 120 serums belonging to experimental group showed a positive reaction. The SAT results of the serums which were evaluated after RBPT showed that antibody titres (P<0.001) increased significantly at first month according to the pre-vaccine, but it was determined that while from the second month began to fall. It was determined that there was no statistically significant changes in glucose, AST, ALT activity after vaccination (P>0.005), a significant amount of total protein and ALP decreased after vaccination (P<0.005), while the LHD levels were significantly increased (P<0.005)

**Conclusion:** It was determined that in first month of increased antibody of conjunctival Brucella vaccine which was carried out in low doses to protect against Brucellosis affected the amount of LDH, ALP, total protein and albumin in subsequent months, it was approaching the level of the pre-vaccine group and conjunctival Brucella vaccine was considered to be used as a safe house to protect them from Brucellosis.

**Keywords:** Biochemical parameters; *Brucella melitensis*; conjunctival; sheep

Özkan YİĞİT, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz - 2016

## SİMGELER VE KISALTMALAR

**ALP** : Alkalın fosfataz

**ALT** : Alanin aminotransferaz

**AST** : Aspartat aminotransferaz

**LDH** : Laktat dehidrogenaz

**RBPT** : Rose bengal pleyt test

**SAT** : Standart Tüp Aglütinasyon



## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	vii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	2
2.1 Tanım.....	2
2.1.1. Brusellozisin Tarihçesi.....	2
2.1.2. Sınıflandırma.....	3
2.1.3. Bruselloz'un Epidemiyolojisi.....	4
2.1.4. Bruselloz'un İmmunolojisi.....	5
2.1.5. Klinik Bulgu ve Belirtiler.....	5
2.1.6. Brusellozun Tanısı.....	6
2.1.7. Brusellozun Tedavisi.....	7
2.1.8. Brusellozdan Korunma.....	7
2.1.9. Bruselloz'un İmmunoloji ve Brusella Konjunktival Aşısı.....	9
2.1.10. İmmunitenin Çeşitleri.....	10
2.2 Serum Biyokimyasal Parametreler.....	14
2.2.1 Serum transferaz enzimleri.....	15
2.2.2 Alkalen fosfataz.....	16
2.2.3 Laktat dehidrogenaz.....	17
2.2.4. Serum proteinleri.....	17
2.2.5. Total protein.....	17
2.2.6. Albumin.....	18
2.2.7. Globülin.....	18
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Hayvan materyali.....	20
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler.....	20
3.2. Metot.....	20
3.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Uygulamalar.....	20
3.2.2. Doz.....	20



3.2.3. Biyokimyasal Analizlerin yapılışı ve prensipleri.....	21
3.3. Serolojik Analiz.....	27
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	28
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>29</b>
4.1. Serolojik Analiz Sonuçları.....	29
4.2. Biyokimyasal Parametre Sonuçları.....	31
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>34</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>38</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>40</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>47</b>



## 1. GİRİŞ

Brusellozis dünyada yaygın olarak görülen bakterilerin neden olduğu önemli bulaşıcı bir hastalıktır. Brusella türleri, koyun, keçi, sığır, geyik, domuz, köpek ve diğer hayvanları etkilemektedir. İnsanlar bu bakteriler tarafından bulaşık olan hayvanlarla ve bu hayvanlardan üretilen çeşitli ürünlerle temas sonucu hastalığa yakalanmaktadır. Özellikle ülkemizde koyun ve keçi peyniri, sığırlardan elde edilen taze peynirlerin tüketimi sonucu veya küçükbaş ve büyükbaş hayvanlara çıplak şekilde temas edilmesi sonucu genel bulaşmaya neden olmaktadır. Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan koyun, keçi ve sığır türlerinde Brusellozis'in yaygın olarak görülmesinin nedeni ise damızlık olarak kullanılan erkek koç, teke ve boğaların Brusella ile enfekte olup bunu diğer damızlık dişilere bulaştırmasıdır. Bu hastalık koyunlarda, keçilerde ve sığırlarda yavru atmaya, infertiliteye, genital organların enfeksiyonlarına ve süt veriminde azalmaya yol açar. Brusellozis hastalığından korunmak için aşı bulunmaktadır. Dişi kuzular ile oğlaklara 3-6 aylık iken Brusella aşısı yapılmaktadır.

Bu çalışmada Bruselladan korunmak için aktif bağışıklık sağlayan *B.melitensis* Rev. 1 konjunktival Brusella aşısının Karayaka koyunlarının kanındaki glukoz, total protein, albumin, ALT, ALP, AST, LDH gibi bazı biyokimyasal parametre düzeylerinin aşılama bağlı olarak değişiminin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tanım

Akdeniz ateşi, Malta humması, Gibraltar ateşi, Rock humması, Kıbrıs Ateşi, Bang ateşi hastalığı olarak da tanımlanan Brusellozis, *Brucella* cinsi bakteriler tarafından meydana getirilen ve organizmada birçok organı, sistemi ve dokuyu etkileyen ve tipik klinik belirtileri mikrobiyel olan bir hastalıktır. Başta çiftlik hayvanları olan, koyun, keçi, sığır, manda, domuz gibi evcil hayvanları enfekte etmekte olup ve bunların etleri, sütleri, idrar, vücut sıvıları ya da enfekte hayvanlara doğum sonrası çıplak elle temas edilmesi ya da enfekte süt ile hazırlanan süt ürünlerinin tüketilmesi sonucunda insanlar da zoonoz enfeksiyonlara neden olan, aynı zaman da Veteriner Hekimlerin meslek hastalığı olarak bilinen bakteriyel bir enfeksiyondur (Baysal, 1999). Brusella türlerinden *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* ve *B. canis* insanlarda enfeksiyon yapmaktadır. Brusellozis, *Brucella* cinsindeki türlerin evcil ve vahşi hayvanlarda özellikle uterus, meme, testis gibi genital organlara yerleşerek, yavru atmalara ya da infertiliteye neden olduğu kronik, bulaşıcı ve nekrotik, yangısal reaksiyonlarla ortaya çıkan retikülohistiositer bir hastalıktır. Brusellozis önemli ekonomik kayıplara yol açmakta olup hayvancılığın devamlılığını da olumsuz yönde etkilemektedir. Hastalık çok bulaşıcı zoonoz karakterde olup Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslar Arası Salgın Hastalıklar Ofisi (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonozlardan biri olarak kabul edilmektedir (Nicoletti, 2010; Corbel, 2006). Birçok ülkede ruminantları brusellozisten korumak için *Brucella melitensis* strain Rev 1 zayıflatılmış canlı aşısı aşılama programı ile uygulanmaktadır (Minas, 2006). Başta Akdeniz ülkeleri ve Orta Doğuda olmak üzere birçok ülkede hastalık görülmektedir.

#### 2.1.1. Brusellozisin Tarihçesi

Brusella ilk olarak milattan önce 460 yılında Hipokrat tarafından tarif edildiği hakkında veriler bulunmaktadır. Brusellosis tarihinde 19. yüzyılda David Bruce, İngiliz hükümeti tarafından Malta adasında bulunan Valetta askeri hastanesinde yatan 2200 askerin tedavisi için görevlendirilmiştir. Bruce, enfekte bir hastanın 15 gün içerisinde ölmesi üzerine otopsi yapmış ve otopsi sonucunda numune olarak aldığı dalak dokusunu mikroskopta incelemiş, 500 kat büyütme ile yaptığı incelemede brusella bakterilerini

dans eden mikrokoklar olarak not etmiştir. Sonrasında vücuttaki bu yüksek ateşe mikrokokların neden olduğu belirtilmiştir. Yine 1887 yılında Dr. Carruana-Secluna, enfeksiyona yakalanmış on kişiden aldığı örnekler ile steril agar-agar içeren tüplere ekimi sonucu olarak 68 saat ve 37 °C’de inkübasyon sonrası mikrokok kolonilerini görmüştür. Sonra Bruce, Brusellosis enfeksiyonundan ölen kişilerden aldığı doku örneklerinden de brusella bakterilerini izole etmiştir (Baysal, 1990; Anđ ve ark., 2008).

*Brucella abortus* 1897 yılında Bang tarafından Danimarka’da sığır uterus salgısından, *Brucella suis* 1914 tarihinde Amerika Birleşik Devletinde erken doğan domuz yavrularının iç organlarından, *Brucella ovis* Avustralya ve Yeni Zelanda ırkı enfekte koçların testis dokularından, *Brucella canis* ise Rusya ve Alaska’da av köpeklerinde enfeksiyona neden olmuş ve 1977 de bir kadın hastadan izole edilmiştir (Koneman ve ark., 2006).

Ülkemizde ilk defa insanda brusella enfeksiyonu 1915’ de Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafınca bir askerden teşhis edilmiştir. Küçükbaş hayvanlarda ise 1944 yılında belirlenmiş olup özellikle koyunlarda *B. melitensis* ilk olarak Aktan ve Koyluoğlu tarafından belirlenmiş olup insan ve hayvanlarda bruselloz’un serolojik yöntemlerle saptanması ise 1943 yılında Golem tarafından bildirilmiştir (Çevik, 2001).

### 2.1.2. Sınıflandırma

Brusella türleri gram negatif kokobasil şeklinde, 0.5–0.7 µm eninde, 0.6- 1.5 µm boyunda, küçük gruplar ve kısa kısa zincirler oluşturan bakterilerdir. Hareketsiz olup, flajellaları olmayan ve kapsül ya da spor yetenekleri olmayan bakterilerdir (Baysal, 1999).

*Brucellaceae* ailesinde bulunan Brusella türlerinin 7 türü bulunmaktadır. Bunlar;

- *Brucella abortus*
- *Brucella melitensis*
- *Brucella suis*
- *Brucella ovis*
- *Brucella canis*
- *Brucella neotemae*

- *Brucella maris* ( Son yıllarda ikiye ayrılmıştır; *B. Pinnipediae* ve *B. cetaceae* (Koneman ve ark., 2006; Cloeckaert ve ark., 2001).

Brusella türlerini birbirinden ayırt edilmesini sağlayan biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri vardır. Bu özelliklerindeki farklılıklara göre farklı biyotiplere ayrılırlar. *Brucella melitensis*'in üç, *Brucella abortus*'un yedi, *Brucella suis*'in ise beş ve diğer dört *Brucella* türünün de birer adet biyotipleri bulunmaktadır (Alton ve ark., 1975; Bilgehan, 2000).

### 2.1.3. Bruselloz'un Epidemiyolojisi

Dünyanın en önemli zoonotik enfeksiyonlarından biri olan Brusella enfeksiyonunun insanlara bulaşmasında, enfeksiyon kaynağı olarak sığır, koyun, keçi ve domuz ile insanların sürekli bir arada bulunarak direkt temasta olunması ve enfekte gıda ürünlerini yoğun olarak tüketen evcil hayvanlar büyük önem taşırlar. Brusella enfeksiyonunun canlılar arasında bulaşmasında ise sistemik olarak sindirim ve genital sistem başta olmak üzere, deri ve konjonktiva ile direkt temasta bulunulması bulaşmada etkin rol oynamaktadır. Yabani hayvanlardan ise eti tüketilmek üzere avlanan geyik, bizon ve buffalo gibi geviş getirenlerle direk temas ve lokal olarak önemi olan av köpekleri, atlar ve develerde yine enfeksiyon rezervuarı ve yayılmasında önemli bulaşma nedenleri arasında yer alırlar (Baysal ve ark., 1999; Bilgehan, 2000; Godfroid ve ark., 2005).

Brusellozis'in rezervuarlarıyla başta memeliler olmak üzere bazı böcekler ve kenelerde enfekte olurken, laboratuvar ortamında ise enfekte edilmiş sürüngenler ve amfibilerde bulunmaktadır (Bilgehan, 2000; Baysal, 1999).

*Brucella abortus*, başta inekler ve diğer sığır türleri olmak üzere insanlar, atlar ve köpeklerde de enfeksiyonlara neden olurken aynı zamanda enfeksiyonların kaynağı da olurlar. *Brucella melitensis*, koyunlarda, keçilerde ve bazı geviş getiren türlerde de yine enfeksiyona neden olur. *Brucella suis* domuzları, *Brucella canis* köpekleri, insanları, tilki ve kurtları enfekte eder. *Brucella ovis* koyunlarda, *Brucella maris* ise deniz memelilerinde bulunur ve enfeksiyon yaparlar (Shapiro ve ark., 1999; Koneman ve ark., 2006; Stack ve ark., 2006).

#### **2.1.4. Bruselloz'un İmmunolojisi**

Brusella enfeksiyonuna yakalanmış olan bireylerde hücrel ve humoral bağışıklık bir arada aktive olarak bağışıklık yanıtı oluşmaktadır. Hücrel immunitede bakterisidal etki daha önem arz ederken, humoral immunité ise yeniden oluşan reenfeksiyonlara karşı korunmayı sağlamaktadır. Bunun nedeni ise hastalığın kontrol altına alınmasında bakterisidik etki ile hücrel immunitenin enfeksiyonu kontrol altına almasıdır. Bu etkiyi ise T lenfositlerin salgıladığı sitokinlerin makrofajları aktive ederek gerçekleşmektedir. Humoral bağışıklık ise IgM, IgG ve IgA tipi antikorların yanıtı ile oluşur. Bruselloz'un akut enfeksiyonların da ilk olarak IgM bağışıklık yanıtı oluştururken, IgG ise 14. günden itibaren artarak enfeksiyonun tedavi ve iyileşme sürecine bağlı olarak 1 yıl boyunca yüksek miktarlarda kalarak immün yanıt oluşturmaktadır (Baysal, 1999; Young ve ark., 2000; Doğanay ve ark., 2008).

#### **2.1.5. Klinik Bulgu ve Belirtiler**

Brusella enfeksiyonlarında, hastalığın seyri boyunca birçok organ ve sistem etkilenebilmektedir. Konağa bağlı olmakla birlikte enfeksiyonun oluşması genellikle 1 ile 3 hafta arasında iken, bu süreç birkaç aya kadar uzayabilmektedir. Klinik bulgular gizli veya ani bulgular olarak ortaya çıkabilmektedir (Geyik, 2003).

