

**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARS YÖRESİNDE KOYUN ATIKLARININ
BRUSELLOZİS YÖNÜNDE
SEROEPİDEMİYOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Arş.Gör.Özgür ÇELEBİ
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Doç.Dr.Halil İbrahim ATABAY**

2004-KARS

157919

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARS YÖRESİNDE KOYUN ATIKLARININ
BRUSELLOZİS YÖNÜNDEN
SEROEPİDEMİYOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Arş.Gör.Özgür ÇELEBİ
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Doç.Dr.Halil İbrahim ATABAY

**Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Yönetim Kurulu Başkanlığı
tarafından desteklenmiştir. Proje No:2003-VF-013**

2004-KARS




KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Özgür Çelebi tarafından hazırlanmış olan "Kars Yöresinde Koyun Atıklarının Brusellozis Yönünden Seroepidemiolojik Olarak Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunma sınavı sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

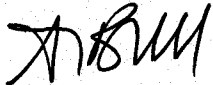
Tez Savunma Tarihi
09.09.2004

Adı Soyadı :

Başkan : Doç.Dr.Mitat ŞAHİN
Üye : Doç.Dr.Halil İbrahim ATABAY
Üye : Yrd.Doç.Dr.Atila AKÇA

Bu tezin kabulü, Sağlık Bil. Enst. Yönetim Kurulu'nun gün ve
..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

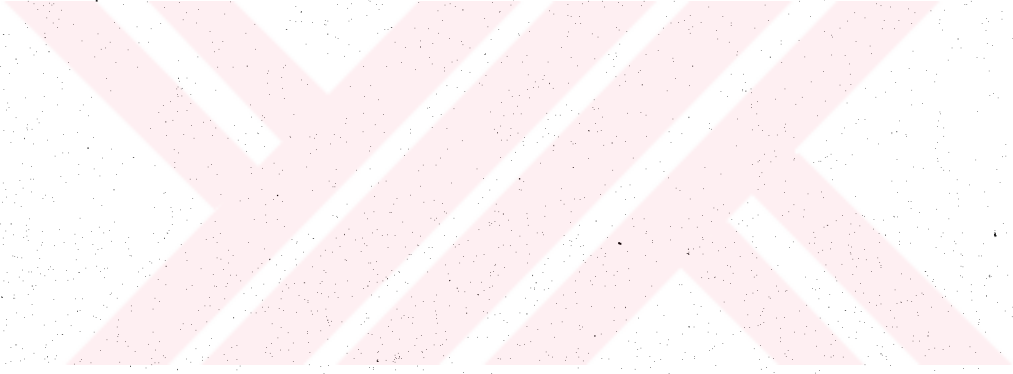

Doç.Dr.Ayla ÖZCAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
Simgeler ve Kısaltmalar	I
Önsöz	II
1. GİRİŞ	1
1.1. Tanım ve Tarihçe	1
1.2. <i>Brucella</i> Cinsinin Genel Özellikleri	4
1.3. Epizootiyoloji	10
1.4. Patogenez	12
1.5. Hastalığın Klinik Semptomları	14
1.6. Teşhis	15
1.6.1. Klinik Teşhis	15
1.6.2. Laboratuvar Muayeneleri	15
1.6.2.1. Serolojik Testler	16
1.6.2.2. Alerjik Testler	21
1.7. Sağaltım	21
1.8. Koruma ve Kontrol	22
2. MATERYAL VE METOT	25
2.1. Materyal	25
2.1.1. Serum Örnekleri	25
2.1.2. Rose Bengal Plate Testi'nde Kullanılan Materyal	26
2.1.2.1. Antijen	26
2.1.3. Serum Aglütinasyon Testi'nde Kullanılan Materyal	26
2.1.3.1. Antijen	26
2.1.3.2. Fenollü Fizyolojik Tuzlu Su (FFTS)	26
2.1.4. Rivanol Aglütinasyon Testi'nde Kullanılan Materyal	27

2.1.4.1. Antijen	27
2.1.4.2. %0.4'lük Rivanol Solüsyonu	27
2.1.4.3. Fenollü Fizyolojik Tuzlu Su (FFTS)	27
2.1.5. Komplement Fikzasyon Testi'nde Kullanılan Materyal	28
2.1.5.1. Kontrol Serumları	28
2.1.5.2. Antijen	28
2.1.5.3. Veronal Buffer Dilüsyonu	28
2.1.5.4. Alsever Solüsyonu	28
2.1.5.5. Koyun Eritrositi	29
2.1.5.6. Komplement	29
2.1.5.7. Amboseptör (Hemolizin)	29
2.1.5.8. Otomatik Pipet ve Pipet Uçları	29
2.1.5.9. Mikropleyt	30
2.2. Metot	31
2.2.1. Rose Bengal Plate Testi	31
2.2.2. Serum Aglütinasyon Testi	31
2.2.3. Rivanol Aglütinasyon Testi	32
2.2.4. Komplement Fikzasyon Testi	33
2.2.4.1. Komplement Titresinin Belirlenmesi	33
2.2.4.2. Amboseptör Titresinin Belirlenmesi	35
2.2.4.3. Antijen titresinin belirlenmesi	36
2.2.4.4. Komplement Fikzasyon Testi'nin Yapılışı	37
3. BULGULAR	40
3.1. Serolojik Test Sonuçları	40
3.1.1. Rose Bengal Plate Test (RBPT) Sonuçları	40
3.1.2. Serum Aglütinasyon Test (SAT) Sonuçları	40
3.1.3. Rivanol Aglütinasyon Test (RAT) Sonuçları	40
3.1.4. Komplement Fikzasyon Test (KFT) Sonuçları	41

3.1.5. İstatiksel Analiz Sonuçları	44
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
5. ÖZET	51
6. SUMMARY	52
7. KAYNAKLAR	53
8. ÖZGEÇMİŞ	65



SİMGELER ve KISALTMALAR

AGID	: Agar Gel İmmünodifüzyon
DTT-MAT	: Dithiothreitol Mikroaglutinasyon Testi
EDTA-MAT	: Etilen Diamnin Tetraasetik Asit Mikroaglutinasyon Testi
ELISA	: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı
FFTS	: Fenollü Fizyolojik Tuzlu Su
FPA	: Fluorescence Polarization Assay
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
KFT	: Komplement Fiksasyon Testi
MRT	: Milk Ring Testi
OIE	: Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi
RAT	: Rivanol Aglutinasyon Testi
RBPT	: Rose Bengal Plate Test
SAT	: Serum Aglutinasyon Testi
VBD	: Veronal Buffer Dilüsyonu
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ÖNSÖZ

Türkiye ekonomisine büyük bir kaynak oluşturan hayvancılık aynı zamanda önemli bir geçim kaynağıdır. Bu nedenle hayvanlardan elde edilen verimin en üst düzeye çıkarılması için yeterli ve dengeli beslenmenin yanı sıra sağlık koşullarının da düzeltilmesi gerekmektedir.

Koyun yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biri infeksiyöz karakterdeki yavru atmalarıdır. Bu hastalıkların başında brusellozis gelmektedir. Koyunlarda brusellozis, abortlar meydana getirerek verim kaybına yol açmakta dolayısı ile büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ayrıca infeksiyon zoonoz karakterde olması nedeni ile önemli bir halk sağlığı problemi.

Brusellozisin Türkiye’de olduğu kadar yörede de bu denli yaygın olmasının nedenleri arasında koyun varlığının çok olması, hayvan alım satımı ve bu sahada yeterli kontrolün yapılmaması, hayvan hareketlerinin önlenememesi, aşı programlarının düzenli olarak uygulanmaması, tazminatın yeterli olmayışı, koyun sütünden yapılan süt mamüllerinin zenginliği ve yasaların güncellik taşıması yer alır.

Bu derece önem taşıyan brusellozisin teşhisinde serolojik testler önemli bir yer tutar. Bu nedenle infeksiyonun tanısında değişik serolojik yöntemler (Rose Bengal Plate Test, Serum Aglütinasyon Test, Komplement Fiksasyon Test, Rivanol Aglütinasyon Test, Enzyme Linked İmmunosorbent, Coombs Test vs.) kullanılmaktadır. Etken izolasyonu ve identifikasyonunun ne kadar zor ve zaman aldığı düşünüldüğünde serolojik testlerin önemi daha iyi anlaşılır.

Bu tez çalışmasında yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm Yüksek Lisans danışmanım Doç.Dr.Halil İbrahim ATABAY’a, KAÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr.Mitat ŞAHİN’e, öğretim üyeleri Doç.Dr.Salih OTLU ve Yrd.Doç.Dr.Ahmet ÜNVER’e, çalışmadaki katkılarından dolayı Yrd.Doç.Dr.Oktay GENÇ’e, maddi desteğinden dolayı KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Yönetim Kurulu Başkanlığı’na maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

1.1. Tanım ve Tarihçe

Gram negatif, aerobik çomak ve koklar içinde yer alan *Brucella* cinsinin, son yıllarda yapılan biyoteknolojik çalışmalar sonucunda Probacteria sınıfının bir üyesi olduğu ve Agrobacterium-Rhizobium kompleksindeki bitki patojenleri ile aynı atadan geldikleri saptanmıştır (12,61).

Brucella cinsi bakteriler ile oluşan brusellozis (Ondülan ateş, Akdeniz ateşi, Malta humması, Bang'ın hastalığı) temelde bir hayvan hastalığı olup (sığır, koyun, keçi, manda, domuz vs.); bunların sütleri, kontamine süt ve süt ürünleri, etleri ve vücut sıvıları aracılığı ile insanlara bulaşan, özellikle büyük baş hayvanlarda yavru atımına, süt ve et verimi kayıplarına sebep olan zoonotik bir hastalıktır (96).

Brusellozis; Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonotik hastalık olarak kabul edilmiştir (105). WHO'ya göre laboratuvar çalışma güvenliği açısından 3. derece risk grubunda yer alır (10).

İnsan ve hayvanlarda brusellozise neden olan etkenler morfolojik ve kültürel yönden birbirlerine benzerler ve homojen bir DNA'ya sahiptirler. Ancak gösterdikleri biyokimyasal özellikleri ve konakçı spesifiteleri onların ayrı türler olarak kabul edilmesine temel teşkil etmiştir (19,102). *Brucella* cinsi antijenik varyasyonlarına ve bulunduğu primer konağa göre 7 türü kapsamaktadır; *Brucella melitensis* (koyun, keçi), *B. abortus* (sığır), *B. canis* (köpek), *B. ovis* (koyun), *B. neotomae* (ağaç ratları) ve *B. maris* (deniz memelileri) (23,94,29). *B. ovis*, *B. neotomae* ve *B. maris* dışındakilerin tümü insan patojeni olarak bilinmekle beraber, insanlardan en sık izole edilen türler *B. melitensis* ve *B. abortus*'dur (23,28,50,52,102).

Brusellozis'e neden olan etkenler isimlerini bu mikroorganizmayı ilk izole eden İngiliz hekim Sir David Bruce'dan alırlar. Bruce, etkeni 1887 yılında Malta

adasında, ateşli seyreden bir infeksiyon sonucu ölen bir İngiliz askerinin dalağından izole etmiştir. İzole edilen bu etken küçük bir kok şeklinde görüldüğünden *Micrococcus melitensis* ve infeksiyona da “Malta humması” veya “Akdeniz humması” adı verilmiştir (7,26,27,44,77,88,96). Aynı etken 1893 yılında Hughes tarafından *Streptococcus melitensis* olarak adlandırılmıştır. Bang ve Stribolt, 1895 yılında Danimarka’da abort yapmış bir ineğin fetal membranları ve uterus sıvılarından izole ettikleri Gram negatif basile *Bacterium Infectiosa Bang* adını vermişlerdir. Bang, 1893 yılında etkenin saf kültürünü yaparak, sağlıklı hayvanlardan deneysel infeksiyonla hastalık oluşturmayı başarmıştır (12,61,73,96). 1901’de Schmidt etkenin ismini *Bacterium abortus* olarak bildirmiştir. Dr. Zammit, 1905 yılında Malta hummasının etkenini, keçi sütlerinden izole etmiş ve keçilerin doğuma yakın zamanlarda sık sık abort yaptığını bildirerek etkeni *Micrococcus* olarak adlandırmıştır. Koyunlarda ilk izolasyon 1906 yılında Garcia ve Iscara tarafından yapılmıştır (61). Koyun brusellozisinin *B. melitensis* tarafından meydana getirildiği Güney Fransa’da Dubois tarafından 1910 yılında bildirilmiş ve etkenin süt ile yayıldığı Spink tarafından açıklanmıştır (26,27). Domuzlarda brusellozis ilk olarak 1909 yılında Huntyra tarafından Macaristan’da bildirilmiştir (12). Traum 1914 yılında ABD’nin İndiana eyaletinde prematüre doğan domuz yavrularının karaciğer, mide ve böbreklerinden *B. suis*’i izole etmiştir (12,26,27,73,96). 1918 yılında Alice Avans adlı araştırmacı, Bruce, Bang ve Traum’un buldukları etkenlerin keçi, koyun, sığır ve domuzlarda ayrı infeksiyon meydana getirmediğini, bu etkenler arasında morfolojik, kültürel ve serolojik benzerliklerin bulunduğunu ve bunların birbirine çok yakın mikroorganizmalar olduğunu kaydetmiştir (12,73). Aynı araştırmacı, Bang hastalığının insanlarda da Bruce’un hastalığını yaptığını ileri sürmüştü ve çalışırken kendisi de infeksiyona yakalanmıştır. Bu durumu ilk öğrenen Profesör Carpandier hastalığın brusellozis olduğunun ortaya koyarak Alice Avans’ın görüşlerini doğrulamıştır (26,27). Meyer ve Shaw, 1920 yılında *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B.*

suis'i bir grupta birleştirerek bu gruba, bu konuda ilk önemli çalışmaları yapan Bruce'un ismine atfen *Brucella* grubu mikroorganizmalar, meydana getirdiği hastalığa da brusellozis adını vermişlerdir (73). Koçların epididimitis etkeni olan *B. ovis* 1952 yılında ilk kez Yeni Zelenda'da McFarlan ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir. 1953 yılında Buddle ve Boyes, bu etkeni *B. melitensis*'in bir varyantı olarak ortaya atmışlardır. Etkene ismi 1956 yılında verilmiştir (12). Stoenner ve Lockman 1957 yılında ABD'nin Utah eyaletinde *B. neotomae*'i izole etmişlerdir (44,73,96). *B. canis* 1966 yılında av köpeklerinde abortla seyreden bir salgının araştırılması sırasında izole edilmiş ve 1968 yılında Carmicheal ve Bruner tarafından isimlendirilmiştir (12,44,73,96).