Brusella etkenleri, insan veya hayvan vücuduna girdikten sonra ilk üremesini bölgesel lenf yumrularında yapmakta, sonraki aşamada bakteriyemi sonucu kana karışarak organlara ve sistemlere yayılarak hayvanlarda ve insanlarda özellikle gebe uterus, meme ve testislerde, nadir olarak da eklem ve bursalarda lezyonlar oluşturmaktadır (Arda ve ark., 1997).

Brusella enfeksiyonuna yakalanan insanlarda, ilk bulgular; yüksek ve dalgalı olarak oluşan ateş, terleme, titreme, yorgunluk hissi, eklem ve sırt ağrıları gibi klinik bulgular görülmektedir. Ateş genellikle 37.5 °C – 40 °C arasında, bazı enfeksiyonlarda ateş daha da yüksek seyretmektedir (Anğ ve Yumuk, 2008). Yine brusella enfeksiyonlarında; hematolojik bulgular, kas ve iskelet sistemi bulguları, cilt bulguları, gastrointestinal sistem bulguları, nörolojik bulgular, kardiyovasküler sistem bulguları, ürogenital sistem bulguları ve oküler bulgularda görülebilmektedir.

### **2.1.6. Brusellozun Tanısı**

Brusella enfeksiyonu insanlarda ve hayvanlarda birçok organ ve sistemi etkileyebilen ve farklı klinik bulgularla kendini gösteren, birçok hastalıkla benzer bulgular gösteren bir hastalık olup klinik bulgular veya otopsi bulgularına dayanarak kesin teşhis ortaya konulamamaktadır. Hastalığın teşhisinde, direkt tanı metotları ile yapılan etken izolasyonu pratik olmamaları nedeniyle sık kullanılmazken, indirek olarak teşhis yapılabilen (serolojik ve alerjik) yöntemlerin sıklıkla ve kesin teşhisi çeşitli testlerle (bakteriyoskopi, kültür, hayvan deneyi, bakteriyofaj testi, alerjik testler ve serolojik testler) ancak laboratuvar ortamında direkt tanı yöntemlerine göre daha pratik olarak yapılabilmektedir. Kesin tanı etken izolasyonu ile konulabilmektedir (Doğanay, 2008; Fındık, 2005). Brusellozis'in özgün tanısı ise kan, kemik iliği, beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi örneklerden etkenin üretilmesi ile konulmaktadır (Ward ve ark., 2006).

#### **Rutin laboratuvar incelemelerinde ;**

- Tam kan sayımı
- Eritrosit Sedimantasyon Hızı (ESR)
- C Reaktif Protein (CRP)

#### **Özgül Laboratuvar İncelemelerinde ;**

##### **A. Direkt tanı yöntemleri**

###### **a. Kültür**

###### **b. Moleküler yöntemler**

##### **B. İndirekt tanı yöntemleri**

###### **a. Hızlı aglutinasyon testleri**

Rose Bengal testi (RBT), Spot testi

###### **b. Tüp aglutinasyon testleri**

Standart tüp aglutinasyon testi (STA), Mirkapto etanol veya Rivanollü (Diamino 6,9 etoxy acridin) tüp aglutinasyon testi, Coombs testi

###### **c. Brucellacapt testi**

###### **d. Kompleman birleşme testi**

###### **e. İndirekt Floresan Antikor testi (IFA)**

###### **f. Radioimmunoassay (RIA)**

###### **g. Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

## **h. Brusellargen deri testi**

### **2.1.7. Brusellozun Tedavisi**

Hayvanlarda Brusella enfeksiyonlarının tedavisinde etkili antibiyotikler vardır, ancak antibiyotik seçiminin doğru tahmin edilememesi, tedavi sürecinin ve başarı oranının kesin olmaması, brusella etkenlerinin hücre içine yerleşik ve hücre içinde üreyen bakteri olması nedeniyle tedavi sonrasında reenfeksiyon oluşma ihtimali, yine brusellozun ihbari zorunlu hastalık olması nedeniyle, enfekte hayvanların kesime tabi tutularak tazminatının devlet tarafından veriliyor olması ve uzun süreli verim kaybı ve tedavi masrafları gibi nedenlerle hayvanlarda görülen brusella enfeksiyonların da tedavisi günümüzde yapılamamaktadır (Anđ ve ark., 2008).

İnsanlarda Brusella enfeksiyonuna yakalanan bireylerde, uzun süreli ve tek antibiyotik kullanımının oluşturduğu antibiyotiğe karşı oluşan dirençlilik, relaps gibi nedenlerle, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen tedavi olan, ikili doksisisiklin + rifampisin/streptomisin, bazı durumlarda ise üçlü kombine antibiyotik uygulanması şeklindedir (Cengiz, 2007).

### **2.1.8. Brusellozdan Korunma**

Brusella enfeksiyonlarından korunmada genel hijyen ve dezenfeksiyon kurallarına uyulması, hayvan sürülerine dışarıdan ve brusella enfeksiyonunun varlığının tespitinin yapılmadığı kontrolsüz hayvan giriş ve çıkışlarının engellenmesi, sürülere hayvan alımı durumunda hastalıktan ari işletmelerin seçilmesi, sürülerde mevcut var olan enfekte hayvanların sürülerden elemine edilmesi ve en önemlisi hastalıktan ari tüm genç ve ergin hayvanlara brusella enfeksiyonuna karşı koruyucu aşlamaların yapılması önem arz etmektedir (WHO ve MZCP 1999; Eskiizmirli, 2008).

Brusellozdan korunmada temel prensipleri sıralayacak olursak;

- Çiğ ya da pastörize edilmeyen sütlerden elde edilen süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi.
- Taze peynirin gerekli miktarlarda tuzlanarak, en az 60 gün olmak üzere salamur yapılarak tüketilmesi.
- Enfekte hayvanların karkas etleri ve iç organları ile kesim sonrası temasta koruyucu önlemlerin alınması ve bu et ve iç organların yeterince pişirilerek tüketilmesi.
- Hastalığın endemik olarak bulunduğu bölgelerde enfekte hayvanların idrarı ile bulaşık hale gelmiş, sebzelerin tüketilmeden dezenfekte edilmesi.



- Brusella enfeksiyonuna yakalanma ihtimali yüksek olan meslek gruplarında (Veteriner Hekimler, Veteriner Sağlık Teknisyen ve Teknikerleri, hayvan bakıcıları ve mezbaha çalışanları) hayvanlarla direkt temasta enfeksiyona karşı koruyucu önlemlerin alınması. Örneğin *Brucella Rev 1* aşılamaalarında eldiven ve gözlük kullanımı gibi.
- Risk grubu mesleklerde çalışan insanların Brusella enfeksiyonu yönünden bilgilendirilmesi.
- Özellikle çiftlik hayvanlarının yavru atmaları sonucu, hayvana ait atığa, akıntılara, plasentaya çıplak elle müdahale edilmemesi ve hayvanın kirlettiği etkeni bulaştırdığı yerlerin dezenfekte edilmesi.
- Sürülerde enfekte hayvan varlığını serolojik testlerle tespit edip, enfekte hayvanların sürülerden çıkartılarak, elde edilen hastalıktan ari hayvanların koruyucu aşılama (*Brucella melitensis Rev1*, *Brucella abortus S19*) aşılamaaları.
- Hayvanlarda hastalıktan şüphe edilen durumlarda ve atık durumlarda, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Hayvan Sağlığı Şubelerine ihbarda bulunulmalı, insanlarda hastalıktan şüphe edilen durumlarda sağlık kuruluşlarına başvurulmalıdır (Baysal, 1999; Aksakoğlu, 1996).

Birçok ülkede ruminantları brusellozisten korumak için *Brucella melitensis* S19 strain Rev 1 zayıflatılmış canlı aşısı ve Brusella S19 aşısı aşılama programı ile uygulanmaktadır (Minas, 2006). Başta Akdeniz ülkeleri ve Orta Doğuda olmak üzere birçok ülkede hastalık görülmektedir.

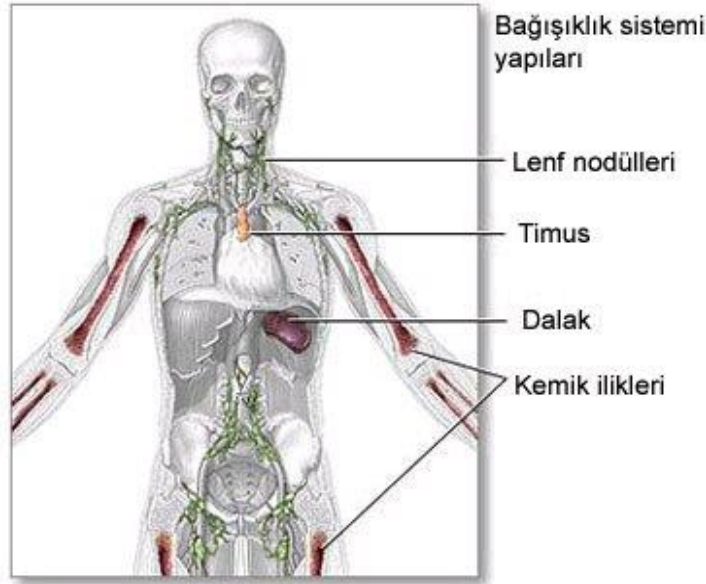
Brusellozis ülkemizde yaygın olarak görülen ve yetiştiricilerin ekonomik kayıplarına neden olmasının yanı sıra hayvancılığın sürdürülmesini olumsuz yönde etkileyen hem insan hemde halk sağlığını olumsuz yönde etkileyen önemli zoonoz bir hastalıktır. Brusellozisin kontrol ve eradikasyonu için Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlık'ının programı kapsamında "Konjuktival Aşı ile Kontrol ve Eradikasyonu Projesi' gereği konjuktival brusella aşısı Pendik Veteriner Kontrol Enstitü Müdürlüğünden temin edilerek yapılmaktadır. Konjuktival aşı sonrası etken sadece baş lenf yumrularına lokalize olmakta olup generalize bir reaksiyon oluşturmamakta, bu nedenle de aşılama hayvanlarda abort ve saçılım riski yok denecek kadar az olmaktadır. Tüm yaşta ki dişi sığırlar ile koyun ve keçilere yapılabilmektedir. Parenteral olarak uygulanmadığından kazara uygulayıcının aşığı kendisine enjekte etme riski ortadan

kalktığından daha güvenli bir aşıdır (Brusellanın Konjunktival Aşı İle Kontrol ve Eradikasyonu Projesi, 2012).

Brusellozisin özgün tanısı ise kan, kemik iliği, beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi örneklerden etkenin üretilmesi ile konulmaktadır. Yapılan çalışmalarda daha çok yapılan Rev 1 vaccine aşısı yapılarak brusellozisin eradikasyonu (Ward ve ark., 2006), *Brucella melitensis* Rev 1 konjunktival aşının immunopatolojik etkileri (Munoz ve ark., 2008) ya da Rev-1 konjunktival aşının serolojik testleri üzerinde yoğunlaşmıştır (Stournara ve ark., 2007).

### 2.1.9. Bruselloz'un İmmunoloji ve Brusella Konjunktival Aşısı

İmmunoloji sadece enfeksiyöz hastalıklara karşı oluşan bağışıklığın yanında immun sistemin organ naklindeki yerini, tümörlere karşı korunma ve mücadeleyi, çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisini, bunların yanı sıra yabancı maddeyle konak etkileşimi sonucu ortaya çıkan istenmeyen ve zararlı sonuçları da inceleyen bilim dalıdır. Genel olarak immunité (bağışıklık) hastalıktan korunma, özellikle enfeksiyöz hastalıklardan korunma anlamına gelir. Bunun için vücudun yabancı etkenlere karşı gösterdiği tepkilerin tümüne kolektif olarak immun yanıt (bağışıklık yanıtı) denir (Diker, 1998; Arda ve ark., 1998).



Şekil 1. İnsan vücudundaki bağışıklık sistemi (Kaplan, 2016'dan)

## 2.1.10. İmmunitenin Çeşitleri

Bağışıklık sistemi, innate (doğal, nonspesifik) ve kazanılmış (Edinsel-spesifik-adaptif) bağışıklık olmak üzere iki ana başlık altında incelenen bir sistemdir. Bağışıklık sisteminin bu iki bölümü, bir arada dengeli ve yardımlaşarak canlıyı zararlı patojenlere karşı korurlar (Kılıçturgay 1991, Diker 1998).



Şekil 2. İmmun sistem (Kadınlarsayfası, 2016)

### Doğal Bağışıklık (İnnate, Yapısal Direnç)

Bir canlının doğumundan itibaren, patojenlere maruz kaldığında, bağışıklık olarak ilk cevabı oluşturan, canlının genetiğinde immün özellikleri belirli ve konağın kendisinde bulunan ve kendisine ait olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip olan savunma sistemidir. Belirli patojenlere karşı seçicilik göstermez ve bu sayede canlı bazı mikroorganizmalara karşı tanıma ve yok etme özellikleri doğduğu andan itibaren sahiptir (Armstrong, 1998). İşte bu genetik faktörler, bazı türlerde bazı enfeksiyonların oluşumunu engeller, bunu doğal direnç sağlar. Örnek verilecek olursa, tek tırnaklı hayvanlar sığır vebasına yakalanmazlar, çünkü genetik belirlenen hücre yapısı nedeniyle sığır vebasına

virüsünün tek tırnaklı hayvanların hücrelerine girememesidir. Anthraks enfeksiyonu tavuklarda hastalık oluşturmaz çünkü etken 37 °C de ürer, tavukların vücut ısısı ise 37 °C'nin üzerindedir (Relatif direnç). Doğal direnç Mekanizmaları;

- Anatomik ve Fizyolojik Bariyerler
- Kimyasal ve Biyolojik Faktörler
- Dalak işlevi
- Yaş, Beslenme, Ateş ve Akut Faz Reaktanları
- Irk ve Genetik etki
- Bakteriyel interferens ve interferon
- Enfeksiyonlara karşı duyarsızlık
- Oral tolerans
- Fagositler ( Polimorfonükleer lökositler, monosit, makrofaj, eozinofil, mast hücreleri ve bazofiller)
- Doğal öldürü (NK) hücreleri
- Fagositoz ve enflamasyon, sitokinler, kompleman sistem (Kılıçturgay, 1991; Diker, 1998).

### **Kazanılmış (Spesifik) Bağışıklık**

Konağı giren bir antijene özgü olarak konakta oluşan bağışıklıktır, konağın antijene tekrar maruz kaldığında daha hızlı ve güçlü bağışıklık olarak cevap veren sistemdir. Bu cevaba antikor ve T lenfositler aracılık eder ve bu bağışıklıktan sorumlu hücreler, özgül antijene karşı uzun vadeli belleğe sahiptir (Lewinson ve ark., 1998). Kazanılmış bağışıklık adından anlaşılacağı üzere, konakta hazır bulunmayan ve ancak belirli bir reaksiyon sonucu kazanılan bir durumdur. Lenfositler en önemli unsurlarıdır. Konağın karşılaştığı antijene özgü olarak o antijeni tanıyan ve spesifik lenfositlerin uyarımı ve aktive edilmesi ile oluşur ve elemanlarına ve sonuçlarına göre iki yolla oluşur; humoral immun yanıt ve hücrel immun yanıt Humoral immun yanıt, B lenfositlerin uyarılması ile aktive olan, antikorların

üremesi ile sonuçlanan yanıttır. Hücresel immün yanıt ise bazı T lenfositlerin uyarımı ile gelişen çeşitli efektör hücrelerin aktive edilmesi ile sonuçlanan immün yanıttır. Kazanılmış bağışıklık mikroorganizmalarla beraber, tümör hücrelerine, yabancı doku hücrelerine, gıda maddeleri ve toksinler gibi yabancı proteinlere karşı oluşan bir immün yanıttır (Diker, 1998).

Kazanılmış bağışıklık, aktif ve pasif olmak üzere iki şekilde sağlanır. Aktif bağışıklık, hastalığa neden olan patojenin direkt ( doğal enfeksiyon) alınarak (doğal aktif bağışıklık) veya bu etkenin inaktif ve zayıflatılarak yani zararsız hale getirilmesinden sonra konağa verilerek (Yapay aktif bağışıklık – Aşılama) kazanılır. Pasif bağışıklık ise anneden yavruya geçen (doğal pasif bağışıklık) bağışıklık dışında, belirli bir antijene karşı hiperimmün kılınarak başka canlıdan (at) alınan immün serumla veya immunglobülinlerin korunmak istenilen canlıya verilmesiyle (yapay pasif bağışıklık) kazandırılan bağışıklıktır (Kılıçturgay, 1991; Friedlaender, 1993).

### **Konjunktival Brusella Aşısı**

Ülkemizde yaygın olarak görülen ve yetiştiricilerimizin ekonomik kayıplarına neden olmasının yanında sürdürülebilir hayvancılığımıza da olumsuz etkiler yapan Brusella, hem hayvan sağlığını hem de halk sağlığını tehdit eden önemli bir zoonoz hastalıktır. Brusellanın kontrol ve eradikasyonu için Ülkemizde yapılan ilk çalışmalar sığırdaki "*Brucella Abortus*" için 1930 yılında başlatılmıştır. Bu kapsamda 1951 yılında Ankara Etlik Veterinerlik Bakterioloji ve Seroloji Enstitüsü bünyesinde kurulmuş olan laboratuvar, daha sonra İstanbul Pendik Veterinerlik Bakterioloji ve Seroloji Enstitüsü'ne taşınmıştır. *Brusella melitensis* laboratuvarı ise 1965 yılında kurulmuş, *Brusella melitensis* Rev.1 aşısının geniş kapsamlı üretimi 1969 yılında başlamıştır. Sadece hayvanların verimini düşürüp, sağlıklarını tehdit etmekle kalmayan, aynı zamanda insan sağlığı için de ciddi riskler oluşturan bu tehlikeli hastalıkla mücadele için "Ulusal Brusella Kontrol ve Eradikasyon Projesi" 1984 yılında uygulanmaya başlanmış ve dişi sığır yavruları ile koyun ve keçi yavrularının aşılacağı projenin 26 yılda tamamlanması hedeflenmiştir. Hastalığın yaygınlığının tespiti amacıyla 1998 yılında yapılan çalışmada Brusella fert prevalansı, sığırlarda % 1.43, koyunlarda ise % 1.97, sürü prevalansı ise sığırlarda % 11.4, koyunlarda % 15 olarak tespit edilmiştir. Bakanlığımızca uygulanan "Ulusal Brusella Kontrol ve Eradikasyon Projesi" sonrasında hastalığın sığır ve koyunlarda yaygınlığının tespiti amacıyla 2011 yılında yapılan çalışmanın ilk değerlendirmelerine göre sığırlarda Brusella sürü prevalansı % 7.8 (fert prevalansı % 2,7) ve koyunlarda Brusella sürü prevalansı % 22.5 (fert prevalansı % 3.4)

olarak tespit edilmiştir. Brusellanın eradikasyonunu sağlamış ülkelerin yaptığı çalışmalar incelendiğinde, sürü prevalansı % 1 den az olduğunda test ve kesim metodu ile kısa süreli eradikasyon programı uygulandığı, hastalık prevalansı daha yüksek olduğunda ise yapılan aşılama ile sürü prevalansın önce % 1 in altına çekildiği sonra test ve kesim metodu ile hastalığın yok edildiği görülmektedir. 2011 yılında Brusellanın yaygınlığı konusunda yapılan çalışmanın sonuçları, hastalığın eradikasyonunu sağlamış ülkelerin mücadele stratejileri çerçevesinde Bakanlığımız uzmanları tarafından değerlendirildiğinde, ülkemizde Brusella ile mücadelede kitle aşılması yapılmasının en etkili yöntem olduğuna, kitle aşılmasının ise her yaştaki hayvana güvenilir olarak uygulanabilecek konjuktival aşılama ile yapılmasına karar verilmiştir. Bu kapsamda sığırlarda 10 yıl, koyun ve keçilerde 6 yıl sürdürülecek "Brusellanın Konjuktival Aşı İle Kontrol ve Eradikasyonu Projesi'nin 01/01/2012 tarihinden itibaren başlatılması Bakanlık Makamınca uygun görülmüştür. Söz konusu proje, 03/04/2009 tarihli ve 27189 sayılı resmi gazetede yayımlanan Brusellozla Mücadele Yönetmeliği ve ekte gönderilen 31/12/2011 tarihli ve 22 sayılı Bakanlık Makam Olur'u kapsamında hazırlanan esaslar dahilinde sürdürülecektir (B.12.0.GKG.0.02.01-010.06 Sayı ve 2013/03 Nolu Genelge).

#### **Endikasyonları:**

3-6 aylık kuzu ve oğlakların bruselloza karşı aktif bağışıklanması amacı ile kullanılır. Ancak brusellosis prevalansının yüksek olduğu endemik bölgelerde tüm sürünün kitle aşılması hastalığın kontrolünde izlenecek tek yoldur. Bruselloz ile mücadele programlarında kitle aşılması öngörülüyor ise, her yaş ve cinsiyetteki koyun ve keçiler aşılanabilirler.

#### **Uygulama ve dozaj:**

Aşı kalibreli bir damlalık vasıtası ile konjuktival olarak uygulanır. Aşı şişesinin içindeki liyofilize peletin tümü ambalaj içerisinde sunulan 2 ml (50 dozluk) veya 4 ml (100 dozluk) özel boyalı steril aşı sulandırma sıvısı ile sulandırıldıktan sonra dikkatlice homojenize olması sağlanır. Bu arada köpük oluşturmamaya dikkat edilir. Peletin tamamen erimesi için birkaç dakika beklendikten sonra, sulandırılmış aşının bulunduğu şişenin ağzına kalibreli damlalığı monte edilir. Bir damla ( $40 \pm 2 \mu l$ ) aşı süspansiyonu hayvanın konjuktiva ya da konjuktival kesesine dikkatlice damlatılır. Eğer damlanın uygun olarak damlatılamadığı ya da kısmen uygulandığı düşünülüyorsa diğer

göze tekrarlanarak damlatılır. Aşılanan hayvanların 3 ay süre ile kesilmemeleri tavsiye olunur.



Şekil 3. Karayaka ırkı koyuna konjunktival *Brucella melitensis* Rev-1 aşısının uygulanması

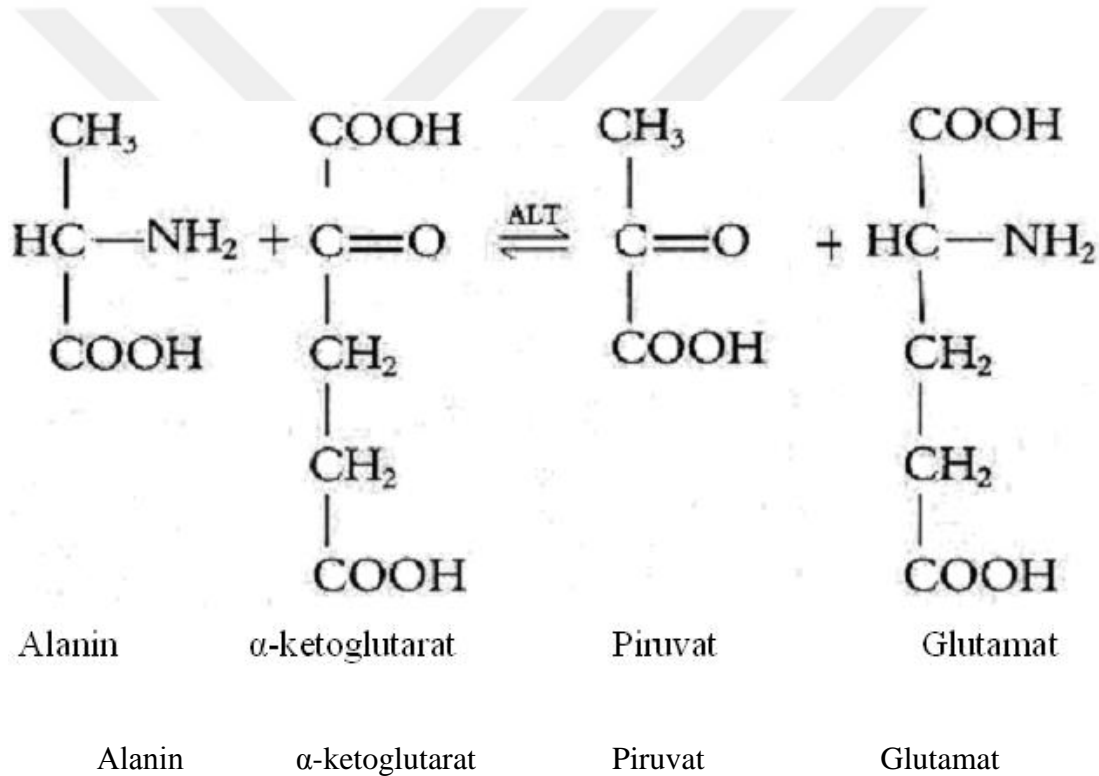
## 2.2. Serum Biyokimyasal Parametreler

Mekanik travmalar, toksik bileşikler, tedavide kullanılan ilaçlar, virüsler, bakteriler, immunolojik reaksiyonlar vücuttaki çeşitli biyokimyasal mekanizmaları etkileyerek hareket edebilmektedir (Murry ve ark., 1993). Enzimler katalizör olarak ara metabolizmada aktif olarak rol oynarlar (Mengi, 1997). Dokulardaki hücrelerden kan dolaşıma belirli düzeyde enzim geçerek dolaşımda belirli konsantrasyon da enzim bulunmakta olup çoğu enzim hayat olaylarını düzenlemekte olup bu enzimlerin düzeyleri hasarlı hücreden hücre membranındaki permeabilite artışına veya hücre nekroza bağlı olarak salınım gösterir ve bu olaylar seruma enzimlerin geçişini artırarak serumdaki düzeylerinin yükselmesine yol açar (Bogin, 1988; Turgut, 1995). AST, ALT, ALP, LDH gibi enzimlerin total protein, albumin gibi proteinlerin

serumda değişik düzeyde bulunması genellikle doku ve organlardaki bazı patolojik değişikliklerin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Kramer, 1989; Turgut, 1995).

### 2.2.1 Serum transferaz enzimleri

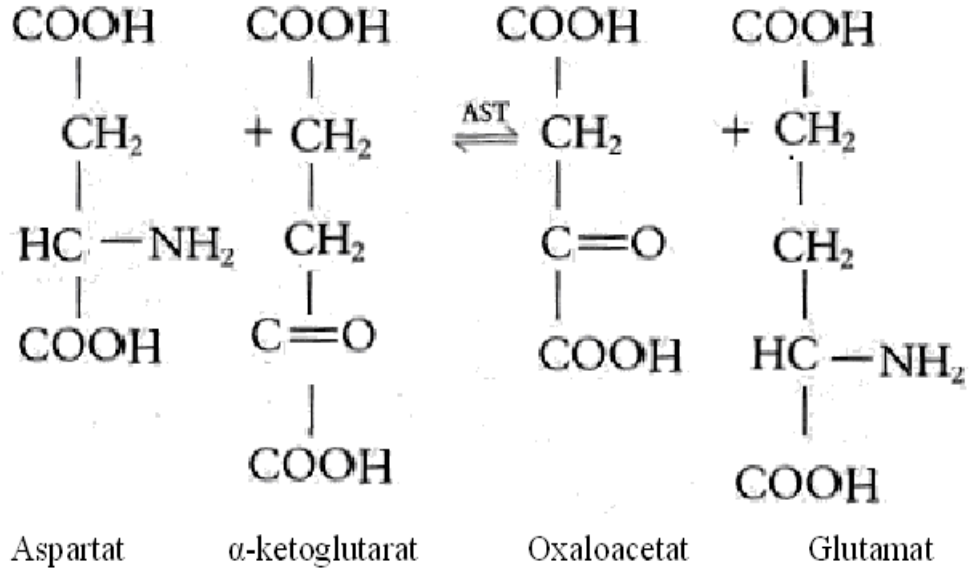
Serumda iki önemli transferaz enzimi alaninaminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) bulunmaktadır. Alanin aminotransferaz (ALT) enziminin mitokondriyel ve sitozolik kaynaklı olmak üzere iki formu bilinmektedir. ALT karaciğer ve böbrek dokusunda yaygın olarak bulunmasına rağmen kalp ve iskelet kasında ise daha az oranda bulunmaktadır. ALT total miktarının % 8-15'i mitokondride geri kalanı ise sitozolde bulunmakta olup; bu oran türler arasında farklılık göstermektedir (De Rosa ve Swick, 1975; Katunuma ve ark., 1962; Swick ve ark., 1965).