Türkiye'de ilk Brusellozis vakası 1915 yılında Kuleli Askeri Hastanesi'nde Kural ve Akalın tarafından tedavi edilen bir askerde laboratuvar yöntemleri ile teşhis edilmiştir (12,44,61,73,96). Türkiye'deki sığırlarda *B. abortus* infeksiyonunun ilk kez 1931 yılında kültür ırkı hayvanların ithal edilmesi ile sorun olmaya başladığı bildirilmiştir (13,60). Sığırlarda ilk izolasyon çalışmaları 1931-1932 yıllarında Berke tarafından yapılmıştır (12,44,73). 1943'de Golem brusellozis'i insan ve hayvanlarda serolojik yöntemlerle tanımlamıştır (12,61). 1944 yılında Aktan ve Köylüoğlu Bandırma merinos çiftliğindeki koyunlarda brusellozis'in varlığını serolojik olarak tespit etmişlerdir (61). Türkiye'de koyun ve kıl keçilerinden *B. melitensis* ilk defa 1959 yılında Özcebe tarafından izole edilmiştir (73). Köpeklerde *B. canis* infeksiyonu serolojik olarak ilk kez 1983'de İstanbulluoğlu ve Diker tarafından saptanmıştır. Atlarda *B. abortus*'un varlığı İzgür ve ark. tarafından 1988 yılında serolojik olarak saptanmıştır (73).

1.2. *Brucella* Cinsinin Genel Özellikleri

Brucella cinsi mikroorganizmalar, Gram negatif, aerobik çomak ve koklar sınıfına dahil olup hareketsiz, sporsuz, metabolik aktiviteleri az, 0.5-0.7 x 0.6-1.5 mikron boyutlarında olan mikroorganizmalardır (12,28,56,61,96). Gerçek kapsülleri yoktur ancak infeksiyonlardan yeni izole edilen ve smooth karakterdeki kolonilerde ince bir kapsül görülebilir (28,56,96). Kültürlerde tek tek rastlanmasına karşılık dokulardan hazırlanan preparatlarda kümeler halinde görülür (12). Etkenin Braunier (Brown) hareketi oldukça belirgindir (12,19,96). Gerçekte asit-fast olmadıkları halde zayıf asitlerle dekolorizasyona dirençli olduklarından modifiye Ziehl-Neelsen, modifiye Köster ve alkali solüsyonu ile kırmızı renkte boyanırlar. Bipolar boyama özelliği göstermezler (10,44). Genellikle aerobiktirler, ancak *B. abortus* ve *B. ovis* ilk izolasyonlarından %5-10 CO₂'e gereksinim gösterirler (12,19). Etkenler 20-40 °C'de ürerlerse de, ortalama 37 °C'de ve pH 6.6-7.4 üremeleri için optimum değerleri temsil eder (44).

Brucella'lar genel besiyerlerinde güç ürerler ve bazı özel besiyerlerine ihtiyaç gösterirler (12,96). Tiamin, nikotinamid ve biotin üremeleri için esastır (96). Besiyerine kan serumu, glukoz, pepton ve karaciğer ekstraktı katılması üremeyi olumlu yönde etkiler (12). Bazı suşlar (*B. abortus* biyotip 2) %2-5 oranında zorunlu serum gerektirir (10,12). Mikroorganizmaların (özellikle *B. abortus* ve *B. melitensis*) üremelerini stimüle etmek amacıyla erytritrol da besiyerine katılabilir (12,16,25).

Brucella bakterilerinin üretilmesinde kullanılan besiyerinin temelini nutrient agar oluşturur. Bunun yanı sıra *Brucella* agar, Triptoz agar, Tryptic Soy agar (TSA), Tween Dextrose agar ve sıvı besiyeri olarak da *Brucella* buyyon, Tryptic Soy buyyon (TSB) ve karaciğerli buyyon da kullanılmaktadır (4,10,19). Selektif besiyeri olarak Skirrow agar, Farrel'in besiyeri, Thayer-Martin agar ve ayrıca bifazik (sıvı-katı) besiyerleri de kullanılmaktadır (4,30,77). Modifiye Thayer-Martin besiyerinin *B. melitensis* izolasyonunda Farrel besiyerine göre daha başarılı olduğu bildirilmiştir.

Bunun sebebi olarak *B. melitensis* üzerine inhibe edici etki gösterebilen basitrasinin Thayer-Martin besiyerinde bulunmayışı gösterilmiştir (77). *Brucella* etkenlerinin kültürleri için genellikle katı besiyerleri kullanılır. Çünkü katı besiyerleri koloni oluşumunu sağladığı gibi dissosiasyonu da sınırlar. Bununla birlikte kan ve ortamdaki sıvı materyalin kültürü için sıvı besiyerinden de yararlanılabilir (12). Katı besiyerinde *Brucella*'ların 48 saatten önce üreme göstermeleri ender olup ilk izolasyonda koloni şekillenmesi 4. günden sonra görülmeye başlamakta ve üreme süresi pasajlarla kısaltılabilmektedir (73). 2-3 günlük koloniler yuvarlak, kenarları düzgün, saydam ve 0.5-1 mm çapında ve Smooth (S) tipindedir (12,19). Tipik virulan mikroorganizmalar S tipinde koloniler yaparak ürer ve avirulan olan Rough (R) şekline değişme eğilimleri vardır. R kolonileri kuru, opak, granüler görünümde ve sarımsı bir renge sahiptirler. Dissosiyasyon derecelerine göre tuzlu suda otoaglutinasyon gösterirler (4,8). Avirulan mikroorganizmalar, %1 akriflavin çözeltisinde aglutine olurlar; virulan olanlar aglutine olmazlar (2). Smooth ve non-smooth suşların ayırımında conkavalin A lektinin de akriflavin ile aynı sonuçlar verdiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (32). Yansıyan ışıktaki hafif mavimsi-yeşil bir renk verirler (S formu). 6-7 günlük bir süre sonunda koloniler matlaşır ve dissosiyeye olmaya başlarlar (2,105). *B. ovis* ve *B. canis* ilk izolasyondan itibaren R koloni görünümündedirler (19,96). Bu iki ana koloni formu dışında intermediyer (I) ve mukoid (M) özellik gösteren koloni varyasyonlarına ve bunların da alt formlarına rastlanabilir (2,12). I kolonilerini S kolonilerinden ayırmak zordur. Hafifçe opaktır ve akriflavinle aglutinasyon reaksiyonlarında çok ince granüller oluştururlar. M kolonilerine öze ile dokunulduğunda ipliksi bir uzama gösterirler, koloniler şeffaf ve grimsi renktedirler (4,8). Ayrıca *Brucella*'ların antibiyotik ve kimyasal maddelerden etkilenmeleri sonucu L- formlarının meydana geldiği bildirilmiştir (8,12). Sıvı besi yerlerinde yavaş ürerler, homojen bir bulanıklık yanında dipte beyazımsı tortu meydana getirirler, S-koloni formundakiler tüp çalkalandığında homojen halde, R-

Brucella melitensis aerobik olup üre, nitrat, oksidaz ve katalaz pozitifdir. CO₂'e ihtiyaç göstermez ve H₂S negatiftir. 1/25000 thionin'li ortamda üremez, 1/50000 thionin'li ve 1/50000 bazik fuksinli ortamda ürer. Monospesifik *Brucella abortus* serumu ile biyotip 1 dışında diğer biyotipler ve monospesifik *Brucella melitensis* serumu ile biyotip 2 dışında diğer biyotipler aglutinasyon verirler. *Brucella* fajlarından Berkeley ve İzatnagar ile lize olur. Smooth ve non-smooth kolonilerin ayrımı ise stereoskopik mikroskop, termoaglutinasyon, akriflavin ve kristal vyolet testleri ile yapılmaktadır (12,44). Akriflavin testinde R koloniler aglutine olur, M koloniler erimeden homojen kalır ve mikroskop altında Brown hareketleri görülür. I koloniler ya erimezler ya da çok az aglutinasyon gösterirler (12,44,73). Bugüne kadar yapılan çalışmalardan *B. melitensis*'in 3, *B. abortus*'un 9, *B. suis*'in 5 biyotipi olduğu belirlenmiştir (12,44,96).

B. melitensis, *B. abortus* ve *B. suis*, A (abortus) ve M (melitensis) olarak isimlendirilen, ısıya dayanıklı, aglutinasyon reaksiyonlarından sorumlu yüzey antijenlerine sahiptirler (12,19,96). *B. melitensis*'in 3 biyotipinden, biyotip 1'de M antijeni, biyotip 2'de A antijeni fazla bulunmakta, biyotip 3'de ise M ve A antijeni yaklaşık aynı oranda bulunmaktadır (19). *B. melitensis*'de A'nın M'ye oranı 1/20 iken *B. abortus* ve *B. suis*'de bu oran 20/1'dir (5,12,96).

Görüldüğü gibi serolojik metotlar ile *B. melitensis*'i, *B. abortus* ve *B. suis*'den ayırmak mümkün olmakta, ancak *B. abortus*'u *B. suis*'den ayırt etmek olası görülmemektedir (12,96). *Brucella* tür ve biovarlarının bazı özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Brucella türlerinin ve biogruplarının ('biovar') özellikleri (4,26,56).

Tür	Biogrup	CO ₂ İhtiyacı	Üreaz aktivitesi	H ₂ S üretimi	20 µg varlığında üremin thionin	üreme bazık fuksin	Monospesifik serumla aglütinasyon ^a	Konakçı tercihi	
							A M R		
<i>B. melitensis</i>	1	-	v	-	+	+	-	Koyun, keçi	
	2	-	v	-	+	+	+	Koyun, keçi	
	3	-	v	-	+	+	+	Koyun, keçi	
<i>B. abortus</i>	1	(+)	+	+	-	+	-	Sığır	
	2	(+)	+	+	-	-	-	Sığır	
	3	(+)	+	+	^b	+	-	Sığır	
	4	(+)	+	+	-	(+)	+	Sığır	
	5	-	+	-	+	+	+	Sığır	
<i>B. suis</i>	6	-	-	^b	+	-	-	Sığır	
	9	-	+	+	+	+	+	Sığır	
	1	-	+	+	+	(-)	-	Domuz	
	2	-	+	-	+	-	+	Domuz	
	3	-	+	-	+	+	+	Domuz	
<i>B. neotomae</i>	4	-	+	-	+	(-)	+	Ren geyiği	
	5	-	+	-	+	-	+	Kemirgenler	
	<i>B. canis</i>		-	+	+	-	+	-	Ağaç ratları
			-	+	-	+	-	-	Köpek
			+	-	-	+	-	-	Koyun
<i>B. "maris"</i>	+/-	+	-	+	+	+	+/-	Balık	

+; pozitif, -; negatif, (+); genellikle pozitif, (-); genellikle negatif, v; değişken.

a; A, abortus; M, melitensis; R, rough.

Smooth *Brucella* türleri ile *E. coli* O:116 ve O:157, *F. tularensis*, *V. cholerae* ve *Y. enterocolitica* O:9 başta olmak üzere *Pasteurella* türleri, *Pr. vulgaris*, *Campylobacter fetus*, *Moraxella*, *S. pullorum* ve *Leptospira* serotipleri arasında serolojik kros reaksiyonlar bildirilmiştir (12,56,96). Kros reaksiyonların bir çoğuna bu mikroorganizmaların somatik lipopolisakkarit (LPS) antijeninin O zincir üzerindeki N-asetil 4-amino-4, 6-dideoksi-D-mannoz'un ortak varlığı neden olmaktadır (44). Ancak bu mikroorganizmaları *Brucella*'lardan ayırt etmek mümkündür. Kros reaksiyon veren antikorların ayırımında immunodifüzyon, immunelektroforez, primer bağlanma testleri (RIA, ELİSA) ve kros absorpsiyon testlerinden başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir (18,44). *Brucella* etkenlerine karşı vücutta meydana gelen antikorların daha çok IgG₁, IgG₂, IgM ve IgA oldukları son çalışmalarda ortaya konmuştur (18).