Şekil 4. Amino asit transaminasyonu ( Sözbilir ve Bayşu, 2008'dan)

AST iskelet kas sisteminde, kalp kasında, beyinde ve az miktarda da böbrekte bulunmakta olup; burada oluşan bir hasarda AST miktarı yükselebilmektedir (Altıntaş ve Fidancı, 1993; Roussel ve ark., 1970). Karaciğerde ALT enziminin düzeyi serumdan 3000 kat, AST aktivitesi ise 7000 kat daha fazladır. Hepatositlerde bulunan AST enziminin %80'i mitokondride ve %20'si ise sitozolde bulunur (Lott ve Wolf, 1986).



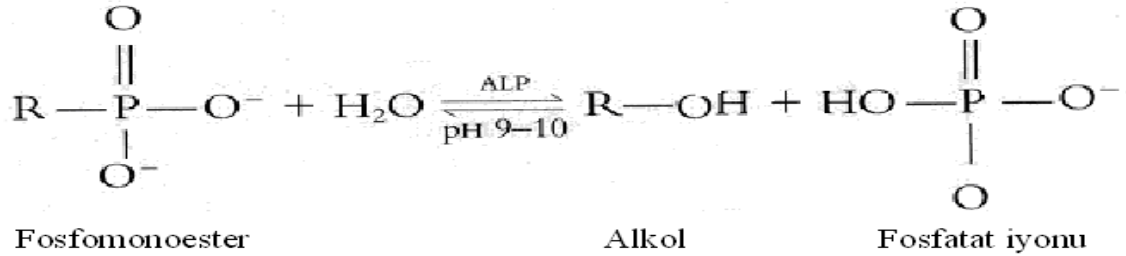


Şekil 5. Amino asit transaminasyonu (Sözbilir ve Bayşu'dan 2008)

### 2.2.2 Alkalen fosfataz

Alkalen fosfataz (ALP) merkezinde serin içermekte olan bir metalloenzimdir. ALP ortofosforik asidin fikzasyonu ve ayrılması ile olup fosfataz aktivitesine sahiptir. Optimum pH'sı 9.2 -9.6 arasında olup, kıkırdak ve damar tunikaları hariç bütün dokularda değişen aktivitelere bulunur (Latner, 1975). ALP plasentada, safra kesesinde ve kemik dokusunda yüksek yoğunlukta bulunur. ALP'nin başlıca temel fonksiyonu maddelerin hücre zarından geçişini kolaylaştırmak, lipit transportu ile kemik sentezini gerçekleştirmektir.

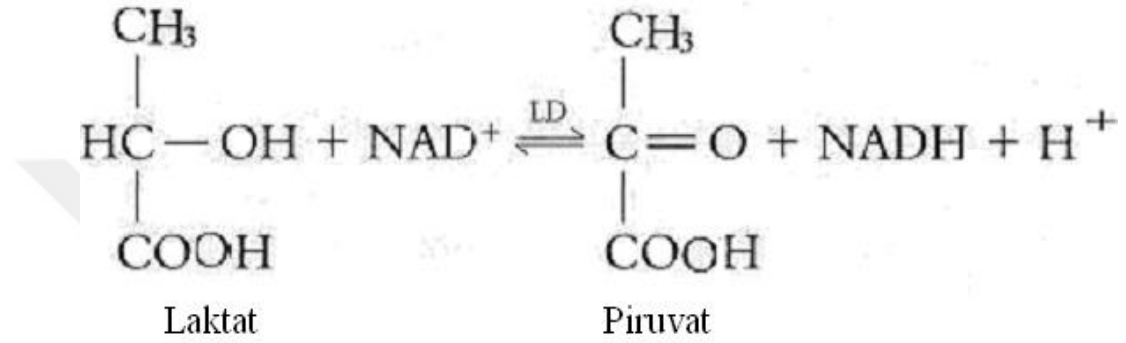
Histokimyasal yöntemde ALP'nin karaciğerde safra kanaliküllerinin mikrovilluslarında ve hepatositlerin de sinüzoidal yüzeyde bulunduğu bildirilmiştir (Rosalki ve McIntyre, 1999).



Şekil 6. ALP fosfomonoester'den fosfat iyonu ve alkol oluşturması (Sözbilir ve Bayşu'dan 2008)

### 2.2.3. Laktat dehidrogenaz

Laktat dehidrogenaz laktat ve pürivatın birbirine dönüşmesini katalize eden bir enzim olup  $\text{NAD}^{+}$ 'a ihtiyaç duyulur. Glikolitik yolun önemli bir enzimi olup tüm hücrelerin sitoplazmasında bulunur. Kalp, karaciğer, kas, akciğer ve kan hücrelerinde en yüksek oranda bulunmakta olup, buradaki hastalıkların teşhisinde bakılır. Ancak enzimin düzeyinin yüksek olması durumunda diğer enzimlere bakılarak yorumlanması gerekir (Sözbilir ve Bayşu, 2008).



Şekil 7. Laktat'ın piruvata dönüşmesi (Sözbilir ve Bayşu'den 2008)

### 2.2.4. Serum proteinleri

Kan plazmasındaki erimiş halde bulunan katı maddelerin büyük çoğunluğunu proteinler oluşturmaktadır. Toplam proteinin büyük çoğunluğunu albumin oluşturmak olup bu yaklaşık 3.5-5.0 g/dl kadardır, globülinler ise toplam plazmanın 2.5-3.2 g/dl kadarını oluşturan proteinleridir (Altınışık, 2008).

$$\% \text{ g toplam protein} = \% \text{ g toplam albumin} + \% \text{ g toplam globulin}$$

### 2.2.5. Total protein

Farklı yöntemler kullanılarak kan plazmasında 300 farklı protein varlığı ortaya konulmuştur. Bu proteinlerin bazıları sadece bazı fizyolojik veya patolojik durumlarda plazmada bulunurlar. Normalde intrasellüler sıvılarda bulunan bazı çözünen proteinler, hücre hasarı olduğunda hücre dışı ve damar içi sıvılara geçebilirler. Proteinler, fonksiyonel görevlerinin yanında dokular için besin kaynağı olarak da görev yapabilirler (Altınışık, 2008).

### 2.2.6. Albumin

Memeli hayvanların kan plazmasında ( toplam plazma proteininin 3/2'si) en yaygın bulunan proteindir ve %60'ını oluşturmaktadır. Çeşitli doku sıvılarında (ter, gözyaşı, mide suları v.b. ) bulunur ve kılcal damarlardan çevre dokulara aşırı sıvı geçişini önlerken yağ asidi ve çeşitli başka maddeleri kanda taşınmasında (genel nakledici, taşıyıcı protein) görev yaparlar. Kanda pek çok ilaç albumine bağlı olarak taşınır ve ayrıca plazma kalsiyumunun bir kısmı albumine bağlı olarak bulunur. Tiroksin ve lipidler erimiş halde albumin tarafından taşınır. Zehirli maddeleri karaciğere taşırken, besin maddeleri ve hormonları, vücutta gerekli ihtiyaç bölgelerine götürmektedir. Albumin toplam plazma proteinleri içerisinde at ve sığır hariç diğer türlerde oranı en yüksek olan proteindir. Albumin, yüksek kan düzeyine rağmen damar dışı sıvılarda çok az miktarda bulunur ( Zunszain ve ark., 2003; Kaneko, 1997).

Albumin karaciğerde sentezlenir, yarı ömrü 19 gündür, yıkımının büyük oranda böbreklerde gerçekleşmektedir. Vücutta su kaybı albuminin yükselmesine neden olur, idrarla atılırlar. Düşük albumin sonucunda damarlardaki sıvı dokulara geçerek ödeme neden olur. Vücutta sürekli var olan sentez, salgılanma ve yıkımlanma olaylarının arasındaki dengeyi damar içi sıvının albumin düzeyi sağlamaktadır (Hill, 1985). Albumin aynı zamanda hücre içinde yıkımlanarak diğer proteinlerin sentezi için amino asit deposu olarak görev yapmaktadır (McPherson, 1991).

### 2.2.7. Globülin

Globülin molekül ağırlığı yüksek olan, sodyum klorür, sodyum sülfat, magnezyum sülfat gibi elektrolit içeren, zayıf tuzlu solüsyonlarda çözünün bir proteindir. Kanda 32 g olan globülin, yumurta ve sütte de bulunur. Çeşitli metotlarla (ultrasantrifüj, elektroforez) alfa, beta ve gama olmak üzere bölümlere ayrılır (Turgut, 1995).

Albumin ve globülin ( $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2, \gamma$ ) proteinleri kandaki en önemli protein fraksiyonları olup (Dukes, 1993; Turgut, 1995), kandaki düzeyleri çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlara bağlı olarak değişebilmektedir (Batamuzi ve ark. 1996; Yoshida, 1991). Albumin total proteinin %35-50'ini oluşturan serumda en fazla bulunan proteindir. Albumin ozmotik basıncın düzenlenmesinde önemli görevi bulunmakta olup ayrıca taşıma ve kendine bağlama gibi önemli özellikleri bulunmaktadır (Dukes, 1993; Turgut, 1995; Kaneko ve ark., 1997; Karagül ve ark., 2000). Globulin proteini lenfotik

dokularda üretilmekte olup yapısının büyük çoğunluğunu immunoglobulinler oluşturmaktadır (Russel ve Roussel, 2007).

Globülinler başlıca karaciğerde sentezlenir. Serum globülinleri, başlıca  $\alpha$ -globülinler,  $\beta$ - globülinler ve  $\gamma$ - globülinler olmak üzere üç ana sınıfa ayrılır. Ancak bütün bu sınıflar homojen değildir (Kaneko ve ark., 1997).  $\alpha$ (alfa) - globülinler;  $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2, ( $\alpha$ - lipoproteinler (HDL),  $\alpha$ 1 gibi göç ederler ve pre-  $\beta$ - lipoproteinler (VLDL),  $\alpha$ 2 pozisyonunda göç ederler.  $\alpha$ 2- globülinler nefrotik sendromlarda artar.  $\alpha$ 2-makroglobülinler  $\beta$ - lipoproteinleri (LDL) kapsar, haptoglobülin, seruloplazmin ve amiloid-A önemli akut faz proteinleridir.  $\beta$  (beta) - globülinler;  $\beta$ -1 ve  $\beta$ -2, (Evcil hayvanlarda bu proteinlerin önemli parçaları komplement (C3, C4), transferin, ferritin ve C-reaktif proteinleri içerir. Fibrinojen  $\beta$ 2 bölgesine yavaş göçen önemli bir akut faz proteindir.  $\gamma$  (gama) - globulinler;  $\gamma$ -1 ve  $\gamma$ -2 alt sınıflarına ayrılırlar. İmmunoglobulinler iki ağır, iki hafif zincir içeren glikoproteinlerdir. Hayvanlarda çeşitli immunoglobulinler (IgA, IgM ve IgE) bulunur (Kaneko ve ark., 1997).

Geçmişte aşı uygulaması derialtı olarak uygulanmakta iken Ulusal Bruselloz Kontrol Programı kapsamında günümüzde konjunktival aşı uygulanmaktadır. Geçmişte uygulanan derialtı aşılama sonrası biyokimyasal parametrelerin ve antikor yanıtlarının değişimi belirli iken, konjunktival aşılama sonrasında bu parametrelerin değişimi hakkında kesin bilgi bulunmamaktadır. Dolayısı ile hastalığın teşhisinde antikor yanıtının belirlenmesine yönelik kan testleri geçerliliğini kaybetmiştir. Teşhiste tek kriter olarak ta etkenin izolasyonu ve identifiye edilmesi kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda daha çok bu açıdan araştırılmış olup yapılan konjunktival aşılamanın koyunlardaki bazı biyokimyasal kan parametre düzeylerine etkisi araştırılmamıştır. Bu çalışmada Brusellozisten korunmak için aktif bağışıklık sağlayan *B. melitensis* Rev.1 konjunktival aşısının Karayaka koyunlarının kanındaki glukoz, total protein, albumin, ALT, ALP, AST, LDH gibi biyokimyasal parametre düzeylerinin aşılamaya bağlı olarak değişiminin araştırılması amaçlanmıştır.

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. MATERYAL**

##### **3.1.1. Hayvan materyali**

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nin Yerel 'Etik Kurul Kararı'(2013/44)uyarınca alınan Etik Kurul Kararı esaslarına uygun olarak yürütülmüştür.

Çalışmada aşı yapılmamış olduğu bilinen 30 adet 5 aylık dişi Karayaka ırkı koyun hayvan materyali olarak kullanıldı.

##### **3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler**

Analizlerde Autolab (AMS Srl, Autoanalyzer, Netherlands) Otoanalizörü, Nüve santrifüj, Nichipet EX ve Isolab otomatik pipetleri kullanılmıştır. Spektrofotometre (Thermo Scientific™ GENESYS 10S UV-Vis), ELISA okuyucu (DAS) ve Audict marka analizör kitleri kullanılmıştır.

#### **3.2. METOT**

##### **3.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Uygulamalar**

Çalışmada aşı yapılmamış olduğu bilinen 30 adet 5 aylık dişi Karayaka ırkı koyun kullanıldı.

Araştırma için gerekli koyunlar Amasya ili, Taşova ilçesi, Güvendik köyünden temin edilmiştir. Çalışma 5 gruptan oluşmaktadır. Kontrol grubunu aşısız 30 adet 5 aylık dişi Karayaka ırkı koyundan aşılama öncesi Vena Jugularis'ten alınan kanlar Grup 1(AÖ) kontrol grubunu oluşturdu.

##### **3.2.2. Doz**

Deneme gruplarını ise kontrol grubu için kan alındıktan sonra konjunktival olarak 1 doz (40µl) aşılanan hayvanlar oluşturdu. Liyofilize olarak temin edilen aşı Patent Blue V ile renklendirilmiş sulandırma sıvısı ile eritilerek homojenize edildi. Sulandırılmış aşının bulunduğu şişeye damlalık monte edilerek 5 aylık dişi kuzulara 40±2 µl (1damla) olarak uygulandı. Aşılama sonrasında 4 ay boyunca her ay Vena Jugularis'ten kan alındı.

**Tablo 1.** Liyofilize Brudoll-M konjunktival koyun ve keçilerin brusellozis'ine karşı hazırlanmış liyofilize *Brucella melitensis* Rev-1 göz damla aşısının kompozisyonu

Attenüe <i>Brucella melitensis</i>	Rev.1 0.5 – 2 X 10 <sup>9</sup> CFU/doz
Enzymatic digest of Protein/Casein	0,8mg/doz
Sukroz	1,6mg/doz
Sodyum glutamate	0,32mg/doz
HEPES	0,01mmol/doz

Aşılamayı takiben 1 ay sonra alınan kan 2. Deneme grubunu Grup 2(AS1), aşılamayı takiben 2 ay sonra alınan kan 3. Deneme grubunu Grup 3(AS2), aşılamayı takiben 3 ay sonra alınan kan 4. Deneme grubunu Grup 4 (AS3), aşılamayı takiben 4 ay sonra alınan kan 5. Deneme grubunu Grup 5 (AS4) oluşturdu.

Testlerde kullanılacak olan serumların eldesi amacıyla, antikoagülsüz tüplere alınan kan örnekleri 1550 g devirde ve +4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki berrak kan serumu plastik viyallere alınarak analizler yapılincaya kadar -80°C'de muhafaza edildi.

### 3.2.3. Biyokimyasal Analizlerin Yapılışı ve Prensipleri

Koyunlarda ALP, ALT, AST, LDH, glukoz, total protein ve albumin düzeyleri serumda biyokimya otoanalizöründe (Autolab, AMS srl, Aotuanalyzer, Netherlands) ticari otoanalizör test kitleri (Audit Diagnostics, Ireland) kullanılarak ölçüldü.

Ölçümlerden önce genel kalibratör kullanılarak (AD983) cihaz kalibre edildi. Liyofilize halinde olan kalibratör +20-25°C arasındaki ısıda 5 ml distile su ilave edilerek çözüldü. Otoanalizör cihazında örnek olarak konularak biyokimyasal parametreler okundu ve kalibratörün belirttiği aralıkta olup olmadığı kontrol edildi.

### Albumin düzeyinin belirlenmesi

Serumda albumin miktarı AD306 TP kitine kullanılarak otoanalizör cihazında ölçüldü.

### Testin Prensiibi

Serumda albumin düzeyi ölçümü kantitatif olarak 3,3',5,5'-tetrabraom, kresol sülfonftlalein (BCG) bağlanma esasına dayanmaktadır (Grant ve Kachmar, 1976).

pH 4.1

Albumin+BCG → Abumin BCG kompleksi

### **Kullanılan Reaktifler**

R1: Çözelti, pH 4.0 75 mmol/L  
Bromokresol gren 0.17 mmol/L

### **Yapılışı**

Deneme grubundaki her bir serumun 10 µL'si, 1000 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı ve 5 dakika inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 600 nm dalga boyunda ölçüldü.

### **Total protein düzeyinin belirlenmesi**

Serumda total protein miktarı AD306 TP kiti kullanılarak otoanalizör cihazında (Autolab, AMS srl, Aotuanalyzer, Netherlands) ölçüldü.

### **Testin Prensibi**

Protein düzeyi bakır sülfatın iki ya da daha fazla peptit bağı taşıyan maddelerle alkali ortamda reaksiyona girerek menekşe renkli kompleks oluşturması esasına dayanan yöntem kullanılarak belirlendi (Weichselbaum, 1964; Henry ve ark., 1974).

Alkalen solüsyonu

Protein+Cu<sub>2</sub> → Renkli kompleks

### **Kullanılan Reaktifler**

R1: Potasyum sodyum tartarat 25.5mmol/L  
Potasyum iyodid 30 mmol/L  
Kuprik sülfat 6 mmol/L  
NaOH 100 mmol/L

### Yapılışı

Deneme grubundaki her bir serumun 20µL'si, 1000µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı ve 10 dakika inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 1saat içinde 550 nm dalga boyunda ölçüldü.

Sonuçlar gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

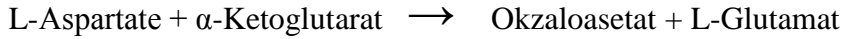
### Aspartat aminotransferaz düzeyinin belirlenmesi

Aspartat aminotransferaz düzeyinin kantitatif ölçümünde International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) metodu kullanıldı (Stein,1985).

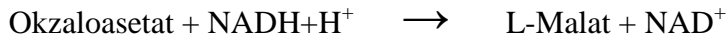
### Testin Prensipli

Aspartat amino transferaz aktivitesinin kinetik olarak saptanması: Bu metot örneklerin ön inkubasyonu için L-Aspartat, MDH ve LDH içeren Tris (hydroxymethyl) aminomethan tampon solusyonu ile olmaktadır. Bu reaksiyona NADH eklenerek kinetik ölçüm yapılmıştır. AST aktivitesi tükenen NADH miktarı ile orantılı olarak gerçekleşmektedir.

AST



MDH



MDH = Malat dehidrojenaz.

Oluşan okzaloasetat, alkali ortamda 2,4 difenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk şiddeti AST aktivitesi ile doğru orantılıdır.

### Kullanılan Reaktifler

R1:	Tris buffer, pH 7.8	100 mmol/L
	L-Aspartat	330 mmol/L
	LDH	≥ 750 U/L
	MDH	≥ 530 U/L
R2:	α-Ketoglutarat	75 mmol/L
	NADH	0.23 mmol/L



### **Yapılışı**

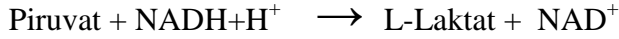
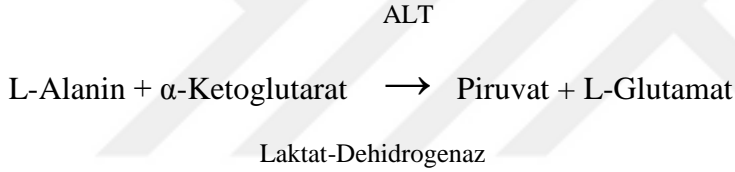
Serumda AST aktivitesi ADM107 katalog no'lu kit kullanılarak belirlendi. Deneme grubunun serumunun 20 µL'si, 200 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı ve 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 340 nm dalga boyunda ölçüldü.

### **Alanin aminotransferaz düzeyinin belirlenmesi**

Ölçümler Autolab (Audit Diagnostics, Ireland) marka kit ile otoanalizör kullanılarak yapılmıştır. Bu işlem, IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) metodu kullanılan kinetik bir yöntemdir (Bergmeyer ve ark, 1978).

### **Testin Prensipleri**

Alanin aminotransferaz aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesinde;



ALT etkisiyle alanin, α-Ketoglutarik asitle reaksiyona girer ve piruvat ile L-glutamata verir. Oluşan piruvat, alkali ortamda 2,4 dinitrofenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk siddeti ALT aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Serumda ALT aktivitesi Audit marka, ADM108 katalog no'lu kit kullanılarak belirlendi.

### **Kullanılan Reaktifler**

R1:	Tris buffer, pH 7.8	125 mmol/L
	L-Alanin	625 mmol/L
	LDH	1500 U/L
R2:	α-Ketoglutarat	94 mmol/L
	NADH	0.23 mmol/L

### **Yapılışı**

Numune serumunun 20 µL'si, 200 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı, 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 340nm dalga boyu otoanalizörde ölçüldü.

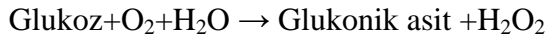
### **Serumda Glukoz düzeyinin belirlenmesi**

Serumda glukoz düzeyi otoanalizör cihazında ADM208 katalog no'lu kit kullanılarak belirlendi.

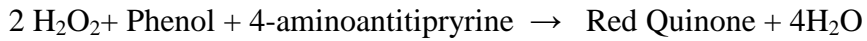
### **Testin Prensibi**

Glukoz hidrojen peroksit ve glukonik asite oksitlenebilen bir bileşiktir. Hidrojen peroksit ise fenol ve 4-aminoantipyrin içinde red quinone dönüşmekte olup, reaksiyon spektrofotometrik olarak 500 nm'de okunarak ölçülmektedir. Red quinone renginin yoğunluğu serum içindeki glukoz konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Stein 1985).

Glukoz-Oksidaz



Peroksidaz



Oluşan kırmızı renkli kinon bileşikleri fotometrik olarak ölçülür.

### **Kullanılan Reaktifler**

R1:	Fosfat buffer, pH 7.5	100 mmol/L
	4-Aminoantipirin	0.3 mmol/L
	Fenol	1 mmol/L
	Peroksidaz	> 1000 mmol/L
	Glukoz oksidaz	≥ 2000 U/L

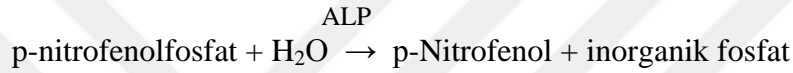
### **Yapılışı**

Numune serum, çalışma reaktifi ile karıştırıldı, 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 500 nm dalga boyu otoanalizörde ölçüldü.

### **Serumda Alkalen fosfataz düzeyinin belirlenmesi**

Serumda Alkalen fosfataz düzeyi otoanalizör cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntem, enzimatik metodun kullanıldığı kinetik bir yöntemdir (Klin, 1972).

### **Testin prensibi**



Serumda alkalen fosfataz (ALP) belirli koşullar altında fosfat esterlerinin hidroliz değerlerinin ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Alkalen fosfatazın, fosfat esterlerini alkali ortamda hidroliz eder. Serum alkali pH'da  $\beta$ -gliserofosfat, fenolfitaleynfosfat veya para-nitrofenolfosfat gibi substratlar ile reaksiyona sokulur. Para-nitrofenolfosfat en sık kullanılan substrattır. Meydana gelen renkli p-nitrofenol bileşiği 405 nm'de fotometrik olarak ölçülür.

Serumda alkali pH'da German Society for Clinical Chemistry (DGKC)'nin bildirdiği metot ile (Audict marka ticari kit ; ADM203) otoanalizörde ölçüldü (German Society for Clinical Chemistry, 1972).

### **Kullanılan reaktifler**

R1:	Dietanolamin buffer, pH 10.2	1.25 mol/L
	Magnezyum klorid	0.51 mmol/L
R2:	p-Nitrofenilfosfat	61 mmol/L

Çalışma çözeltisi, 4ml R1 reaktifi içerisine 1ml R2 reaktifi karıştırılarak hazırlanır.

### **Yapılışı**

Numune serumunun 5 µL'si, 250 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı ve 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 75 saniye içinde dalga boyu 405 nm ölçüldü.

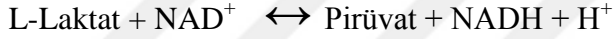
### **Serumda Laktat dehidrogenaz düzeyinin belirlenmesi**

LDH düzeyleri Uluslararası Klinik Kimya Federasyonun (IFCC) tavsiye ettiği metot doğrultusunda LDH0102 otoanalizör kiti kullanılarak belirlendi (Schumann ve ark. 2002).

### **Testin prensibi**

Yöntem, Laktat dehidrogenaz katalizörlüğünde Laktat'ın pürivata dönüşmesi esasına dayanmaktadır. β-nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) NADH dönüşerek yükseltgenmektedir.

LDH



### **Kullanılan reaktifler**

R1:	Tris buffer	50 mmol/L
	L-Laktat	5 mmol/L
R2:	NAD <sup>+</sup>	7 mmol/L

### **Yapılışı**

Numune serumunun 100 µL'si, 2400 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı, 1-2 dakika inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 3 dakikada içinde 340 nm dalga boyunda otoanalizörde ölçüldü.

### **3.3. Serolojik Analiz**

Aşı öncesi ve aşı sonrası 1, 2, 3 ve 4 aylarda alınan kanlardan elde edilen serumlara Rose Bengal (RB) Pleyt Test ve Standart Tüp Aglutinasyon (SAT) testleri uygulandı. Rose Bengal pleyt test ile serumda *Brucella* spp. spesifik antikor varlığı ve standart tüp aglutinasyon testi ile de spesifik antikor titreleri belirlendi.

Rose Bengal Pleyt Test Antijeni, aglütinasyon yeteneği standart anti-brusella abortus serumla standardize edilmiş, *B.abortus* S99 suşu ile hazırlanmış Rose-Bengal ile boyanmış ölü bakteri içeren bir süspansiyondur. Test için serum örnekleri beyaz zemine sahip fayans üzerine 1 damla olmak üzere damlatıldı. Üzerine de 1 damla RB antijeni damlatıldı. Kürdan kullanılarak serum ve antijenin karışması sağlandı. Sonrasında ise 4 dk içinde antijen antikor reaksiyonuna bağlı iri taneli kümeleşmelerin gözlenmesi pozitif, şeffaf renkli bir görünüm negatif olarak değerlendirildi.

Standart Tüp Aglütinasyon (SAT) (Wright) Test Antijeni, *B. abortus* S99 suşu ile hazırlanmış, standart Anti-Brusella abortus serum ile standardize edilmiş, smooth Brusella enfeksiyonlarının (*B.abortus*, *B.melitensis* ve *B.suis*) teşhisinde kullanılan ölü antijeni içermektedir. Test için 96 kuyucuklu mikroplyetler kullanıldı. Tüm kuyucuklara 50 mikrolitre FTS konuldu. İlk kuyucuğa 50 mikrolitre serum konularak karıştırıldı. İlk kuyucuktan ikincisine 50 mikrolitre aktararak karıştırıldı. Bu işlem sekizinci kuyucuğa kadar devam ettirilerek “iki katlı serum dilüsyonları” elde edildi. Yedinci kuyucuktan da 50 mikrolitre dışarıya atıldı. Böylece 1/2 ile 1/128 arasında serum dilüsyonları hazırlandı. Sekizinci tüpe negatif kontrol serumu konuldu. Tüm kuyucuklara 50 mikrolitre boyasız *Brucella* SAT antijeni eklendi. Böylece 1/4-1/256 son dilüsyonlar elde edildi. Pleyt bir süre çalkalanarak serum ve antijenin karışması sağlandı. 37°C lik etüvde 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda pleyt gözünün dibinde dantela tarzındaki oluşum pozitif ve düğme tarzı görünüm ise negatif reaksiyon olarak değerlendirildi. Pozitif reaksiyon gösteren son gözün sulandırması da titre olarak belirlendi (Bilgehan, 2000).