Brucella'lar güneş görmeyen toprakta 70, suda 35 gün yaşayabilirler (12). *B. melitensis*, steril çeşme suyunda 8°C'de 57 gün, insan idrarında en az 7 gün, hayvan dışkısında açıkta 100 gün, deniz suyunda 25 gün, kuru toprakta 43 gün, nemli toprakta 72 gün, steril sütte 17 gün, elbise ve kumaşta 5-78 gün, infekte etle yapılmış salam ve soside 21 gün yaşar (96). Kültürlerdeki mikroorganizmalar -20°C'de 3-6 ay canlı kalabilirler. Karanlık yerlerde, doku, süt, gübre ve uterus akıntılarında uzun süre canlı kalabilirler (61). Etkenler %0.1 sublmede birkaç dakikada %2 formalin ve %1 lizol içinde 15 dakikada ölürler (12). Pastörizasyon esnasında çabuk ölmelerinin epidemiyolojik değeri vardır (61).

Bazı kimyasal maddelere (tionin, bazik fuksin, metil viyolet, pironin, polimiksin B, eskulin ve atidion) karşı duyarlılıkları üremeleri ve tip tayini için kullanılır (12,19). İlk izolasyonlarında genellikle *Brucella* suşları *in vivo* koşullarda tetrasiklin, gentamisin ve rifampisine duyarlıdır (61). Suşların çoğu, ampisilin, kloramfenikol, kanamisin, eritromisin, streptomisin ve sulfametoksazol kombinasyonuna da duyarlılık gösterirler. Buna karşılık çoğu suş sefalosporin,

polimiksin, nalidiksik asit ve penisilin'e bir kısmı da basitrasın, linkomisin, amfoterisin-B ve vankomisine dirençlidirler (12,61).

1.3. Epizootiyoloji

Brusellozis hem evcil hem de yabancı hayvanlarda görülmektedir. Üç klasik tür olan *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*'in tercih ettiği primer konakçıları varsa da diğer konakçı türlerinde de infeksiyon oluşturabilirler. *B. ovis*, *B. canis* ve *B. neotomae*'nin infekte ettiği konakçı türleri primer konakçıların dışında daha dardır (52,61).

İnsanlar üç klasik türle enfekte olurlarsa da dünya genelinde vakaların çoğundan en invaziv ve patojenik tür olan *B. melitensis* sorumludur. Patojenite yönünden *B. melitensis*'i, *B. suis* sonra da *B. abortus* izler. İnsanlarda *B. neotomae* ve *B. ovis*'e bağlı hiç bir infeksiyon bildirilmemiştir. Ayrıca *B. canis* ve *B. abortus* biyotip 5 ile infeksiyon çok nadirdir (36,52,61).

B. abortus'un sebep olduğu ve Bang ya da sığırların bulaşıcı yavru atma hastalığı olarak bilinen sığır brusellozisi dünyanın bir çok ülkesinde yaygın bir şekilde görülen zoonoz bir infeksiyondur (12,61). Güney Avrupa ve Batı Asya'daki bazı ülkeler gibi sığırların koyun ve keçiler ile yakın olarak tutuldukları yerlerde infeksiyon *B. melitensis* tarafından da oluşturulabilir. *B. canis* nadiren sığırlarda infeksiyon oluşturur (61,96).

Malta humması olarak bilinen koyun ve keçi brusellozisi Akdeniz ülkeleri ve Arap yarımadası başta olmak üzere Orta ve Batı Avrupa ülkeleri, Latin Amerika ülkeleri, Batı ve Orta Asya gibi dünyanın güney ve güneydoğu ülkelerinde görülmektedir (12,61). Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda'nın *B. melitensis* infeksiyonu yönünden ari olduğu kabul edilmektedir (61). Keçiler genellikle *B. melitensis* ile infekte olurlar ve infeksiyonun insana bulaşmasında en etkili kaynaktırlar. Zira bir keçi yaklaşık 6-7 ay kadar sürekli

bakteri saçmaktadır. Koyunlarda infeksiyon etkeni çoğu zaman *B. melitensis* bazen de *B. abortus* veya *B. suis*'dir. Koyunlar keçilere nazaran etrafa daha kısa süreli bakteri yayarlar (96).

Brusellozis'de bulaşma başlıca sindirim, konjunktiva, deri, çiftleşme ve sağım sırasında memenin kontaminasyonu ile olur. İnfeksiyonun bulaştırılmasında sinek, sivri sinek, tahta kurusu, kene ve pire gibi arthropodlar ve yabani tavşan, fare gibi kemiricilerin ayrı rolü vardır. Ayrıca serçe, karga ve kerkenez gibi kuşlar da portör olabilirler (12,27,61,81). Etkenler, infeksiyon kaynakları arasında yer alan atık yavru ve yavru zarları, uterus akıntıları, süt, bulaşık yem ve suların ağız yoluyla alınması ile indirek olarak, erkek hayvanların spermaları (suni ve tabii tohumlama) ile direkt olarak bulaşır. Mikroorganizma sağlam deri ve mukozalardan da kolayca vücuda girebilir (61).

İnsanlarda ise bulaşma genellikle hayvansal ürünlerin (pastörize edilmemiş veya kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketimi) yenilmesi suretiyle olur. Bunun dışında infekte hayvan ve bunların ürünleri ile direkt temas (elleriyle), solunum veya konjunktiva yolu ile bulaşma olmaktadır (12). Çoğu insan vakasının mesleğe bağlı olduğu görülmektedir. Çiftçilerde, kasaplarda, laboratuvar çalışanlarında ve infekte hayvanlara yapılan rektal muayene veya doğuma yardım gibi müdahalelerde gereken özenin gösterilmemesi nedeni ile veteriner hekimlerde brusellozis bir meslek hastalığı olarak görülmektedir (18,61,85,94). Ayrıca bazı insektlerin, kemirici hayvanların, kuşların, evcil hayvanların ve yabani ruminantların insan brucellosisi için vektör veya rezervuar olabileceği de bildirilmiştir (12).

İlk infeksiyon sürüye, genellikle infekte hayvanların sokulmasıyla girer. İnfeksiyon maksimum seviyeye çıktıktan sonra, statik bir döneme girer ve sürüde bağışıklık azalınca kadar bu olay birkaç yıl devam eder. Koyunlarda infeksiyon self-limiting özelliktedir ve infekte koyunlar kısa zamanda infeksiyondan

kurtulabilirler. Bu durum genelde keçi ve koyunlarda, sığırlara nazaran daha hızlıdır (61).

1.4. Patogenez

Brucella enfeksiyonu genellikle bakteriyemi fazını izleyerek üreme organları ve retikuloendotelial sisteme lokalize olur (12,14,70). *Brucella* türleri fagositik hücreler içinde yaşayabilme özelliğine sahip fakültatif intrasellüler mikroorganizmalardır. Bu nedenle *Brucella*'ya karşı oluşan immün cevapta hücresel bağışıklık önemlidir (5). Duyarlı hayvanlarda, etkenin fagositlerin antimikrobiyal etkilerinden kaçma yetenekleri enfeksiyonun patogeneğinde kritik bir rol oynar (19,61). Özellikle *B.melitensis* serumun bakterisidal aktivitesine ve lökositlerde fagositozun son basamağı olan öldürülmeye dirençlidir. Bu da etkenin virulansını artırmaktadır (56,94). Gebe hayvanların infekte olmasına bağlı olarak enfeksiyon plasenta ve fötüse yerleşir, sonuçta abortlar meydana gelir (12). Brucellozis etkenleri vücuda girdikten sonra bölgesel lenf düğümlerine ve buradan da duktus torasikus yolu ile birkaç gün içinde kan dolaşımına geçerler (2,94). Lipopolisakkarit (LPS) yüzey antijenlerine karşı antikorlar gelişir. Şekillenen anti-LPS antikorları *Brucella* türlerini opsonize ederek makrofajlar tarafından fagosite olmalarını kolaylaştırır. Ayrıca birtakım T ve B lenfositleri, dolaşımda devamlı kalan ve bağışıklık sistemini aynı antijenle tekrar karşılaştığı durumlarda (enfeksiyon veya aşılama) savunan bellek hücrelerine dönüşürler (61). Kan dolaşımında 2-3 hafta kaldıktan ve bakteriyemi sonucu organlara dağıldıktan sonra kandan çekilirler. Organların hücrelerinde canlılıklarını koruyabilir ve hatta çoğalarak hücre içi bakteriler için tipik olan granuloamları oluştururlar. *Brucella* bakterileri, bu iltihap odaklarından aralıklarla tekrar kana karışabilirler. Her kana karıştıklarında sıklıkla akşama doğru ortaya çıkan ve titreme nöbetiyle seyreden tipik bir ateş yükselmesi görülür (70). Enfeksiyon etkeni zamanla lenf düğümlerine ve dalak, meme, iliyakal lenf düğümleri gibi lenfoid dokulara lokalize olur. Etken özellikle, gebe uterus, lenf düğümleri,

testisler, bursalar tendo kılıfları, memeler ve seyrek olarak da eklemlere yerleşir. Bu organ ve dokulara lokalize olan bakteriler, makrofajların ve özellikle epitelooid hücrelerin buralara infiltrasyonuna neden olurlar. Bu nedenle daha ilk anlarda bu bölgelere makrofaj yığılmaları görülür (12).

Hayvanların fötus zarlarında bulunan polihidrik bir alkol olan erithritol brusellozis etkenlerinin (özellikle *B. abortus*) üremelerini olumlu yönde etkilediğinden burada üreme çok fazla olur ve buna bağlı olarak kotiledonlarda yangısal ve nekrotik değişiklikler meydana gelir. Bu değişimler sonucu fötusun beslenme ve gelişmesi durur sonuçta fötüs ölür. Etken fötusa ait korionik villi epitellerinde ürer ve buradan korion ve uterus mukozası arasına yayılır. Villilerde oluşan yağ dejenerasyonu ve otoliz sonucu meydana gelen fibrinopurulent eksudat fötal ve maternal zarlar arasındaki bağlantının gevşemesine ve fötal membranın ayrılarak yavrunun atılmasına neden olur. Gebe hayvanların *Brucella* etkenlerine karşı duyarlı olmaları bu şekilde açıklanmaktadır (2,19,27,55,67,94).

1.5. Hastalığın Klinik Semptomları

Brusellozis'in inkübasyon süresi değişik nedenlere bağlı olarak 10-250 gün arasındadır. *Brucella* enfeksiyonlarında abortların büyük çoğunluğu gebeliğin ikinci yarısında meydana gelir (71). İnsan plasentasında erithritol bulunmaz (5,94). Bu nedenle insanlarda *Brucella* enfeksiyonlarına bağlı abortlara genellikle rastlanmaz (61). Koyun ve keçilerde gebeliğin son dönemlerinde enfeksiyona bağlı olarak yavru atmalar görülür. Ayrıca, mastitis, genel düşünlük, zayıflama, eklemlerde şişmeler ve topallıklar görülür. Genellikle, *B. melitensis*'ten ileri gelen koyun brusellozisinde ilk yıllarda yavru atmalar çok yüksek oranlarda seyredir. Takip eden yıllarda ise yavru atma oranı düşer. Bu durum hiçbir zaman hastalığın söndüğü anlamını taşımaz. Bazı vakalarda etken plasenta içinde kalabilir. Bu durumda infertilite ve septisemi meydana gelebilir. Abort öncesi etkenler süt, gaita, vajen akıntısı; abort sonrası ise embriyonal zar ve sıvılarla çevreye bol miktarda aralıklı olarak yayılırlar. Mastitiste memelerin görünüşü normal olsa da sütte yapısal değişiklikler olur ve meme içinde de nekrotik odaklar gözlenir. Bu odakların çevresi fibröz bir kapsülle çevrilir. Kotiledonların ortaları boz sarı renktedir, nekroze olmuş ve çevreleri koyu kırmızıdır. Uterus mukozası şişkindir. Erkek hayvanlarda epididimitis ve testislerde nekroz odakları vardır. Testisler 2-3 misli büyümüşlerdir ve peniste kızarıklık, üzerinde darı tanesi şeklinde serpilmiş kırmızı kabarcıklar görülür. Atık yavruda karaciğer üzerinde milier nekrozlar ve hepatitis gözlenebilir (12,19,67).

1.6. Teşhis

1.6.1. Klinik Teşhis

Gerek insanlarda ve gerekse hayvanlarda brusellozide ortaya çıkan ve atipik bir özellik arzeden klinik belirtiler çoğu zaman infeksiyonu tanımak için yetersiz kalırlar. Genelde yavru atımından başka klinik belirtiler gözlenmez. Bu durum, *Trichomonas fetus*, mikotik abortuslar, enzootik abortuslar, campylobacteriosis, *Listeria* abortusları ve gıda zehirlenmeleri ile karışır. Bu nedenle direk (etkenin izolasyonu ve identifikasyonu) ve indirek (serolojik, allerjik) teşhis metotlarına başvurulur.

1.6.2. Laboratuvar Muayeneleri

İnfeksiyonun teşhisi amacıyla laboratuvara kan, atık yavru, uterus-vajen akıntısı, plasenta, süt, sperma vs. gibi çeşitli patolojik materyaller gönderilir (12,37). Laboratuvar muayenelerinden bakteriyoskopi, kesin teşhis için yeterli değildir. Yavru mide sıvısı, vajinal mukus, kotiledonlar, dalak, fetal membranlar vs. gibi şüpheli materyallerden frotiler hazırlanır ve bu frotiler Stamp (modifiye Ziehl-Neelsen), modifiye Köster ve Gram boyama metotları ile boyanarak muayene edilirler. Kültürel yoklamalar için özel besi yerleri kullanılır. *Brucella*'lar genellikle bu ortamlarda yavaş ve güç ürerler. Hayvan deneyinde kobay kullanılır. Elde edilen kültürler ve kontaminasyon ihtimali olan marazi maddeler (süt, idrar vs.); intraperitoneal, subkutan ve kas içi yolla deney hayvanlarına verilir. Her örnek için iki deney hayvanı kullanılmalıdır. 3. ve 6. haftalarda kanları alınarak serolojik inceleme yapılır ve sonra öldürülürler. Otopside görülen patolojik lezyonlar değerlendirmeye alınır ve özellikle dalak, karaciğer vs. gibi lezyonlu organlardan uygun besiyerine ekimler yapılarak izolasyona çalışılır (12).

1.6.2.1. Serolojik Testler

Brusellozisin kesin teşhisi etkenin izolasyonuna ve identifikasyonuna bağlı olmasına rağmen çok sayıda hayvan sözkonusu olduğunda kültürel muayenelerle infekte hayvanları saptamak saha ve laboratuvar personeli için pratik değildir (76). Ayrıca birçok nedenden dolayı infekte hayvandan etken izolasyonu her zaman mümkün olmayabilir (45,53). Bundan dolayı brusellozisin kontrol ve eradikasyonu, serolojik testlerle reaktörlerin saptanmasına dayandırılmıştır. Ne var ki, koyun serumlarında serolojik testlerin değerlendirilmesi ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır ve bunların sonuçları da tatmin edici değildir (76). Brusellozisin indirekt teşhisinde serum, süt, vajinal mukus ve seminal plazma gibi çeşitli vücut sıvılarında *Brucella*'lara karşı oluşan antikörleri saptamaya yönelik birçok serolojik test geliştirilmiştir (18,61). Serolojik teşhis için kan serumunun genellikle yavru atımından 15-20 gün sonra alınması gerekmektedir (45).

Klasik serolojik testlerde tanısal spesifitenin artması o testin saptadığı antikor izotipinin sınırlı olması ile paralellik gösterir. Brusellozis'de IgG₁'in gerek kanda en uzun süreli ve en dominant olarak kalan ve gerekse immun cevabın en erken dönemlerinde saptanabilen bir izotip olması, sadece bu izotipi saptayan serolojik testlerin güvenilirliğini arttırmaktadır. Ayrıca brusellosiz eradikasyon programları gereği yaygın olarak yapılan aşılamalarda, hayvanlarda aghutinojen antikörler oluştuğundan serolojik testlerde aşılı ve infekte hayvanların ayırımında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bruselloziste doğal enfeksiyonlardan ve S19, Rev.1 canlı aşılamalarından sonra oluşan antikörleri birbirinden ayıracak bir test bugün için mevcut değildir. Ancak IgG₁ izotipi doğal olarak infekte olan hayvanlarda, aşılanmış hayvanlara göre daha uzun bir süre kaldığından bu izotipi saptayan testler bu açıdan daha güvenilir olarak kabul edilmektedir (61).

Brusellozis'in kontrol ve eradike edilmesi, sistemli bir programa, serolojik testlerle reaktörlerin belirlenmesi ve ayırt edilmesi temeline dayanır (62). Bu nedenle

indirek teşhiste bir takım serolojik testlere başvurulur. Brusellozisinin serolojik teşhisinde kullanılan testler arasında Rose Bengal Plate Test (RBPT) (20,38,41), Serum Aglutinasyon Testi (SAT) (15,75), Rivanol Aglutinasyon Testi (RAT) (59,66,83), Komplement Fiksasyon Testi (KFT) (21,87), Dithiothreitol Mikroaglutinasyon Testi (DTT-MAT) (103), Etilen Diamin Tetraasetik Asit Mikroaglutinasyon Testi (EDTA-MAT) (51,75,103), Milk Ring Testi (MRT) (97), Agar Gel İmmünodifüzyon (AGID) (42), Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) (49,89) ve Fluorescence Polarization Assay (FPA) (84) vs. gibi serolojik testler yer almaktadır.

Tüm dünyada brusellozis için referans test olarak KFT kabul edilmiştir. SAT ve RBPT ise tarama testi olarak kullanılmaktadır (62).

Rose Bengal Plate Testi'nde, *B.abortus* suşu (1119-3 veya *B.abortus* biovar S99) ile hazırlanan antijen kullanılır (4,10). Rose Bengal boyası ile boyanmış olan bu antijen Dr.Pietz tarafından geliştirilmiş olup, pH'sı 3.6 (3.6±0.05)'dir (20,38). Card test olarak da modifikasyonları bulunan Rose Bengal Plate Test hem laboratuvar şartlarında hem de sahada tarama testi olarak kullanılmaktadır. pH'nın 3.6 (asidik) olması, serumdaki IgM'lerin aktivitesini etkisiz kılar ve IgG'lerin (özellikle IgG₁) reaksiyonda rol oynamamasını sağlar (15,18,103). Ayrıca non spesifik aglutininlerin de etkinliğini engeller. Diğer serolojik testlere göre daha az yanlış negatif reaksiyon verdiği ancak genellikle aşılı hayvanlarda yanlış pozitif sonuçlara rastlandığı bildirilmiştir. Bunun nedeni olarakta, aşı sonucu meydana gelen IgM'lerin kros reaksiyon vermesi gösterilmiştir (103). Rose Bengal Plate Test kronik vakaları pratik ve çabuk olarak ortaya koyar. Bu nedenle çoğu zaman serum aglutinasyon ve KFT'leri ile beraber kullanılır. Rose Bengal Plate Test antijenindeki hücre yoğunluğunun 50 g/l olarak ayarlanması, infekte koyunların belirlenmesinde testin etkinliğini artırdığı bildirilmiştir (11). Corner ve ark.(35)'ı yaptıkları bir çalışmada aşılama öncesi RBPT'nin %89.5, aşılamadan 42-44 hafta sonra %100 duyarlılıkta

bulduğunu ve kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir. Al-Relarmia ve ark. (3)'ü abort yapan 30 koyun kan serumunda, RBPT ile %62, SAT'i ile %77 pozitiflik elde etmişler ve iki testin birlikte kullanılmasını önermişlerdir.

Serum Aglutinasyon Testi (SAT), makro SAT ve mikro SAT olarak uygulanmaktadır. Brusellozisin teşhisinde yıllardır laboratuvar şartlarında kullanılan önemli bir testtir (18). Makro SAT fazla miktarda serum, tüp, pipet ve antijen gerektirdiği için çok sayıda örneğin işlenmesinde dezavantaja sahiptir. Mikro SAT, az miktarda serum ve antijen gerektirmesi, uygulandığı mikropate'lerde çok sayıda örneğin değerlendirilmesi gibi bir takım avantajlara sahiptir. Mikro SAT sonuçlarının okunması sırasında oluşabilecek güçlükler de, antijenin çeşitli boya maddeleri (safranin-O, trifeniltetrazolium klorid vs) ile boyanmasıyla ortadan kaldırılmıştır (103). Serumun fizyolojik tuzlu su (FTS) ile iki katlı dilüsyonlarına aynı oranda standart *Brucella* Tüp Aglutinasyon antijeninin eklenmesi ve 37°C'lik etüvlerde 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda değerlendirilen bir testtir. Bu testte antijen olarak *B. abortus*'un insanlar için avirulan olan 456 nolu standart suşu kullanılır. Antijen *B. abortus*'un S kültürlerinin ısı ile öldürülmüş fenollü süspansiyonudur (38). Bu antijen her üç tipe karşı oluşmuş antikorlar tarafından agütine edilir (2,96). Serum-antijen karışımının 1/20 sulandırmasında 2 + lık yani %50 aglutinasyon ile daha yüksek düzeydeki reaksiyonlar koyun ve keçilerde pozitif olarak kabul edilir. Sığırlarda ise 1/40 sulandırmada 2 + lık yani %50 aglutinasyon ve daha yüksek düzeyde reaksiyon verenler pozitif olarak değerlendirilir (9). SAT'da çoğunlukla sulandırmada kullanılan FTS çoğunlukla %0.85'lik bir yoğunluğa sahiptir (4). Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda keçi ve koyun serumlarının sulandırmasında kullanılan FTS nin %5-10 yoğunlukta olmasının testin etkinliğini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (100). Kronik vakalar dışındaki akut brusellozisin serolojik teşhisinde SAT'ın daha kullanışlı olduğu bildirilmiştir (57,93). Çünkü, SAT da IgM'lerin IgA, IgG₁, IgG₂ ye göre reaksiyon verme etkinlikleri daha yüksektir (11,72,86). Hastalığın

erken ve kronik devresinde genellikle titresi yüksek olan serumlarda prozon ve diğer bloke edici fenomenlerden ileri gelen yanlış negatiflikler ortaya çıkabilir ki, bu gibi durumlarda RBPT ve KFT başta olmak üzere diğer bir takım testlere başvurulması önerilmektedir (92). Yardımcı (104) 192 koyun serumu üzerinde Plate Test, RBPT ve SAT ile yaptığı çalışmada SAT'ı diğer iki testten daha duyarlı bulmuştur.

Rivanol Aglutinasyon Testi (RAT), brusellozisin serolojik teşhisinde kullanılan yardımcı bir testtir. Brusellozun erken evresinde önce IgM sonra IgG antikorları oluşur. İlerleyen dönemlerde IgM gittikçe azalarak ortadan kalkar. Bazen uzun bir süre düşük titrelerde ve nadiren yüksek titrelerde devam edebilir. IgG yapımı ise sürer. Bu süregen dönemin durumunu izlemek amacı ile yalnız IgG antikorlarının titresini ortaya çıkarabilmek için IgM'nin Rivanol'e olan duyarlılığından yararlanılır (19). Rivanol, gamma globulinler hariç serum proteinlerini ve IgM'leri presipite eder (4). Rivanolün kimyasal formülü 2-ethoxy-6,9-diamino acridine lactate'dır. Test, pleyt ve tüpte olmak üzere iki ayrı şekilde uygulanmaktadır (4). Bazı araştırmacılara göre RAT'da şekillenen non spesifik kütlelerden dolayı sonucu okumanın zor ve zahmetli olması gibi nedenlerle, testin enfekte hayvanlarda, KFT ve SAT'dan daha az duyarlı olduğu kabul edilmektedir (59,66). Diğer bir grup araştırmacı ise KFT ile benzer sonuçlar verdiğini bildirmektedir (83).

Komplement Fiksasyon Testi (KFT) ilk olarak McFadyean ve Stockman (79) tarafından uygulanmıştır. KFT'de, *B. melitensis* REV 1 ile aşılınmış koyun ve keçilerde aşidan meydana gelebilecek reaksiyonlar kısa sürede negatif olacağından aglutinasyon testleri üzerinde bir üstünlüğe sahiptir. Ayrıca ilk defa *Brucella* enfeksiyonuna maruz kalan kuzularda, sonradan meydana gelen reinfeksiyonlarda aglutinin titresi zayıf olduğundan bu gibi hayvanlarda KFT avantajlı olmaktadır. Ancak uygulama prosedüründeki güçlükler (komplement, amboseptör ve antijen titresinin belirlenmesi ve su banyosu gibi ekstra malzeme gerektirmesi) ve bazı

serumların antikomplementer özellikte olması gibi bir takım dezavantajları vardır. KFT, doğal infekte hayvanlarda yüksek spesifite ve sensitiviteye sahiptir. Standart ve Kolmer olmak üzere iki ayrı metodu vardır. Soğukta (4°C de 18 saat) ve sıcakta (37° de 30 dakika), makro ve mikro olarak uygulanabilir. Sıcakta KFT daha güvenli olup antikomplementer reaksiyonlar daha az görülür ve kısa sürede sonuç alınır. Bununla beraber prozon olayının daha sık görülmesi gibi dezavantajları vardır (4). Soğukta KFT ise infeksiyonları daha erken tespit etmekte, yanlış pozitiflik daha az görülmekte ve pozitif serumlarda daha yüksek titre göstermektedir. Fakat zayıf kaliteli serumlarda antikomplementer aktivitenin daha fazla görülmesi gibi dezavantajları vardır(4,24,74).

Komplement bütün hayvanların kan serumunda bulunan glikoprotein tabiatında bir elementtir. Yaklaşık yirmi adet serum proteini ile dokuz ana komponente sahiptir (39). Komplement antikor değildir, tek başına antijen ve antikorla bağlanamaz ancak antijen-antikor kompleksine bağlandığında duyarlı hale gelerek aktive olur. Biyolojik etkenlerin lize olmasına yardımcı olur. Isıya duyarlıdır. 56°C 'de 30 dakikada inaktive olur. Koyunlarda ise serumun antikomplementer özelliğinden dolayı inaktivasyon derecesi 62°C 'dir (4). KFT'de rol oynayan antikorlar IgM ve IgG₁'dir. IgG₂'lerin kobay komplementini fikze edici özellikte olmaması nedeni ile testte etkinliği yoktur (4,18). IgM'lerin etkinliği inaktivasyon derecesinden dolayı azdır. Serumun inaktivasyon derecesi yükseldikçe (65°C) IgM inaktif hale geçer (4).

Sürü tarama testlerinde KFT ile RBPT'nin birlikte yapılması önerilmektedir (6). Karaman ve Güler (68), 1077 kan serumu ile yaptıkları bir çalışmada, KFT ile RAT'ın aşılı ve infekte hayvan serum titrelerinin ayırt edilmesinde üstünlük gösterdiklerini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar incelenen 92 serumda KFT'nin %35.7, RAT'ın %36.9 pozitiflik gösterdiğini bildirmişlerdir. İki test arasındaki uyum %96.7 bulunmuştur. KFT'de 1/5 serum dilusyonunda 2 + bulanıklık (%50) pozitif

olarak değerlendirilmektedir (4). KFT'nin gerek tek başına ve gerekse diğer serolojik testlerle birlikte kullanıldığı çalışmalarda genelde üstünlük gösterdiği bir çok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (91,93,98).