### **3.4. İstatistiksel Değerlendirme**

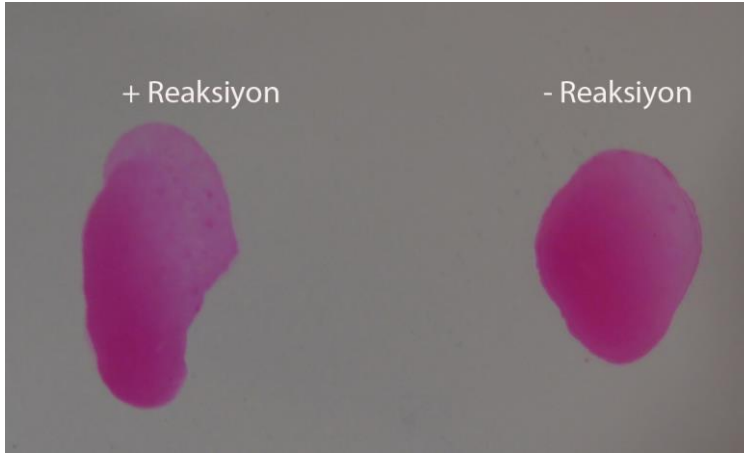
Koyunlarda aşı öncesi ve sonrası (1-4 ay) antikor titre düzeyleri, ALP, ALT, AST, LDH, glukoz, total protein ve albumin düzeylerinin ortalama ± standart sapmaları belirlendi. Anova Analizini takiben kontrol grubunu diğer deneme grupları ile karşılaştırmada Duncan's testi kullanıldı. Grup içinde incelenen parametreler arasındaki ilişkileri saptamada Pearson korelasyon analizi uygulandı. Tüm istatistik analizler için SPSS programı (version 21, IBM Corp., Armonk, NY) kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

Çalışmada 30 adet aşısız dişi Karayaka ırkı koyun kullanılmıştır. Aşı öncesi alınan kanlar kontrol grubunu oluşturmuş ve aşı sonrasında her ay olmak üzere 4 defa alınan kanlarda deneme gruplarını oluşturmuştur.

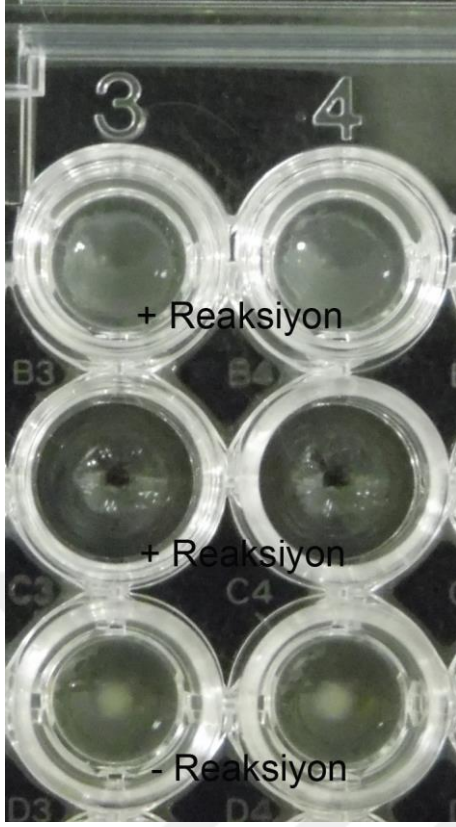
##### 4.1. Serolojik Analiz Sonuçları

Rose bengal pleyt testlerinin değerlendirilmesi sonucunda aşı öncesi alınan kanlara ait serumların tümünün negatif olduğu ve deneme gruplarına ait 120 adet serumun ise pozitif reaksiyon verdiği görüldü (Şekil 8).

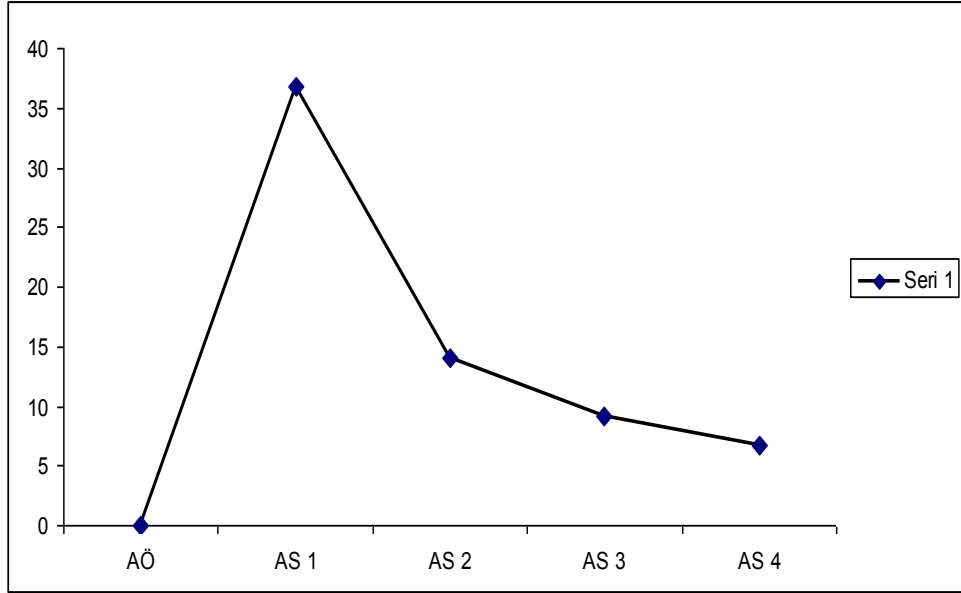


Şekil 8. RBPT sonucunda + ve - reaksiyonlar

Rose bengal pleyt test sonucu pozitif reaksiyon görülen 120 adet seruma yapılan SAT sonucunda serum antikor titreleri belirlenmiştir (Şekil 8).



Şekil 9. STA sonucunda + ve - reaksiyonlar



Şekil 10. RBPT sonucunda değerlendirilen serumların SAT sonuçları. (AÖ: Aşı öncesi, AS1: Aşı sonrası 1 ay, AS 2: Aşı sonrası 2 ay, AS3: Aşı sonrası 3 ay, AS4: Aşı sonrası 4 ay)

RBPT sonucunda değerlendirilen serumların SAT sonuçlarında aşı sonrasında 1. ayda aşı öncesine göre önemli düzeyde antikor titresinin artışı ( $P<0.001$ ), 2. aydan itibaren ise düşmeye başladığı belirlendi.

#### 4. 2. Biyokimyasal Parametre Sonuçları

Antikor titre düzeyleri, ALP, ALT, AST, LDH, glukoz, total protein ve albumin düzeylerinin ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri Tablo 2, Tablo 3 ve Şekil 11’te sunulmuştur.

Serumda transamilaz enzimlerinden ALT enzim düzeyindeki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ( $P>0.05$ ). AST enzim düzeyinin ise aşılamaı takiben ilk 2. ayda artma eğiliminde olduğu ama bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı ( $P>0.05$ ); 3. aydan itibaren düşmeye başladığı ve 4. ayda görülen düşmenin diğer aylara göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ) (Tablo 2, Tablo 3 ve Şekil 11).

LDH enzim düzeyinin aşılamaıdan sonra arttığı bunun istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P<0.05$ ); aşı sonrası 3 ve 4 aylarda ise tekrar düşmeye başladığı ve bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ( $P>0.05$ ) (Tablo 3, Tablo 4 ve Şekil 11).

Glukoz düzeyinin ise aşılamaıdan sonra hafif artma eğiliminde olduğu; 2, 3 ve 4 aylarda tekrar düşmeye başladığı belirlendi ( $P<0.05$ ) (Tablo 3, Tablo 4 ve Şekil 11).

ALP enzim düzeyi de aşı sonra azaldığı ( $P<0.05$ ), sonrası tekrar artmaya başladığı belirlendi (Tablo 3, Tablo 4 ve Şekil 8).

Total protein düzeyi aşı sonrası kontrol grubuna göre arttığı belirlendi ( $P<0.05$ ). Albumin düzeyinin ise aşı sonrası düştüğü belirlendi ( $P<0.05$ ) (Tablo 3, Tablo 4 ve Şekil 8).

ALT enzim düzeyi ile AST( $r=0,202^*$ ), glukoz ( $r=0,167^*$ ), total protein ( $r=0,237^{**}$ ) ve ALP( $r=0,166^*$ ) enzim düzeyleri arasında önemli ölçüde pozitif bir korelasyon olduğu belirlendi.

AST enzim düzeyi ile albümin ( $r=0,400^{**}$ ), total protein ( $r=0,253^{**}$ ) düzeyleri arasında önemli ölçüde pozitif bir korelasyon olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).

Albümin düzeyi ile total protein arasında ( $r=0,411^{**}$ ) ve ALP arasında ( $r=0,180^*$ ) pozitif korelasyon olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).



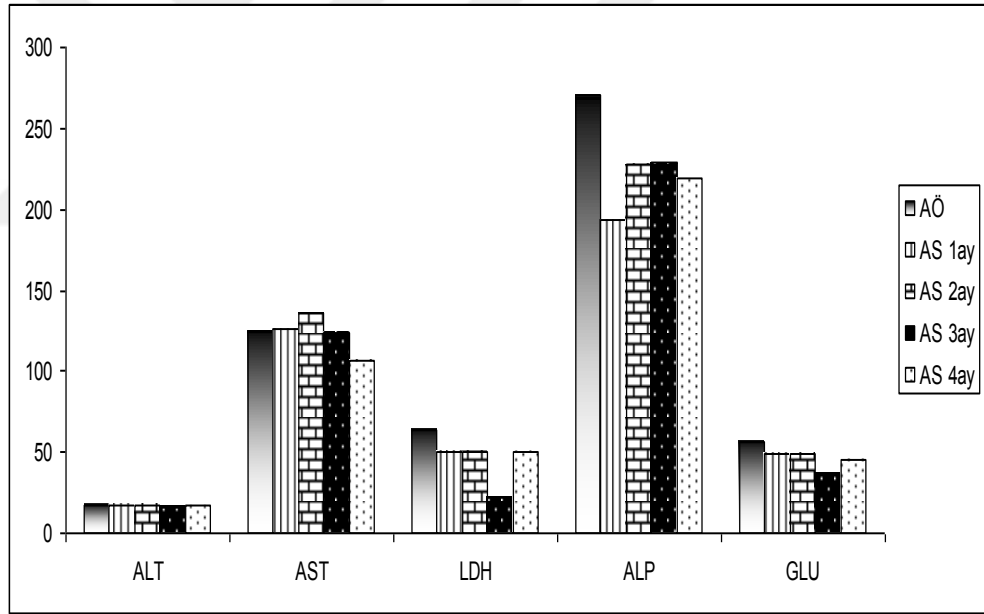
**Tablo 2.** Serumda ölçülen aşı öncesi (AÖ), aşı sonrası (AS 1ay, 2ay, 3ay, 4ay) aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi ve glukoz (GLU), total protein (TP), albumin (ALB) düzeylerinin ortalama  $\pm$ standart deviation (SD)

	AÖ	AS 1ay	AS 2ay	AS 3ay	AS 4ay	P
ALT(U/ml)	17,43 $\pm$ 6.6 a	17,16 $\pm$ 6,21 a	17,73 $\pm$ 5,6 a	17,53 $\pm$ 9,3a	16,93 $\pm$ 6.3a	0,602
AST(U/ml)	125,43 $\pm$ 22.23 a	126,46 $\pm$ 32.18 a	135,40 $\pm$ 27.85 a	123,53 $\pm$ 35.9 a	106,83 $\pm$ 24.72 b	0,447
LDH(U/ml)	30,36 $\pm$ 21.15ab	48,28 $\pm$ 24.16 c	24,55 $\pm$ 17.14a	22,13 $\pm$ 16.25a	36.62 $\pm$ 19.88 b	0,078
GLU(mg/dl)	53,16 $\pm$ 8.22 ab	56,66 $\pm$ 14,52 b	49,07 $\pm$ 13,60ac	43,84 $\pm$ 13,62 c	45,53 $\pm$ 7,69 c	0,1
ALP(U/ml)	270,4 $\pm$ 91,7a	187,93 $\pm$ 73,59 b	217,65 $\pm$ 75,13 bc	244,42 $\pm$ 136,79 ac	219,76 $\pm$ 73,64bc	0,004
TP (mg/dl)	6,45 $\pm$ 1,37 a	7,1 $\pm$ 0,96b	7,34 $\pm$ 1,12 b	6,95 $\pm$ 0,59ab	7,29 $\pm$ 0,93 b	0,082
ALB(mg/dl)	3,64 $\pm$ 0.36ab	3,42 $\pm$ 0.35 c	3,81 $\pm$ 0.39b	3,58 $\pm$ 0.3 ac	3,47 $\pm$ 0.32 ac	0,716
STA	0 a	36,86 c	14,08 b	9,2 b	6,66 ab	0,001

a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arası farklar önemli (P<0.05)

**Tablo 3.** Serumda ölçülen aşı öncesi (AÖ), aşı sonrası aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi ve glukoz (GLU), total protein (TP), albumin (ALB) düzeyleri arasındaki korelasyon ilişkisi

	ALT	AST	LDH	ALB	GLU	TP	ALP
ALT	1	0,202*	-0,08	0,109	0,167*	0,237**	0,166*
AST		1	0,015	0,400**	0,021	0,253**	0,106
LDH			1	-0,057	0,090	-0,069	-0,034
ALB				1	0,126	0,411**	0,180*
GLU					1	0,101	-0,015
TP						1	0,014
ALP							1



**Şekil 11.** Serumda ölçülen aşı öncesi (AÖ), aşı sonrası (AS 1ay, 2ay, 3ay, 4ay) aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi ve glukoz (GLU) düzeylerinin ortalaması

## 5. TARTIŞMA

*Brucella* cinsine ait olan bakteri türleri hem evcil hem de vahşi hayvanlarda hastalığa neden olmaktadır. Hastalık, ülkemizde olduğu gibi dünyada da sığır ve koyun yetiştiriciliği yapılan ülkelerde yaygın olarak görülmekte olup; hem hayvan sağlığını hem de halk sağlığını tehdit eden en önemli zoonozlardan birisi olarak kabul edilmektedir (Hoover ve Friedlander, 1997; Aydın, 2006; Selem ve ark., 2009; Godfroid ve ark., 2011; Office International des Epizooties, 2009). Koyun ve keçi Brusellozisi dişi hayvanlarda abortus, mastitis, erkek hayvanlarda orşitis, epididimitis, infertilite gibi genital sistem infeksiyonları ile artrit, topallık, higroma gibi semptomlara neden olmaktadır (Garin-Bastuji ve ark., 1998; Office International des Epizooties, 2009)

Brusellozisin neden olduğu hayvanları infeksiyondan korumak, abortus vakalarının görülme sıklığını düşürüp etkenin etrafa saçılmasını azaltmak, böylelikle diğer hayvanların infeksiyona potansiyel olarak maruz kalma oranını da düşürmek amacıyla aşılama yapılmaktadır (Moriyón ve ark., 2004; Corbel, 2006; Nicoletti, 2010). Ülkemizde hastalığın prevalansı yüksek olduğu için veteriner hizmetlerinin alt yapısı ve mali kaynakları yeterli olmasına rağmen hastalığın görülme olasılığını yok etmek amacıyla tüm sürünün konjunktival yol ile aşılması politikası uygulanmaktadır (European Commission Health ve Consumers Directorate, 2009).