1.6.2.2. Alerjik Testler

Brusellozisin tanısında alerjik reaksiyonlardan da yararlanılmaktadır. Çeşitli ülkelerde, birçok araştırmacı tarafından günümüze kadar farklı metot ve teknikler ile çeşitli isimler altında allerjenler hazırlanmış ise de bugün kullanılan iki allerjen vardır. Bunlar Çin'de ve bir çok Avrupa ülkesinde hazırlanan *Brucella* hücre hidrolizatı (F-fraksiyonu) ve Fransa'da elde edilen lipopolisakkaridsiz protein (Brucellin-INRA) den ibarettir (69). Kültür ve serolojik testler kadar güvenilir sonuç vermeyen alerjik testlerin bazen iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir (40). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından koyun, keçi, domuz ve insanlarda brucellohydrolysate, MBP antijen ve melitin isimli allerjenlerin kullanılması tavsiye edilmektedir. Ancak bu konuda henüz bir standardizasyon sağlanamamıştır (4). Allerjenler; yağlı kuyruklu koyunlara, ophtalmo veya intra-palpebral olarak, bazen de subkutan olarak, çoğunlukla da koyunların kuyruk altı derisine uygulanır. İntra-palpebral uygulama, pratik ve zararsız olmasından dolayı tercih edilmektedir (4,40).

1.7. Sağaltım

Brusellozis "Mücadele Talimatnamesi'nin 13. maddesinde; brusellozis dolayısı ile kesimlerine hükmedilen süt veya et sığırlarının kesiminden sonra hayvan sahibine, kanuni hükümler dahilinde tazminat verilir" denmektedir. İnsan brusellozisinde tedavi amacıyla 1986 yılında WHO doksisisiklin + rifambisin kombinasyonunun 6 hafta süre ile kullanılmasını önermiştir (41). Son yıllarda yapılan çalışmalarda tedavi amacı ile streptomisin, tetrasiklin, klortetrasiklin, kloramfenikol gibi antibiyotikler kullanılmaktadır (19,56). Etkenin intrasellüler parazitizm göstermesi neden ile tedavi süresi uzun tutulmaktadır. Hayvanlar için bu antibiyotiklerin iyi sonuç verdiği bildirilmiş ise de ekonomik değildir (56).

1.8. Koruma ve Kontrol

Brusellozis ile mücadelede genel (brusellozisten ari sürülere enfeksiyonu sokmamak, portörleri tespit edip sürüden ayırmak, hijyenik önlemleri zamanında almak ve devam ettirmek, bağışıklık artırıcı önlemler almak, sürüye dışardan getirilecek tüm hayvanların kontrol edildikten sonra sürüye sokmak, yurt içi hayvan hareketleri kontrol altında tutmak, yurt dışından ithal edilecek hayvanlara gerekli kontrol işlemlerinin sınır kapılarında uygulamak ve daha sonra ülke içine girişlerine izin verilmesi gibi) tedbirlerin yanı sıra aşılama, test-kesim ve bu iki yöntemin birlikte uygulanması gibi üç temel yönetime dayanmaktadır. Ülkemizde hastalıkla mücadele aşılama ile yapılmaktadır. Yalnızca genç hayvanların aşılması ile tüm populasyonda immunité oluşması uzun yıllar alacağından mücadelenin başlangıcında daha kısa sürede ve etkili bir bağışıklık için genç ve erginlerin birlikte aşılması önerilmektedir. Şimdiye kadar çeşitli ülkelerde çok sayıda araştırmacı çeşitli aşılar üzerinde çalışmışlardır. Brusellozise karşı hayvanlarda immunité sağlamak amacını güden bu çalışmalar başarılı sonuçlar vermiştir. Bunların çoğu geniş ölçüde uygulanmış ve güvenilirlikleri üzerinde çalışılmıştır. Aşılama, hastalığı eradike edemez. Ancak insidensini çok düşük bir seviyeye düşürerek ve hastalığın yayılmasını sınırlandırarak eradikasyona zemin hazırlar. Sığırlarda canlı *Brucella abortus* S19 aşısı, ölü adjuvantlı R 45/20 aşısı, koyun ve keçilerde ise *Brucella melitensis* Rev.1 attenüe aşısı ve *B. melitensis* H 38 aşıları da denenmiş ve iyi sonuçlar alınmıştır. Kullanılan aşılar genellikle aglutinojenik aşılardır ve bunlar iyi bir bağışıklık oluşturma gücüne sahiptirler. Ancak aglutinojenik aşılar uzun bir süre aglütine edici antikorların oluşumuna sebep olarak hastalığın tanısına yönelik yapılan testlerde yanlış pozitif sonuçların alınmasına neden olabilirler. Buna karşılık non-aglutinojenik bir aşı olan R 45/20 aşısının verdiği bağışıklık daha düşük bir düzeydedir (61). Sığırlar için S19, koyunlar için Rev.1 en yaygın ve kabul gören canlı aşılardır (12,61). *B.melitensis* Rev.1 suşu ilk defa Elberg ve Meyer tarafından

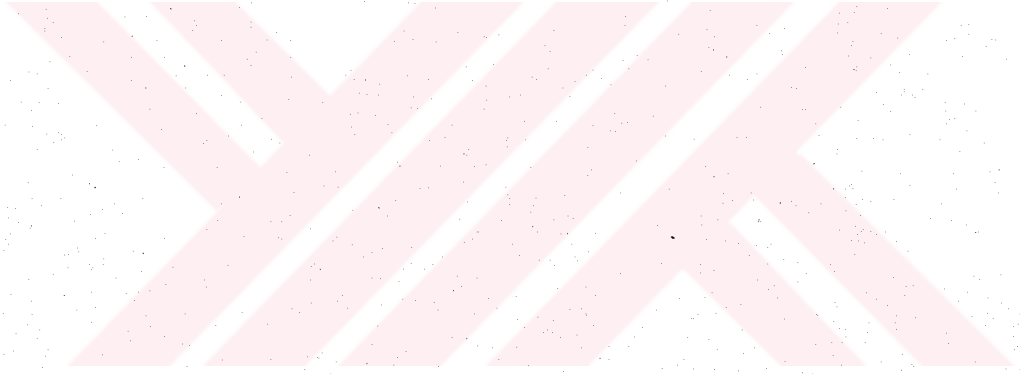
tanımlanmıştır. Ülkemizde ise bu aşı 1966 yılında kullanılmaya başlanmıştır (62). *B.melitensis* Rev.1 aşısı, 3-8 aylık kuzu ve oğlaklara veya dişi koyun ve keçilere koç katımından 1 ay önce uygulanmalıdır. Rev.1 aşısı ile aşılanan koyunlarda ikinci veya üçüncü gebeliğin sonuna kadar koruma sağlanmaktadır (61,62). Rev.1 aşısı ülkemizde 1968 yılından beri kuzu ve oğlaklara uygulanmaktadır. *B.abortus* S19 aşısı ise 4-8 aylık dişi danalara ve 8 aylıktan büyük sağlıklı dişi sığırlara uygulanmalıdır. *B.abortus* S19 aşısı hayvanları dördüncü veya beşinci gebeliğe kadar atıklara karşı korumaktadır. Bu aşı ülkemizde 1960 yılından beri uygulanmaktadır (61). Yoğun olarak infekte olan ve özellikle ekstansif yetiştiriciliğin yaygın olduğu bölgelerde küçük ruminantlarda tek başına test-kesim yöntemiyle hastalığın eradikasyonu mümkün değildir. Bu nedenle aşılama infeksiyonun kontrolünde başlıca kontrol stratejisini oluşturmaktadır. Aşılama infeksiyona karşı hayvanların direncini artırmakta ve atık sayısını azaltmaktadır. Ancak uzun süren (5-10 yıl) etkili bir genel aşılama programı (populasyonun en az %80'inin aşılanmasıyla) ile infeksiyon oranı yeterince azaldıktan sonra (infekte sürü oranı yaklaşık %1 olduğunda) test-kesim yöntemiyle eradikasyona başlanabileceği kabul edilmektedir (61,62).

Ülkemizde 1984 yılından beri sürdürülmekte olan aşılama programına rağmen bazı illerde enfeksiyon oranı hala oldukça yüksektir. 15 yıldır uygulanan bir mücadele programı olmasına rağmen hastalığın yeterince kontrol altına alınmamış olmasında yeterli mali kaynağın sağlanamaması, çeşitli nedenlerle aşı uygulamalarının aksaması, yetiştiricilik yapısı ve eğitim eksikliği başlıca nedenler arasındadır (61).

Brusellozisin kontrolünde aşılama başlıca kontrol stratejisi olduğuna göre aşılama ile ilgili problemlerin doğru bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir. Aşıların hem insanlarda hem de hayvanlarda infeksiyon oluşturma riski mücadele programının kritik elemanları olan, uygulayıcılar (Veteriner Hekimler) ve hayvan

yetiştiricilerinde bir isteksizlik yaratmaktadır. Brusellozide aşılamanın etkisi kümülatiftir. Yetiştirici aşının yararını hemen görememektedir. Hastalığın kontrolünde onların işbirliği ve çabası olmaksızın başarı sağlamak güç olduğuna göre yetiştiricilerin eğitimi ve teşvik edilmesi önemlidir (61).

Bu çalışmada bazı serolojik testler (Rose Bengal Plate Test, Serum Aglütinasyon Test, Rivanol Aglütinasyon Test ve Komplement Fiksasyon Test) kullanılarak brusellozis yörede seroepidemiolojik olarak belirlenmeye çalışılmıştır. Aynı zamanda çalışmada kullanılan testlerin yörede brusellozisin tespitindeki kullanılabilirliği belirlenmeye çalışılmıştır.



2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Serum Örnekleri

Bu çalışmada Kars merkez ve ilçelerine bağlı köylerden elde edilen toplam 400 adet koyuna ait kan örneği laboratuvara getirilerek serumları ayrıldı ve serumlar inceleninceye kadar -20 °C'de saklandı. Kan serumlarının alındığı yerler Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Kan serumlarının alındığı yerlere göre dağılımı.

İLÇE	KÖY	SERUM SAYISI
Merkez	Has Çiftliği	10
Merkez	Oğuzlu	55
Merkez	Yalçınlar	28
Merkez	Subatan	30
Merkez	Çerme	32
Merkez	Kümbetli	23
Merkez	Yücelen	29
Selim	Kaynarlı	17
Selim	Germeli	10
Arpaçay	Koçköy	24
Arpaçay	Karakale	50
Arpaçay	Taşdere	14
Susuz	Karapınar	35
Susuz	Gölbaşı	20
Susuz	Aynalı	14
Digor	Hisarönü	9
TOPLAM	16	400

2.1.2. Rose Bengal Plate Testinde Kullanılan Materyal

2.1.2.1. Antijen

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü tarafından üretilen ve *Brucella abortus* S99 suşundan hazırlanan Rose Bengal boyası ile boyanmış antijen kullanıldı.

2.1.3. Serum Aglütinasyon Testinde Kullanılan Materyal

2.1.3.1. Antijen

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü tarafından üretilen ve *Brucella abortus* S99 suşundan hazırlanan antijen kullanıldı.

2.1.3.2. Fenollü Fizyolojik Tuzlu Su (FFTS)

Serumun sulandırılmasında kullanıldı. 1000 ml distile suya 9 g sodyum klorür (NaCl) ve 5 g fenol ilave edilerek, eritilinceye kadar kaynatıldı ve otoklavda steril edildikten sonra testte kullanıldı.

2.1.4. Rivanol Aglütinasyon Testinde Kullanılan Materyal

2.1.4.1. Antijen

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü tarafından üretilen ve *Brucella abortus* S99 suşundan hazırlanan antijen kullanıldı.

2.1.4.2. %0.4'lük Rivanol Solüsyonu

Serumun ön işleminde kullanıldı. 100 ml distile suya 400 mg rivanol konulup eriyene kadar karıştırıldı. Bir süre 37°C'de bekletildikten sonra testte kullanıldı.

2.1.4.3. Fenollü Fizyolojik Tuzlu Su (FFTS)

Serumun sulandırılmasında kullanıldı. 1000 ml distile suya 9 g sodyum klorür (NaCl) ve 5 g fenol ilave edilerek, eritilinceye kadar kaynatıldı ve otoklavda steril edildikten sonra testte kullanıldı.

2.1.5. Komplement Fikzasyon Testinde Kullanılan Materyal

2.1.5.1. Kontrol Serumları

Çalışmada kullanılan pozitif ve negatif kontrol serumları Institut Pourquier-Montpellier (Fransa)'den temin edildi.

2.1.5.2. Antijen

Institut Pourquier-Montpellier (Fransa)'den sağlanan antijen Veronal Buffer Dilüsyonu ile %1 oranında sulandırılıp, titresi belirlendikten sonra testte kullanıldı.

2.1.5.3. Veronal Buffer Dilüsyonu (VBD)

Institut Pourquier-Montpellier (Fransa)'den sağlanan konsantre Veronal Buffer, 1/5 oranında distile su ile dilüe edilerek testte kullanılmak üzere Veronal Buffer Dilüsyonu hazırlandı.

2.1.5.4. Alsever Solüsyonu

Koyun eritrositlerinin alınmasında kullanıldı. Alsever solüsyonu aşağıdaki formüle göre hazırlandı (4) .

Glukoz	18.66 g
Sodyum klorür	4.18 g
Sodyum sitrat	8.00 g
Sitrik asit	0.55 g
Distile su	1000 ml

Kimyasal maddelerin tümü 1000 ml distile suda eritildi. Daha sonra otoklavda steril edildikten sonra kullanıldı.

2.1.5.5. Koyun Eritrositi

Aseptik koşullar altında koyunun vena jugularisinden alınan kan, Alsever solüsyonu bulunan steril tüpe aktarıldıktan sonra Veronal Buffer Dilüsyonu ile 1500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek yıkandı ve testte %3'lük eritrosit süspansiyonu kullanıldı.

2.1.5.6. Komplement

Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brusellozis biriminden temin edildi.

2.1.5.7. Amboseptör (Hemolizin)

Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brusellozis biriminden temin edildi.

2.1.5.8. Otomatik Pipet ve Pipet Uçları

Tampon sıvıların ve serumların testlerde kullanılmasında 1-1000 mikrolitre (μ l) arasında dağıtım yapabilen otomatik pipetler ve bunlara uygun pipet uçları kullanıldı.

2.1.5.9. Mikropleyt

KFT yönteminde koyun serumlarında *B.melitensis* etkenine karşı oluşan antikorları saptamak amacıyla 96 çukurlu "U" tabanlı mikropleytlere (Greiner und Söhne) yararlanıldı.



2.2. METOT

2.2.1. Rose Bengal Plate Testi

Alton ve ark. (13) tarafından bildirilen yönteme göre yapıldı. Testte, 0.03 ml serum ile 0.03 ml RBPT antijeni lam üzerinde karıştırıldı. Lamın oval hareketleri sonucu 4-5 dakika içinde oluşan aglütinasyon pozitif, homojen görüntü ise negatif olarak kabul edildi.

2.2.2. Serum Aglütinasyon Testi

Alton ve ark. (4)'nın bildirdiği yönteme göre yapıldı. Bir seri tp alınarak ilk tüpe 0.8 ml diğer tüplere 0.5 ml fenollü (%0.5) fizyolojik tuzlu su konulduktan sonra birinci tüpe 0.2 ml serum ilave edilerek karıştırıldı. Birinci tüpteki serum sulandırmasından ikinci tüpe 0.5 ml aktarıldı ve bu işlem son tüpe kadar tekrarlanarak son tüpten 0.5 ml atıldı. Böylece serumların iki katlı sulandırmaları (1/5,1/10,1/20,.....1/320) yapıldı. Tüm tüplere standart *B.abortus* tp aglütinasyon antijeninden 0.5'er ml konularak 1/10 dan 1/640'a kadar serum sulandırmaları elde edildi. Tüpler çalkalandıktan sonra 37 °C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda dantela şeklindeki çökeltinin görüldüğü son tüpteki sulandırma, serum titresi olarak kabul edildi ve aglütinasyon derecesi üst sıvının berraklığına göre 4 +, 3 +, 2 +, + ve negatif olarak gözle değerlendirildi. 1/20 ++ ve üstü pozitif olarak değerlendirildi. Her testte pozitif ve negatif kontrol serumları kullanıldı ve her dilüsyon sonrasında pipet değiştirildi.

2.2.3. Rivanol Aglutinasyon Testi

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Brusellozis mücadele talimatnamesine (9) göre yapıldı. Test yapılmadan önce numune serum %0.4'lük rivanolle işlendi. Bu amaçla; 0.4 ml serum 1.2 ml %0.4'lük rivanol solüsyonu ile bir tüpte iyice karıştırıldıktan sonra oda ısısında 15 dakika bekletildi. Bu süre sonunda 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı testte 1/4 oranında sulandırılmış sıvı olarak kullanıldı.

Bir seri tüp alınarak ilk tüpe 0.2 ml diğer tüplere 0.5 ml fenollü (%0.5) fizyolojik tuzlu su konulduktan sonra birinci tüpe 0.8 ml rivanol ile işlenmiş serum ilave edilerek karıştırıldı. Birinci tüpteki serum sulandırmasından ikinci tüpe 0.5 ml aktarıldı ve bu işlem son tüpe kadar tekrarlanarak son tüpten 0.5 ml atıldı. Böylece serumların iki katlı sulandırmaları (1/5,1/10,.....1/320) yapıldı. Her tüpe standart *Brucella* Tüp Aglutinasyon Antijeni'nden 0.5 ml konularak 1/10 dan 1/640 a kadar serum sulandırmaları elde edildi. Tüpler çalkalandıktan sonra 37 °C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda dantela şeklindeki çökeltinin görüldüğü son tüpteki sulandırma serum titresini kabul edilerek, aglutinasyon derecesi üst sıvının berraklığına göre 4 +, 3 +, 2 +, + ve tüpteki homojen bulanıklık negatif olarak değerlendirildi. 1/10 ++ ve üstü pozitif olarak değerlendirildi. Her testte pozitif ve negatif kontrol serumları kullanıldı.

2.2.4. Komplement Fiksasyon Testi

2.2.4.1. Komplement Titresinin Belirlenmesi

Alton ve ark. (4)'nın bildirdiği yönteme göre yapıldı. On adet deney tüpü alınarak birden ona kadar numaralandırıldı. Sırasıyla birinci tüpten başlayarak 0.72, 0.71, 0.70, 0.69, 0.675, 0.65, 0.625, 0.60, 0.55 ve son tüpe 0.5 ml veronal buffer dilüsyonu (VBD) konuldu. Uzerlerine sırasıyla 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.075, 0.1, 0.125, 0.15, 0.2 ve son tüpe 0.25 ml 1/40 dilüsyonda komplement konuldu. Tüpler kuvvetlice karıştırıldıktan sonra 37  C'de 30 dakika su banyosunda tutuldu. Bu süre sonunda bütün tüplere 0.25 ml sensitize eritrosit süspansiyonundan (0.25 ml titresi tespit edilmiş amboseptör ve 0.25 ml %3'l k koyun eritrositi karışımı=Hemolitik sistem) ilave edildikten sonra iyice karıştırıldı ve sonra 37  C'de 30 dakika su banyosunda tutuldu. Tam eritrosit lizisi görülen ilk tüpteki sulandırma 1 exact unite (Minimal Hemolitik Doz=MHD) bir sonraki dilüsyon 1 full unite (Tam Hemolitik Doz=THD) olarak alındı. Testte 2 full unite kullanıldı. Testte kullanılan komplementin titresi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Komplementin titresinin belirlenmesi Tablo 3'de gösterilmektedir.

Komplement sulandırma oranı

Komplementin Titresi: _____

4x 2 Tam Hemoliz Gösteren Dilüsyon

Tablo 3. Komplement Titresinin Belirlenmesi.

Tüp No	Komplement 1:40 (ml)	Diluent (VBD) (ml)		Hemolitik sistem (ml)
1	0.03	0.72	37 °C'de	0.25
2	0.04	0.71	30 dk.	0.25
3	0.05	0.7	su	0.25
4	0.06	0.69	banyosu	0.25
5	0.075	0.675		0.25
6	0.1	0.65		0.25
7	0.125	0.625		0.25
8	0.15	0.6		0.25
9	0.2	0.55		0.25
10	0.25	0.5		0.25

37 °C'de 30 dakika su banyosunda inkübasyon

Sonuç Tam hemoliz gösteren komplement titresini 1U kabul edilip testte 2U kullanıldı.

2.2.4.2. Amboseptör Titresinin Belirlenmesi

Alton ve ark. (4)'nın bildirdiği yöntemine göre yapıldı. İlk dilüsyon olarak 1/500'lük amboseptör dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan 1/1000, 1/2000, 1/5000, 1/7500, 1/10000 ve 1/15000'lik dilüsyonlar ayrı tüplerde hazırlandı. Birden yediye kadar numarandırılmış tüplerin her birine sırasıyla dilüsyonlardan 0.25'er ml konuldu. Üzerlerine %3 lük eritrosit süspansiyonundan ilave edildi. Tüpler aralıklarla çalkalanarak 15 dakika bekletildi. Daha sonra her tüpe 1 ml VBD ilave edildi ve titresini (1/20, 2FU) belirlenen komplementten 0.5'er ml konuldu. Tüpler çalkalandı ve 37 °C'de 30 dakika süreyle su banyosunda tutuldu. Tam hemoliz veren en yüksek dilüsyon bir ünite kabul edildi ve bu dilüsyonun iki katı olan dilüsyon Komplement Fiksasyon Test'inde kullanıldı. Amboseptör titresinin belirlenmesi Tablo 4'de gösterilmektedir.

Tablo 4. Amboseptör Titresinin Belirlenmesi.

Tüp No	Amboseptör Dilüsyonları (ml)	Eritrosit Süspan. (ml)	Diluent (VBD)	Komplement
1	1/500	0.25	1.0	0.5
2	1/1000	0.25	1.0	0.5
3	1/2000	0.25	1.0	0.5
4	1/5000	0.25	1.0	0.5
5	1/7500	0.25	1.0	0.5
6	1/10000	0.25	1.0	0.5
7	1/15000	0.25	1.0	0.5

37 °C'de 30 dakika su banyosu

Sonuç Tam hemoliz gösteren amboseptör dilüsyonu 1U kabul edildi. Testte 2U kullanıldı.

Tablo 5. Antijen titresinin belirlenmesi.

Antijen (0.25 ml)	Serum Dilüsyonu (0.25 ml)							Antikomplementer		
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	2 U	1 U	1/2 U
1/100	4	4	4	1	0	0	0	0	0	2
1/200	4	4	4	4	1	0	0	0	0	1
1/400	4	4	4	4	2	0	0	0	0	1
1/800	4	4	4	4	1	0	0	0	0	1
1/1600	1	3	3	1	0	0	0	0	0	1

0= %100 hemoliz, 1= %75 hemoliz, 2=%50 hemoliz, 3= %25 hemoliz, 4= hemoliz yok

Sonuç Negatif hemoliz gösteren en yüksek antijen titresi 1U kabul edilerek teste 2U kullanıldı.

2.2.4.4. Komplement Fiksasyon Testi'nin Yapılışı

Alton ve ark. (4)'nın bildirdiği yöntemle yapıldı. Testte kullanılacak serumlar (0.1 ml serum + 0.4 ml VBD) 1/5 oranında sulandırılarak 62 °C'de 30 dakika inaktive edildi.

"U" tabanlı mikroyetlerin A ve H sıraları boş bırakılarak, B'den G'ye kadar tüm çukurlara 25 µl VBD konuldu. H sırası antikomplementer kontrol olarak kullanıldı. Her bir inaktive serumdan A, B ve H çukurlarına 25 µl serum kondu ve serumlar B'den G'ye kadar dilüe edildi. H sırası haricindeki tüm çukurlara titresi (1/400) bilinen antijenden 25 µl konuldu. Titresi (1/20) tespit edilen komplementten tüm çukurlara 25 µl konulduktan sonra tüm mikroyetler +4 °C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün bütün mikroyet çukurlarına testte kullanılmadan

15 dakika önce hazırlanan sensitize eritrosit süspansiyonundan 25 µl konuldu. Daha sonra mikropleytlar parafilm ile kapatılarak 37 °C'deki su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda lize olmayan eritrositlerin çökmesi amacı ile mikropleytlar oda ısısında 90 dakika bekletilerek değerlendirildi. Her test yapılırken pozitif ve negatif kontrol serumları kullanıldı. Hemoliz görülmeyen en son tüpteki serumun sulandırma dilüsyonu ve sıvının bulanıklık derecesine göre 4 +, 3 +, 2 + ve + pozitif olarak değerlendirildi. Eritrositler tam lize olmuşsa negatif olarak değerlendirildi. Mikropleytların H sırasında eritrositlerin tamamen lize olması serumun antikomplementer olmadığını gösterdi. 1/5 ++ ve üstü pozitif olarak değerlendirildi.

Antikomplementer olarak değerlendirilen serumların bu özelliğini ortadan kaldırmak için Alton ve ark.(4)'ün bildirdiği yöntem kullanıldı. Buna göre, VBD içinde Bovine Serum Albumine (BSA) fraction V'in %5 lik solüsyonu hazırlandı. Testte kullanılan serum dilüsyonu yukarıdaki solüsyon ile karıştırılıp (0.2 ml serum + 0.6 ml solüsyon) 37 °C'de 30-60 dakika inkübe edildi. Daha sonra serumlar 62 °C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra Komplement Fiksasyon Testindeki aşamalar aynen uygulandı. Yine antikomplementer özellik gösterenler ise o şekilde değerlendirildi. Komplement Fiksasyon Testinin yapılışı Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Koomplement Fikzasyon Testinin Yapılışı.

Aşamalar	Serum dilusyonu							*Ak S Kon
	A	B	C	D	E	F	G	
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/5
Serum dil. (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Antijen (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0**
Komplement (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

+4 °C'de bir gece inkübasyon

Hemolitik sistem (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
-----------------------	------	------	------	------	------	------	------	------

37 °C'de 30 dakika su banyosunda inkübasyon

Sonuç Pleytler oda ısında 90 dakika bekletildikten sonra değerlendirildi.

* Antikomplementer Serum Kontrolü

** Antijen yerine diluent (VBD) konuldu

3. BULGULAR

3.1. Serolojik Test Sonuçları

Kars ve çevresinde yetiştirilen, abort yapmış 16 farklı koyun sürüsünden alınan 400 adet kan serum örneği, Rose Bengal Plate Testi (RBPT), Serum Aglütinasyon Testi (SAT), Rivanol Aglütinasyon Testi (RAT) ve Komplement Fikzasyon Testi (KFT) ile incelendi.