Brusellozisin serolojik teshisinde Rose Bengal Plate test (RBPT), serum aglutinasyon testi (SAT, Wright test), süt serumu ile lam ve tüp aglutinasyon, vajinal mukusla aglutinasyon, seminal plazma ile aglutinasyon testleri, süt halka testi (SHT), komplement fikzasyon testi (KFT), Coombs (antiglobulin) testi, pasif hemaglutinasyon testi, flouresan polarizasyon testi, flouresan antikor testi (FAT) ve ELISA (Enzymelinked Immunosorbent Assay) gibi testlerden yararlanılmaktadır (Aydın, 2006; Poester ve ark., 2010; Nielsen ve ark., 2008). SAT, etkenin fenol salinde (%0,85 NaCl ve %0,5 fenol) süspansiyonu ile hazırlanan antijenin pH'sı 7,2 gibi nötre yakın bir değer olması nedeniyle, IgM antikorlarını çok iyi saptayabilen, ancak IgG antikorlarını saptamada özgünlüğü daha düşük olan bir aglutinasyon testidir. Duyarlı bir test olmasına rağmen, diğer testlerle kombine olarak kullanılması önerilmektedir. Çalışmamızda da kalitatif olarak RBPT ile tüm serumlarda spesifik antikor varlığı araştırılmış ve sonrasında serumlarda kantitatif olarak antikor titreleri SAT ile belirlenmiştir. Yapılan Rose bengal pleyt testlerinin değerlendirilmesi sonucunda aşı

öncesi alınan kanlara ait serumların tümünün negatif olduğu ve deneme gruplarına ait 120 adet serumun ise pozitif reaksiyon verdiği görüldü. Daha sonra yapılan SAT sonucunda serum antikor titreleri belirlenmiştir. Aşı sonrasında 1 ayda aşı öncesine göre önemli ölçüde antikor titresinin arttığı ( $P<0.001$ ) daha sonra azalmaya başladığı belirlenmesine rağmen; grup içi değerlendirmelerde uniformitenin düşük olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlar aşılamanın başarılı olduğunu göstermiştir. Fakat grup içi uniformitenin düşük olması testin hastalık varlığının belirlenmesinde standart bir test olarak kullanılamayacağını göstermiştir.

Çalışmada ayrıca konjunktival yolla yapılan Brusella aşısının biyokimya parametre değerlerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Serumdaki enzim aktiviteleri çeşitli patolojik hastalıkların belirleyicisi olabilirler. Serumdaki aminotransferaz aktivitesi (AST ve ALT enzimleri) hepatosellüler hasarı belirlemede önemli bir belirleyicidir. AST ve ALT enzimleri serumda düşük düzeyde bulunmakta olup, hepatosit yıkımının artması durumunda serumda düzeyi yükselmektedir. AST aktivitesi hepatositteki hasarı gösteren yaygın bir belirteçtir, fakat ineklerde kastaki hasarda da AST düzeyi artmaktadır (Stockham ve ark., 2008). Yaptığımız çalışmada aşısız olan koyunlardan Konjunktival Brusella aşısı öncesi ve aşı sonrası alınan kanların serumunda ölçülen AST ve ALT enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Brusella ile enfekte olduğu belirlenen ve aşısız olan koyunlarda ve ineklerde AST ve ALT enzim düzeyinin anlamlı olarak arttığını bildirmişlerdir (Arslan ve ark. 2011; El-Boshy 2009; Al-Hussary ve ark. 2010). Gul ve ark. (2013) ise Brusella enfeksiyonunda sadece ALT aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı arttığını bildirmiştir. *Brucella* etkeni karaciğer hasarına yol açmaktadır ve karaciğer hasarına bağlı olarak karaciğer enzimlerinin serumda salınımının artmasına yol açmaktadır. Konjunktival brusella aşısı düşük dozda *Brucella mellitensis* etkeni içermektedir ve aşı öncesinde ve sonrasında ALT ve AST enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Bunun nedeni olarak ta aşı etkeninin bölgesel lenf yumrularına yerleşerek, etkisini burada göstermesi olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, konjunktival Brusella aşısı öncesi ve sonrası AST ve ALT enzim düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Yaptığımız çalışmada Brusellozisten korunmak için yapılan konjunktival brusella aşısının karaciğer hasar göstergesi olan AST ve ALT enzim düzeylerinin etkilenmediği belirlenmiştir.

Laktat dehidrogenaz memelilerin tüm dokularında yaygın olarak bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Özellikle karaciğer, kas, böbrekte daha yaygın olarak bulunmaktadır. Yaptığımız çalışmada aşı sonrasında LDH enzim düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olarak arttığını belirledik ( $P<0.05$ ). Yapılan bir çalışmada Brusellozis olduğu belirlenen ve aşısız olan koyunlarda (Arslan ve ark., 2011) ve *Brucella* enfeksiyonu olan sığırlarda enfekte olmayan sığırlara göre LDH enzim düzeyinin anlamlı olarak arttığı ( $P<0.05$ ) bildirilmiştir (Elazab, 2015). LDH enzim aktivitesinin artmasının karaciğer hücrelerinde ya da kaslarda hasar ve hemolizden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Bain ve ark., 2003). Konjunktival Brusella aşısı öncesinde ve sonrasında LDH enzim düzeyinin araştırıldığı bir çalışmaya da literatürde rastlanmamıştır.

Glukoz düzeyinin aşı sonrası koyunlarda hafif arttığı bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı ( $P>0.05$ ) aşılardan sonrası 3. ve 4. aylarda tekrar düşmeye başladığı belirlenmiştir.. Brusellozis olduğu belirlenen ve aşısız olan koyunlarda da glukoz düzeyinin anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir (Arslan ve ark., 2011). Brusella enfeksiyonu olan sığırlarda da enfekte olmayan sığırlara göre glukoz düzeyinin anlamlı olarak arttığı ( $P<0.05$ ) bildirilmektedir (Elazab, 2015; Kushwaha ve ark., 2014; El-Boshy, 2009). Konjunktival brusella aşısı öncesinde ve sonrasında glukoz düzeyinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

Alkalen fosfataz çeşitli hayvan dokularında membrana bağlı bir glikoprotein olup osteoporosis ve karaciğer yağlanması, hepatobilyer hastalıkların teşhisinde kullanılan biyokimyasal bir belirteçdir (Ali ve ark., 2005; Hanley ve ark., 2005; Webber ve ark., 2010). Alkalen fosfataz enzim düzeyi atlarda yapılan çalışmada ALP aktivitesinin Brusella pozitif olanlarda negatif olanlara göre azalmış olduğu belirlenmiştir (Gul ve ark., 2013). Ayrıca, Brusella pozitif olan ineklerin serumunda ALP aktivitesinin azalmış olduğu bildirilmiştir (Elazab, 2015). Yaptığımız çalışmada aşısız dişi koyunlarda konjunktival brusella aşısı öncesi ve sonrası alınan kanlarında serum ALP aktivitesinin aşı sonrasında düştüğü bunun istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P<0.05$ ) aşılardan sonraki 3. ve 4. aylarda tekrar yükselmeye başladığı belirlendi. Koyunlara konjunktival brusella aşısı uygulandıktan sonra ALP aktivitesinin düşük bulunması ve diğer yapılan çalışmalarda ALP aktivitesinin düşük olarak belirlenmesi uygulanan konjunktival aşıda düşük dozdaki *Brucella mellitensis* içerdiğinde bile ALP

aktivitesinin etkilendiđi ve Brusella teŖhisinde diđer testler ile birlikte deđerlendirilebileceđini dűŖsűndűrdű.

Yaptığımız alıŖmada total protein miktarının arttığı, albumin miktarının ise azaldığı belirlendi ( $P < 0.05$ ) Brusella ile enfekte sığırlarda total protein miktarının deđerŖmediđini ( $P > 0.05$ ) albumin miktarının ise azaldığını bildirmiŖlerdir (Nath ve ark., 2014). Gűl ve ark. (2013) yaptığı alıŖmada Brusella seropozitif olan hayvanlarda total protein miktarının hafif arttığını ama bunun istatikselsel olarak nemli olmadığını bildirmiŖlerdir ( $P < 0.05$ ). El-Boshy ve ark. (2009), ise yaptığı alıŖmada total protein miktarının ve albumin miktarının nemli miktarda azaldığını bildirmiŖlerdir. Elazab (2015), yaptığı alıŖmada Brusella enfeksiyonu olan sığırlarda total protein miktarının istatikselsel olarak anlamlı dűzeyde arttığını ( $P < 0.05$ ), albumin miktarının ise deđerŖmediđi bildirmiŖtir. Yapılan baŖka bir alıŖmada, Brusella pozitif olanlar sağlıklı inekler ile karŖılaŖtırıldıđında A/G oranının dűŖtűđűnű bildirmiŖler bunun nedenin ise Brusella ile enfekte olanlarda globulin miktarının ineklerde (Nath ve ark., 2014), koyunlarda (Hamada ve ark., 2013) ve zűrafalarda (El-Boshy ve ark., 2009) artmıŖ ve albumin miktarının (El-Boshy, 2009) ise azalmıŖ olduğundan A/G oranının dűŖűk olabileceğini bildirmiŖlerdir. Albumin miktarı karaciğer hűcresindeki retikűloendotelyal hűcrelerde űretilmekte olup yapılan konjunktival Brusella aŖılamasına bağlı olarak globulin miktarının artmasına bağlı olarak total protein miktarının arttığı karaciğer hűcrelerinde albumin sentezinin azalmasına bağlı olarak aŖı sonrasında albumin miktarının azalabileceği dűŖűnűldű.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Brusellozis, *Brucella* cinsindeki türlerin evcil ve vahşi hayvanlarda özellikle uterus, meme, testis gibi genital organlara yerleşerek, yavru atmalara ya da infertiliteye neden olduğu kronik, bulaşıcı ve nekrotik, yangısal reaksiyonlarla ortaya çıkan retikülohistiositer bir hastalıktır. Brusellozis önemli ekonomik kayıplara yol açmakta olup hayvancılığın devamlılığını da olumsuz yönde etkilemekte olup çok bulaşıcı zoonoz bir hastalıktır olup Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslar Arası Salgın Hastalıklar Ofisi (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonozlardan biri olarak kabul edilmektedir (Nicoletti 2010; Corbel 2006). Birçok ülkede ruminantları brucellozdan korumak için *Brucella melitensis* strain Rev 1 zayıflatılmış canlı aşısı aşılama programı ile uygulanmaktadır (Minas 2006). Geçmişte aşı uygulaması derialtı olarak uygulanmakta iken Ulusal Bruselloz Kontrol Programı kapsamında konjunktival aşı uygulaması günümüzde uygulanmaktadır. Geçmişte uygulanan derialtı aşılama sonrası biyokimyasal parametrelerin ve antikor yanıtlarının değişimi belirli iken, konjunktival aşılama sonrasında bu parametrelerin değişimi hakkında kesin bilgi bulunmamaktadır. Dolayısı ile hastalığın teşhisinde antikor yanıtının belirlenmesine yönelik kan testleri geçerliliğini kaybetmiştir. Teşhiste tek kriter olarak ta etkenin belirlenmesi ve identifiye edilmesi kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda daha çok bu açıdan araştırılmış olup yapılan konjunktival aşılamanın koyunlardaki bazı biyokimyasal kan parametre düzeylerine etkisi araştırılmamıştır. Çalışmada konjunktival yolla yapılan Brusella aşısının biyokimya parametre değerlerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla aşı öncesinde ve aşılama sonrası 4 ay boyunca kan alındı ve *Brucella melitensis* 'e karşı konjunktival yolla *Brucella melitensis* Rev.1 0.5 – 2 X 10<sup>9</sup> mikroorganizma (CFU) 1 doz aşı yapıldı(40µl). Bu çalışma ile konjunktival aşılama sonrasında bazı biyokimyasal parametrelerin aşılama sonrasında geçen zamana bağlı olarak değişiminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Brusellozisten korunmak için aktif bağışıklık sağlayan *B.melitensis* Rev.1 konjunktival Brusella aşısının Karayaka koyunlarının kanında yapılan Rose bengal pleyt testlerinin aşı sonrası pozitif olması ve takibinde yapılan SAT testi ile ölçülen antikor titresinin arttığı ve Bruselladan korunmak için antikor oluşturduğu ve glukoz, ALT, aktivitesinin aşılama sonrasında istatistiksel olarak önemli değişiklik olmadığı(P>0.05)

total protein ve ALP miktarının aşı sonrasında önemli düzeyde azaldığı ( $P<0.05$ ), LDH düzeyinin ise önemli ölçüde arttığı belirlendi ( $P<0.05$ ). Bruselladan korunmak için düşük dozda yapılan Konjunktival Brusella aşısını takiben 1ayda LDH, ALP ve total protein ve albumin miktarlarını etkilediği daha sonraki aylarda ise aşı öncesi grubun düzeyine yaklaştığı ve konjunktival Brusella aşısının Brusellozisten korunmak için güvenli olarak kullanılabileği kanaatine varıldı.