3.1.1. Rose Bengal Plate Testi (RBPT) Sonuçları

İncelenen 400 adet koyun kan serumu örneğinin RBPT ile Test sonucunda 139 (%34.75)'u pozitif, 261 (%65.25)'i ise negatif olarak tespit edildi (Tablo 8). RBPT'nin diğer testlerle ortak pozitif ve negatiflikleri ile bu testler arasındaki % uyumlulukları Tablo 9'da gösterilmiştir.

3.1.2. Serum Aglütinasyon Testi (SAT) Sonuçları

Değerlendirmeye alınan 400 adet koyun kan serumunun SAT ile yapılan incelenmesi sonucunda 237 (%59.25) serum negatif, 163 (%40.75) serum değişik titrelerde (1/10, 1/20,.....1/320) pozitif reaksiyon vermiştir. Pozitif sonuçların titrelerine göre dağılımı Tablo 7'de gösterilmiştir. Pozitiflik kriterlerine göre 147 (%36.7) serum pozitif, 253 (%63.3) serum negatif olarak değerlendirildi. Sonuçların pozitiflik kriterlerine göre dağılımı Tablo 8'de gösterilmiştir. SAT'nin diğer testlerle ortak pozitif ve negatiflikleri ile bu testler arasındaki % uyumlulukları Tablo 9'da gösterilmiştir.

3.1.3. Rivanol Aglütinasyon Testi (RAT) Sonuçları

Rivanol Aglütinasyon Testi ile 400 adet koyun kan serumunun incelenmesi sonucunda 258 (%64.5) serum negatif, 142 (%35.5) serum değişik titrelerde pozitif reaksiyon vermiştir. Pozitif sonuçların titrelerine göre dağılımı Tablo 7'de

gösterilmiştir. Pozitiflik kriterlerine göre 142 (%35.5) serum pozitif, 258 (%64.5) serum negatif olarak değerlendirilmiştir. Sonuçların pozitiflik kriterlerine göre dağılımı Tablo 8'de gösterilmiştir. RAT'nin diğer testlerle ortak pozitif ve negatiflikleri ile bu testler arasındaki % uyumlulukları Tablo 9'da gösterilmiştir.

3.1.4. Komplement Fiksasyon Testi (KFT) Sonuçları

Soğukta Mikro Komplement Fiksasyon Testi ile incelenen 400 adet koyun serumun 265 (%66.25)'i negatif, 135 (%33.75)'i ise değişik titrelerde (1/5, 1/10,.....1/320) pozitif reaksiyon vermiştir. KFT'de prozon olayına rastlanmaz iken antikomplementer seruma da rastlanılmıştır. Pozitif sonuçların titrelere göre dağılımı Tablo 7'de gösterilmiştir. Pozitiflik kriterlerine göre 135 (%33.75) serum pozitif, 265 (%66.25) serum negatif olarak değerlendirilmiştir. Sonuçların pozitiflik kriterlerine göre dağılımı Tablo 8'de gösterilmiştir. KFT'nin diğer testlerle ortak pozitif ve negatiflikleri ile bu testler arasındaki % uyumlulukları Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo7. Serolojik test sonuçlarının titrelere göre dağılımı.

TİTRE	SAT	RAT	KFT
-	247	258	265
1/5	-	-	7
1/10	6	13	17
1/20	19	35	37
1/40	53	56	50
1/80	48	31	22
1/160	17	5	2
1/320	10	2	-

Toplam	400	400	400
--------	-----	-----	-----

Tablo 8. Pozitiflik kriterlerine göre test sonuçlarının dağılımı.

	RBPT	SAT	RAT	KFT
POZİTİF*	139	147	142	135
NEGATİF	261	253	258	265

(*Pozitiflik gösterge sınırı : SAT=1/20, RAT=1/10 ve KFT=1/5)

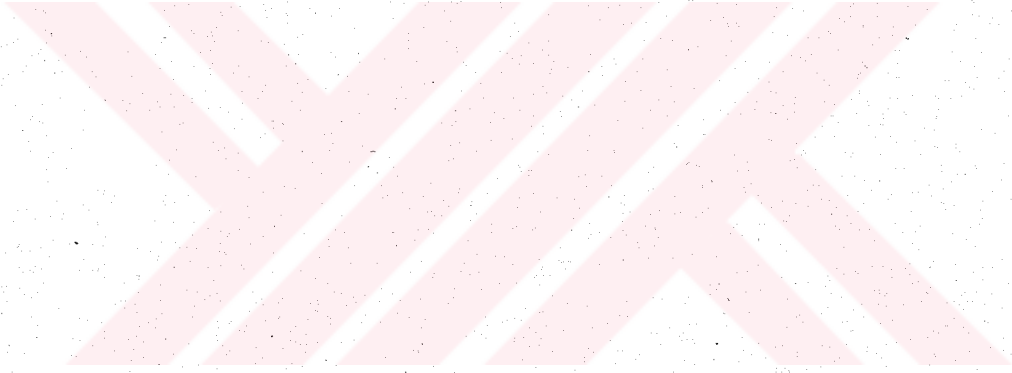


Tablo 9. Testler arasındaki ortak değerler ve değerlendirilen testlerin karşılaştırılan testlere göre ortak değerlerinin yüzdeleri.

Testler		DEĞERLENDİRİLEN TESTLER															
		RBPT				SAT				RAT				CFT			
		+	%	-	%	+	%	-	%	+	%	-	%	+	%	-	%
RBPT	+	136	92.5	14		138	97.1	12		133	98.5	17					
	-	8		242	95.6	7		243	94.1	4		246	92.8				
SAT	+	136	97.8	8		131	92.2	15		127	94.0	16					
	-	14		242	92.7	7		247	95.7	9		248	93.5				
RAT	+	138	99.2	7		131	89.1	7		134	99.2	10					
	-	11		243	93.1	15		247	97.6	4		252	95.0				
CFT	+	133	95.6	4		134	86.3	9		134	94.3	4					
	-	17		246	94.2	16		248	98.0	10		252	97.6				

3.1.5. İstatiksel Analiz Sonuçları

Bu çalışmada kullanılan serolojik test sonuçlarının X^2 metodu kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı. Yapılan analiz sonucunda kullanılan testler arasındaki fark önemli ($p>0.05$) bulunmadı.



4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Brusellozis, dünyanın sığır, koyun, keçi ve domuz gibi evcil hayvan yetiştiriciliği yapan hemen her ülkesinde sıklıkla görülen akut veya kronik seyirli, bulaşıcı ve nekrotik yangısal infeksiyonlarla ortaya çıkan, eradikasyonu en güç zoonotik hastalıkların başında gelir (47). Türkiye’de görülen abortların çoğunun nedeni infeksiyöz kaynaklıdır. İnfeksiyöz abortlar içerisinde de brusellozis ilk sırada yer almaktadır. Türkiye genelinde yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda koyunlarda brusellozisin prevalansı %1.97 olarak tespit edilmiştir (61).

Brucella etkenlerinin tespit edildikleri 1886 yılından beri brusellozisin tanısı amacıyla kullanılabilen birçok direkt ve indirekt metot geliştirilmeye çalışılmıştır (60). Koyunlarda brusellozisin tanısı için klinik bulgular spesifik (abort gibi) olmadığından kesin teşhis etkenin izolasyonu ve identifikasyonu ile yapılmaktadır. Fakat bakteriyolojik yöntemlerle teşhis her zaman pratik olmayabilir. Bunun nedenleri arasında; sonuçların zaman alıcı olması, materyalin az oluşu, uygun marazi maddenin laboratuvara zamanında ulaşmaması, etkenin zor üreyen bir bakteri oluşu ve üremesi için özel ortamlar istemesi ve ayrıca insanlar için oldukça patojen olması yer alır. Bu nedenle brusellozisin teşhisinde serolojik testlere öncelik verilmiştir. Serolojik testler; numunelerin (kan, kan serumu, süt serumu, vaginal akıntı, seminal plazma gibi) toplanmasının kolay olması, kısa sürede sonuç alınması ve sonuçlardan elde edilen spesifite ve sensitivitenin yüksek olması gibi nedenlerle brusellozisin teşhisinde daha çok tercih edilmektedir. Ancak her bir testin farklı immunglobulinleri saptaması, yanlış pozitifliklerin görülmesi, kronik ve aktif infekte hayvanların serolojik testlere tutarsız yanıt verebilmesi gibi nedenler ve inkübasyon devresinde serolojik yanıtın oluşmaması, aşı ile doğal infeksiyonun karışması gibi olumsuzluklardan dolayı brusellozisin serolojik tanısında en az iki testin birlikte kullanılarak sonuçların değerlendirilmesi tavsiye edilmektedir (4,47). Son yıllarda

bakteriyolojik ve serolojik teşhis metotlarının yanı sıra brusellozis teşhisinde biyoteknolojik yöntemlerden de yararlanılmaktadır (4,12,47).

Brusellozis serolojik teşhisinde kullanılan testler arasında; RBPT, SAT, RAT, KFT, DTT-MAT, EDTA-MAT, MRT, AGID, ELISA, FPA gibi serolojik testler yer alır (15,20,21,42,48,49,51,59,84,97,103).

Rose Bengal Plate Testi, bir çok ülkede saha ve laboratuvar şartlarında çabuk sonuç vermesi, pratik ve güvenilir olması nedeni ile yıllardır yaygın bir tarama testi olarak geniş ölçüde kullanılmaktadır (47). Waghela ve ark. (99)'ı, infekte keçilere ait 96 kan serumunda RBPT ile %83.7, Esandal ve ark. (47)'ı, koyun ve keçilere ait 250 serumunda RBPT ile %37.6, SAT ile %44.4 pozitiflik elde etmişlerdir. Gürtürk ve ark. (54)'ı ise 96'sı atık yaptığı bilinen, 110'u ise mezbahada kesilen toplam 206 koyun kan serumu kullanarak yaptıkları bir çalışmada RBPT ile %28.6 pozitiflik bulmuşlardır. Yardımcı ve ark. (103)'ı, test ettikleri 101 koyun kan serumunda RBPT ile %58.4, MAT ile %63.4 pozitif reaksiyon saptadıklarını bildirmişlerdir. Marin ve ark. (78)'ı aşı uygulanmayan koyunlarda yaptıkları çalışmada indirek ELISA ve RBPT (standartilize edilmiş)'in yüksek sensitivite gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kullanılan 400 adet koyun kan serumunun, RBPT ile incelenmesi sonucunda 139 (%34.75)'u pozitif, 261 (%65.25)'i ise negatif bulunmuştur. RBPT, antijenin özelliğine bağlı olarak non-spesifik antikorların elimine edilmesi ve *Brucella* etkenlerine karşı oluşan antikorların ortaya konulmasında güvenilir bir testtir. Çalışmada kullanılan serum örneklerinin tümü aşı uygulanmayan koyunlardan elde edilmiştir. RBPT sonuçları Marin ve ark. (78)'nin sonuçları ile paralellik göstermektedir. RBPT ile SAT'nin sonuçları karşılaştırmalı olarak incelendiğinde RBPT ile pozitif sonuç veren 136 serum SAT ile de pozitif olarak saptandı. RBPT ile negatif sonuç veren 8 serum ise SAT ile pozitif bulundu. Bu durumun, RBPT'nin IgG ve SAT'nin ise IgM sınıfı antikorları daha iyi saptamasından dolayı meydana geldiği düşünülmektedir.

Serum Aglutinasyon Testi, brusellozisin tanısında ve eradikasyon programlarının yürütülmesi esnasında oldukça yaygın olarak kullanılan rutin serolojik testtir (47). Ancak test infekte hayvanların büyük bir çoğunluğunu belirlese de tam anlamı ile güvenilir değildir. Bunun nedenleri arasında; testin infeksiyon ve aşılama sonucu oluşan antikorları ayırt edemeyişi, infeksiyonun erken dönemlerinde ve kronik infeksiyonlarda negatif sonuç vermesi yer alır (18,103). Aynı zamanda SAT'da yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlar alınabilmektedir. Bu nedenle SAT, brusellozisi güvenilir olarak sadece ana sürüde ortaya çıkarmaktadır (18). 1997 yılında Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nde yapılan çalışmada Kars merkez ve çevre köylerden, mezbahalardan ve fakülte kliniklerine gelen hayvanlardan alınan 1580 koyun kan serumunun 463 (%29.3)'ü SAT ile ve 587 (%37.1)'si Mikro Aglutinasyon Testi ile pozitif bulunmuştur (95). Mahajan ve Kulshreshtha (76), abort yapmış 75 adet koyun ve 6 adet orşitisli koç ile yaptıkları bir çalışmada SAT'ın pozitif reaktörleri ortaya koymada RBPT'den daha iyi olduğunu belirlemişler ve bunun nedeninin serumda bulunan IgM ve IgG antikorlarının her ikisinin de SAT ile saptanırken RBPT ile sadece aktif IgG₁'lerin saptanması olduğunu ileri sürmüşlerdir. Makro Serum Aglutinasyon Testinin kullanıldığı bu çalışmada, 147 (%36.75) serum pozitif reaksiyon gösterirken 253 (%63.25) serum negatif sonuç vermiştir. SAT ile pozitif olarak belirlenen bu serumların 136'sı RBPT ile 131'i RAT ile ve 127'si ise KFT ile pozitif olarak bulunmuştur. Bu çalışmada SAT ile KFT karşılaştırıldığında SAT pozitif serumların %86.3'ü KFT'de pozitif bulunmuştur. SAT negatif serumların %98'i KFT negatif bulunurken, KFT pozitif serumların %94'ü SAT ile pozitif bulunmuştur. Bu sonuçlar, diagnostik spesifite ve sensitivite için SAT ve KFT'nin birlikte kullanılmasını öneren McGiven ve ark. (80)'ının sonuçlarından farklıdır. Serumların 12 tanesi SAT ile pozitif reaksiyon verirken bu çalışmada kullanılan diğer üç testte negatif olarak belirlenmiştir. Bu farklılığın aynı sürü

içindeki hayvanların infeksiyonun değişik periyotlarında (akut, subakut, kronik) bulunmasından ileri gelebileceği bildirilmiştir (103).