## KAYNAKLAR

- Aksakoğlu G, Bruselloz. In “Bulaşıcı hastalıklarla savaş ilkeleri” Ed.Aksakoğlu G, Ellidokuz H., 142-143, 2.Baskı, Açılım Yayıncılık, İzmir, 1996.
- Al-Hussary NAJ, Al-Zuhairy ASM. Effect of toxoplasmosis and brucellosis on some biochemical parameters in ewes. *Iraqi J Vet Sci* 2010; 24:73-80.
- Ali AT, Penny CB, Paiker JE, van Niekerk C, Smit A, Ferris WF, Crowther NJ. Alkaline phosphatase is involved in the control of adipogenesis in the murine preadipocyte cell line, 3T3-L1. *Clin Chim Acta* 2005; 354:101-109.
- Altınışık, M. E. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/67-shmyo-203-13.ppt> 15.04.2008.
- Altıntaş A, Fidancı UR: Evcil hayvanlarda ve insanlarda kanın biyokimyasal normal değerleri. *AÜ Vet Fak Derg* 1993;40(2):173-186.
- Alton GG, Jones LM, Pietz DE. *Laboratory Techniques in Brucellosis*. 2ed, Ser. No.55, Geneva. World Health Organization 1975;1-163.
- Anğ Ö, Yumuk Z. Bruselloz. Çev: Madkour’s Brucellosis. Ed:M.M. Madkour, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2008.
- Arda M, Aydın N, Ilgaz A, Minbay A, Kahraman M, İzgür M, Leloğlu N, Akay Ö, Diker KS. Özel Mikrobiyoloji, Medisan Yayın Serisi. No:26. 4. Baskı, Ankara. 1997;110-124.
- Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker K S. *İmmunoloji* 1998;13.
- Armstrong RA. The immune system and the eye. *Ophtalmic Physiol Opt* 1998;18(2):40-8.
- Arslan SH, Hassan MM, Mohammed HA, Al-Hussary NA, Al-Obaidi QT. Remove from marked Records Changes in some biochemical parameters accompanied with brucellosis in sheep. *Iraqi J Vet Sci* 2011;25(2):107-110.
- Aydın N. *Brucella* infeksiyonları. *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*. İke-Emek Yayınları, Ankara, 2006; 332:145-163.
- Bain PJ. Liver. In: Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW, editors. *Duncan and Prasse’s Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology*. 4th ed. Ames, IA, USA: Iowa State Pres 2003;193-214.
- Batamuzi EK, Kristensen E, Jensen AL. Serum protein electrophoresis: potential test for use in geriatric companion animal health programmes. *Zentralblatt Vet Med* 1996; 43: 501-508.
- Baysal B. *Brucella*. In “Temel ve Klinik Mikrobiyoloji” Ed. S.Ustacelebi, Gunes Kitabevi Ltd. Sti, Ankara, 1999; 571-577.

- Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Clinical Chemistry 1978;24-58.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 10. Baskı, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 2000;199-204.
- Bogin E. Clinical enzymological species differences due to metabolic, environmental and nutritional conditions. Adv Clin Enzymol, Basel, Karger, 1988; 6: 222-227.
- Brusellanın Konjunktival Aşı İle Kontrol ve Eradikasyonu Projesi, 3.01.2012; 001334.
- Corbel MJ. Brucellosis in human and animals. WHO Press, Geneva, Switzerland, 2006.
- Cengiz M. Bruselloz: 76 olgunun değerlendirilmesi. Şişli efital eğitim ve araştırma hastanesi enfeksiyon hastalıklar ve klinik mikrobiyoloji. Uzmanlık Tezi, 2007.
- Cloekaert A, Verger JM, Grayon M, Paquet JY, Garin-Bastuji B, Foster G, Godfroid J. Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. Microbes Infect 2001; 3(9): 729-38.
- Çevik MA: Bruselloz epidemiyolojisi. ANKEM Derg, 2001;15(3): 568-570.
- De Rosa G, Switch RW. Metabolic implications of the distribution of the alanine aminotransferase isoenzymes. J Biol Chem 1975; 250(20):7961-7967.
- Doğanay M, Alp Mese E. Bruselloz. Eds: Willke Topcu A, Soyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi, Cilt 1: Baskı 3; 2008; 897-909.
- Diker KS. İmmunoloji Birinci baskı, 1998;37.
- Dukes HH. Duke's Physiology of Domestic Animals, 11th Edition, Ithaca and London, Cornell University Pres, 1993.
- Elazab MFA. Evaluation of serum enzyme activities and protein fractions in *Brucella*-infected cows. Turk J Vet Anim Sci 2015;39:480-484.
- El-Boshy M, Abbas H, El-Khodery S, Osman S. Cytokine response and clinicopathological findings in *Brucella* infected camels(*Camelus dromedarius*). Veterinari Med 2009;541:25-32.
- Eskizmirliler S. Türkiye'de bulaşıcı sığır hastalıkları profili. Uluslar arası süt sığırcılığı ve süt ürünleri çalıştay ve sergisi, 28.04.2008.
- European Commission Health and Consumers Directorate Working Document on Eradication of Bovine, Sheep and Goats Brucellosis in the EU accepted by the "Bovine" and "Sheep and Goats" Brucellosis subgroups of the Task Force on

- monitoring animal disease eradication. *Veterinary Control Programmes* 2009;31.
- Fındık D. Bruseloz Tanısında Sorunlar. XII. Turk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Klimik 2005;102-105.
- Friedlaender MH. *Allergy and immunology of the eye*, 2. ed. New York: Raven Press, 1993; 1-325.
- Garin-Bastuji B, Blasco JM, Grayon M, Verger JM. *Brucella melitensis* Infection in Sheep: Present and Future. *Vet Res* 1998; 29:255-274.
- German Society For Clinical Chemistry. Standardisation of methods for estimation of enzyme activity in biological fluids. Recommendations. *Klin Z Chem Klin Biochem* 1972;8:658.
- Geyik MF. Brusellozun Klinik Formları. *Klimik Dergisi*. 30 Mart - 3 Nisan İstanbul Kongresi kitabı, 2003; 209-210.
- Godfroid J, Cloeckart A, Liautard JP, Kohler S, Fretin D, Walravens K, Garin-Bastuji B, Letesson JJ. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet Res* 2005; 36(3): 313-326.
- Godfroid J, Scholz HC, Barbier T, Nicolas C, Wattiau P, Fretin D, Whatmore AM, Cloeckart A, Blasco JM, Moriyon I, Saegerman C, Muma JB, Al Dahouk S, Neubauer H, Letesson J. Brucellosis at the animal /ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century. *Prevent Vet Med* 2011;102:118-131.
- Grant GH, Kachmar JF. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Tietz, NW ed. WB Saunders Co. Philadelphia 1976.
- Gul ST, Khan A, Ahmad M, Hussain I. Seroprevalence of brucellosis and associated hemato-biochemical changes in Pakistani horses. *Pak J Agric Sci* 2013; 50(4): 745-750.
- Hamada DM, Mohamed AH, Mabrouk A, Emad M, Ah ME. Seroprevalence of abortion causing agents in Egyptian sheep and goat breeds and their effects on the animal's performance. *J Agric Sci* 2013; 5: 92-101.
- Hanley AJ, Williams K, Festa A, Wagenknecht LE, Dgostino RB Jr, Haffner SM. Liver markers and development of the metabolic syndrome: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2005; 54: 3140-3147.
- Henry RJ, Cannon DG. Winkelman jw,'Clinical Chemistry, Principles and Techniques.'Harper and Row 2 nd. 1974.
- Hill PG. The measurement of albumin in serum and plasma. *Ann Clin Biochem* 1985; 22 :565-578.

- Hoover DL, Friedlander AM. Brucellosis. Textbook of Military Medicine: Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Ed: Zajtchuk, R. US Department of the Army, Surgeon General, and the Borden Institute. Washington 1997; 691: 513-521.
- Kadınlar sayfası. <http://www.kadinlarsayfasi.com/bagisiklik>, 2016.
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals, 5. Edition, Acedemic pres, New York, 1997.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T. Klinik Biyokimya, Medisan, Ankara, 2000.
- Katunuma N, Mikumo K, Matsuda M, Okada MJ. Differences between the transaminases in mitochondria and soluble fraction. I. Glutamic-pyruvic transaminase. Vitaminol 1962;8:68-73.
- Kaplan YŞ. Bağışıklık Sistemi.  
<http://www.bilimvesaglik.com/vucudumuz/bagisiklik-sistemi/index.html> 2016.
- Kılıçturgay K. İmmünolojiye giriş, 2. ed. Bursa: Güneş Kitabevi, 1991; 1-150.
- Klin Z. Chem, U.Klin. Biochem 1972;10:658.
- Koneman E, Winn W, Alen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman's Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Edition, Lippincott Willams & Wilkins 2006; 482-490.
- Kramer JW. Clinical Enzymology. In: Kaneko, J.J. Cornelius. C.E: Clinical Biochemistry of Domestic Animal.Fourth Edition. Acad. Pres. Inc, 1989;338-363.
- Kushwaha N, Rajora VS, Mohan A, Singh JL, Shukla SK. Assessment of Haemato-biochemical Parameters and Therapeutics on *Brucella* Infected Cattle. J Microbiol Experiment 2014; 1 (2): 00012. DOI: 10.15406/jmen.2014.01.00012.
- Latner C. Clinical Biochemistry, 7th Ed. W.B. Saunders, Co. Philadelphia, 1975; 560-566.
- Lewinson W, Jawetz E. İmmünoloji. In: Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, 5. ed. Çeviri Editörü: İsmail H DüNDAR. İstanbul: Barış Kitabevi/Appleton ve Lange 1998;327-400.
- Lott JA, Wolf PL. Alanine and aspartate aminotransferase (ALT and AST). Clinical enzymology: a case-oriented approach. Chicago, Year Book Medical Publishers. 1986;111-138.
- Mcperson RA. Specific proteins. Clinical Diagnosis Management by Laboratory Methods. Ed. Henry J. B. 18'th ed. W.B. Saunders, Philadelphia 1991; 215- 228.
- Mengi A. Biyokimya İstanbul, 1997;150-185.

- Minas A. Control and eradication of brucellosis in small ruminants. *Small Rum Res* 2006; 62:101-107.
- Moriyon I, Grillo MJ, Monreal D, Gonzalez D, Marin C, Lopez-Goni I, Mainar-Jaime, RC, Moreno E, Blasco JM. Rough Vaccines in Animal Brucellosis: Structural and Genetic Basis and Present Status. *Vet Res* 2004;35:1-38.
- Munoz PM, de Miguel MJ, Grillo MJ, Marin CM, Barberan M, Blasco JM. Immunopathological responses and kinetics of *Brucella melitensis* Rev 1 infection after subcutaneous or conjunctival vaccination in rams. *Vaccine* 2008; 26:2562-2569.
- Murry KR, Granner KD, Mayes AP, Rodwell WV. Harper's Biochem, Twenty-third Ed.App. Lan 1993:25-75.
- Nath R, Das S, Sarma S, Devi M. Comparison of blood profiles between healthy and Brucella affected cattle. *Vet World* 2014;7:668-670.
- Nicoletti P. Brucellosis: Past, Present and Future. Contributions, Section of Medical Science. *Prilozi* 2010;31(1):21-32.
- Nielsen K, Smith P, Yu WL, Elmgren C, Halbert G, Nicoletti P, Perez B, Conde S, Samartino L, Nicola A, Bermudez R, Renteria T. Validation of a second generation competitive enzyme immunoassay (CELISA) for the diagnosis of Brucellosis in various species of domestic animals. *Vet Immunol Immunopathol* 2008;125: 246-250.
- Nielsen K, Yu WL. Serological Diagnosis of Brucellosis. Contributions, Section of Medical Science XXXI: 2010; 65-89.
- Office International des Epizooties (OIE). Manual of Standards for Diagnostic tests and Vaccines. Third edition, Paris, France. Caprine and ovine Brucellosis chapter (2.7.2), Bovine Brucellosis chapter (2.4.3) 2009.
- Poester FP, Nielsen K, Samartino LE, Yu WL. Diagnosis of Brucellosis. *Open Vet Sci J* 2010; 4: 46-60.
- Rosalki SB, McIntyre N. Biochemical investigations in the management of liver disease. In: J Bircher, JP Benhamou, N McIntyre, M Rizzetto, Editors. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. Volume 1, Second ed. Oxford University Press 1999; 503 - 521.
- Roussel JD, Partick TE, Kellgren HC, Beathy JF, Cousar A: Temperature effects on blood cells, enzymes and protein activity of beef bull. *J Anim Sci* 1970;30:327.
- Russel KE, Roussel AJ. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin Food Anim* 2007; 23:403-426.



- and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 167-173.
- Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Amer J Clin Path* 1946;16-40.
- WHO and MZCP. Human and animal brucellosis. Epidemiological surveillance in the MZCP countries. Report of a WHO/MZCP workshop. Damascus, Syrian Arab Republic 1999.
- Yoshida Y. Electrophoretic studies on serum proteins in cows with traumatic pericarditis. *J Vet Med Sci* 1991; 53: 5-11.
- Young EJ. Brucella species. In: Mandel GI, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone. Philadelphia 2000; 2386-2393.
- Zunszain PA, Ghuman J, Komatsu T, Tsuchida E, Curry S. Crystal structural analysis of human serum albumin complexed with hemin and fatty acid, *BMC Struct Biol* 2003;3:6.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Özkan YİĞİT

Doğum Yeri: Suluova / AMASYA

Doğum Tarihi: 09.11.1986

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce ( Orta seviye )

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Atatürk İlkokulu (1992-1997)

Fatih İlköğretim Okulu (1997-2000)

Merzifon Lisesi ( 2000-2003 )

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi ( 2003-2008 )

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

AYDOĞANLAR TARIM ve HAYVANCILIK LTD. ŞTİ. ( 2008- 2011 )

AMASYA-TAŞOVA İLÇE GIDA, TARIM ve HAYVANCILIK MÜDÜRLÜĞÜ ( 2011-2013)

AMASYA-MERZİFON İLÇE GIDA, TARIM ve HAYVANCILIK MÜDÜRLÜĞÜ ( 2011-....)

E-posta: vetking@gmail.com