Brusellozisin serolojik teşhisinde non-spesifik antikorları gidermek için Rivanol Aglutinasyon Testi geliştirilmiştir. Kronik bir infeksiyonun akut hale dönüşmesinden şüphe ediliyorsa, bu durumda reaktivasyon markeri olarak kabul edilen IgG'nin aglutinasyon titresinin gösterilmesi gerekir. Bu amaçla toplam titrenin IgM'ye ait kısmı rivanol ile parçalanarak yok edilir ve yüksek titrede ($>1/600$) IgG saptanması ile alevlenme tanısı konabilir. Ancak Tularemi ve *Yersinia enterocolitica* infeksiyonu geçiren hayvanlarda kros reaksiyonlardan dolayı yanlış pozitif sonuç alınabilir (19). Jimenez de Bagües ve ark. (66)'ı, 77 koyun serumunda yaptıkları çalışmada RAT'yi KFT'den daha düşük sensitivitede bulmuşlardır. Aynı şekilde Huber ve ark. (59)'ı sığırlarda yaptıkları bir çalışmada KFT'yi RAT'dan daha spesifik ve sensitif bulmuşlardır. Buna karşın Nicoletti (83), RAT'ın KFT ile aynı sonucu verdiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada kullanılan Rivanol Aglutinasyon Testi 142 serumu (%35.5) pozitif, 258 (%64.5) serumu ise negatif olarak saptamıştır. RAT pozitiflerin %94.3'ü KFT ile pozitif ve KFT pozitiflerin %99.2'si RAT ile pozitif olarak bulunmuştur. Bu sonuç RAT'ın KFT ile aynı sonucu verdiğini söyleyen Nicoletti'nin (83) sonuçlarından farklı olduğunu göstermektedir. Sonuçlar, RAT'nin KFT'den daha az duyarlı olduğunu bildiren Huber ve ark. (59) ile Jimenez de Bagües ve ark. (104)'nin sonuçları ile paralel olduğunu göstermektedir. Test edilen 400 adet serum içerisinde, 3 serum RAT'de pozitif bulunurken kullanılan diğer testlerde negatif bulunmuştur.

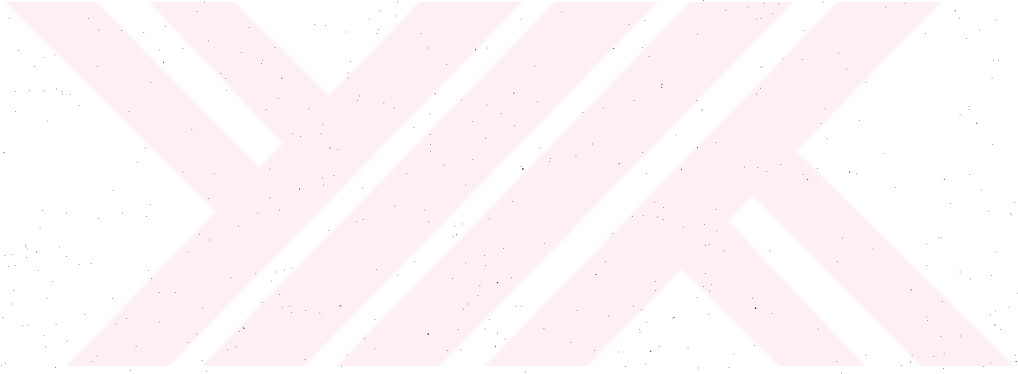
Komplement Fiksasyon Test'inin aktivitesi temelde spesifik IgM ve IgG₁ tip antikorların komplement ile tespit edilmesine dayanır. KFT'de IgG₂ antikorlarının aktivitesi engellenebilir (18). KFT özellikle subakut olgularda değerlidir (56). KFT koyun brusellozisinin serolojik teşhisinde kullanılan en yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip test olmasına karşın uygulama prosedüründeki güçlükler ve bazı

serumlarda antikomplementer aktivitenin görülmesi gibi dezavantajları olan bir testtir. Bercovich ve ark. (17) yaptıkları bir çalışmada KFT ile RBPT'nin birbirini tamamlayıcı testler olduğunu bildirmişlerdir. Waghela ve ark. (99), keçi serumları ile yaptıkları bir çalışmada RBPT ile %83.7, SAT ile %72.1 ve KFT ile %88.4 oranında pozitiflik elde ettiklerini bildirmişlerdir. Jimenez de Bagües ve ark. (66) koyun serumlarının analizlerinde RBPT ile KFT arasında farklı sonuçlar bulmuşlardır. Ferreira ve ark. (48) 219 *B.melitensis* kültür pozitif koyun kan serumu ile yaptıkları bir çalışmada modifiye Rose Bengal Plate Testini KFT'den daha sensitif bulmuşlardır. Jacques ve ark. (63), deneysel olarak *B.melitensis* 53H38(H38) ile infekte edilen ve infekte olmayan koyunlardan alınan serum örneklerinde yaptıkları bir çalışmada KFT ile RBPT arasında farklı sonuçlar bulmuşlardır. Hosie ve ark. (58), Yemen'de yaptıkları bir çalışmada 538 keçi ve 690 koyuna ait kan serumu kullanarak yaptıkları bir çalışmada serumunda yaptıkları çalışmada KFT'yi RBPT ve SAT'a göre de sensitif bulmuşlardır. Soğukta makro KFT yapılan bu çalışmada 135 (%33.75) serum pozitif, 265 (%66.25) serum negatif sonuç vermiştir. KFT pozitif serumların %98.5'i RBPT ile, %94.0'ü SAT ile ve %99.2'si ise RAT ile pozitif sonuç vermiştir. RBPT pozitif serumların %95.6'sı KFT ile pozitif sonuç vermiştir. Sonuçlar Waghela ve ark. (99) ile Bercovich ve ark. (17)'nin bulduğu sonuçlardan farklı bulunmuştur. Jacques ve ark. (63) ile Jimenez de Bagües ve ark. (66)'nin bulduğu sonuçlar ile ise paralel sonuçlar elde edilmiştir. KFT'de antikomplementer serumlara rastlanılmış bu olumsuzluk Alton ve ark. (4)'nin bildirdiği yöntemle giderilmeye çalışılmıştır. KFT ile pozitif bulunan 2 serum diğer testlerle negatif sonuç vermiştir. Bunun nedeni olarak KFT'nin özellikle subakut olgularda etkili olması veya testteki bir uygulama hatası olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada kullanılan testlerin tümü *Brucella* etkenlerine karşı oluşan antikorları belirlemede kullanılan diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermiştir. Sadece Waghela ve ark. (99) KFT ve RBPT ile yüksek oranda

SAT'da ise düşük oranda pozitiflik bulmuşlardır. Bu farklılığın çalışmalarda kullanılan serumların infeksiyonun farklı (akut ve kronik) dönemlerinde alınmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. KFT en güvenilir test olarak kabul edildiğinde, testlerden elde edilen sonuçlara göre, pozitiflerin belirlenmesinde en duyarlı testin KFT ve diğerlerinin sırası ile RBPT, RAT ve SAT olduğu saptanmıştır. RBPT ve SAT sonuçlarının KFT ile konfirme edilmesi infekte ve rezervuarların belirlenmesinde daha net sonuçların alınmasını sağlayacaktır.

Brusellozis yörede halen ekonomik önemini korumakta ve halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit unsuru olmaya devam etmektedir. Bu nedenle ülke çapında uygulanan brusellozisle mücadele programının yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır.



5. ÖZET

Brusellozis, koyun ve diğer bir takım evcil hayvanlarda başlıca abort ile karakterize önemli bir hastalıktır. *Brucella* insanlarda da ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle brusellozis halk sağlığı ve ekonomik açıdan büyük bir öneme sahiptir.

Kars ve çevresinde yetiştirilen ve abort yapmış olan 16 farklı koyun sürüsünden alınan 400 adet kan serum örneği, Rose Bengal Plate Test (RBPT), Serum Aglütinasyon Test'i (SAT), Rivanol Aglütinasyon Test'i (RAT) ve Komplement Fiksasyon Test'i (KFT) kullanılarak *Brucella*'ya karşı oluşan antikorların varlığı yönünden incelendi. Kan serumu alınan hayvanların hiçbiri *Brucella*'ya karşı aşılınmamışlardır. Test edilen serum örneklerinin 147 (%36.7), 142 (%35.5), 139 (%34.75) ve 135 (%33.75)'inde sırasıyla SAT, RAT, RBPT ve KFT ile pozitif antikor titreleri saptandı. Bu çalışmada kullanılan serolojik testler arasındaki farklılıkların X^2 metodu kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı. Kullanılan testler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Bu çalışmada, Brusellozisin yörede koyun sürüleri için önemli bir problem olarak varlığını koruduğu sonucuna varıldı. Bu bölgede *Brucella*'nın prevalansının yüksek olarak bulunması ve etkenin zoonotik önemi, hem insan hem de hayvan sağlığı açısından büyük bir risk oluşturmaktadır.

6. SUMMARY

Brucellosis mainly manifested by abortion is an important disease of sheep as well as a number of other domestic animals. It is also responsible for serious infections in humans. Therefore, *Brucella* infections have a great public health and economic significance.

Four hundred blood serum samples collected from 16 different herds of sheep, which have had previous abortions, in Kars and its surrounding districts were examined for the presence of antibodies raised against *Brucella* using Rose Bengal Plate Test (RBPT), Serum Agglutination Test (SAT), Rivanol Agglutination Test (RAT) and Complement Fixation Test (CFT). All animals from which the sera were collected were unvaccinated against *Brucella*.

Of the serum samples tested, 147 (%36.7), 142 (%35.5), 139 (%34.75) and 135 (%33.75) were found positive by SAT, RAT, RBPT and CFT, respectively. The differences between serological tests employed in the current study were statistically analysed using X^2 method. No statistically significant difference was found between the tests used ($p>0.05$).

It is concluded from this study that brucellosis continues to be an important problem for sheep herds in this district. The high prevalence of *Brucella* determined in this area and its zoonotic implications suggest that its presence is a great risk for both human and animal health.

7. KAYNAKLAR

1. **Abuharfeil, N., Abo-Shehada M.N.:** A comparison between three serological tests for *Brucella melitensis* infection in sheep. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 22: 119-122, 1998.
2. **Akman, M., Gülmezöglü, E.:** Tıbbi Mikrobiyoloji. II. Baskı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 1976.
3. **Al-Delaima, A.K., Ali, A.H.:** A study of epidemic abortions associated with brucellosis in sheep. Pakistan Vet. J. 10(1): 1-4, 1990.
4. **Alton, G.G., Jones, M.L., Angus, R.D., Verger, J.M.:** Techniques for the brucellosis laboratory. INRA ed., 147, rue de L'Université, 75007 Paris, 1988.
5. **Anonim :** Mikrobiyoloji Ders Notları. 2. Baskı. Metay Yayınları. Ankara, 1989.
6. **Anonim:** Bovine Brucellosis In: OIE 1996 Manual of standards for diagnosis tests and vaccines. 3rd. Ed. Paris-France, 242-255, 1997.
7. **Anonim:** Brucellosis in sheep and goats European Commission Adopted, 2001.
8. **Anonim:** Brucellosis in sheep, goats and swine OIE Manuel Vol-III, (B/023-24-52) 12 rue de Prony-75017 Paris, France, 1991.
9. **Anonim:** Brusellozis mücadele talimatnamesi. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Sayı: 189. Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Ofset Tesisleri, Lalahan/Ankara, 1990.
10. **Anonim:** Caprine and ovine brucellosis (excluding *Brucella ovis* infection) . OIE manuel chapter 3.3.2. 1996.

11. **Anonim:** Joint FAO/WHO, Expert Committee on Brucellosis, Geneva WHO/Technical Report, 6th Report Series No: 740, 1986.
12. **Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Karaman, M., Akay, Ö., Ilgar, a., İzgür, M., Diker, K.S.:** Özel Mikrobiyoloji. 4. Baskı Medisan Ankara, 1997.
13. **Ayhan F.H., Akın, S., Alabay, M., Güvener, N.:** Sığırlarda *Brucella abortus*'a karşı oluşan antikorları saptamada ELISA ve diğer serolojik tekniklerin karşılaştırılması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 42: 553-557, 1995.
14. **Bardenstein, S., Mandelboim, M., Ficht, T.A., Baum, M., Banai, M.:** Identification of the *Brucella melitensis* vaccine strain Rev. 1 in animals and humans in israel by PCR analysis of the PstI site polymorphism of its omp2 gene. J. Clin. Microbiol. 40 (4): 1475-1480, 2002.
15. **Baum, M., Zamır, O., Bergman-Rios, R., Katz, E., Beider, Z., Cohen, A., Banai, M.:** Comparative evaluation of microagglutination test and serum agglutination test as supplementary diagnostic methods for brucellosis. J. Clin. Microbiol. 33 (8): 2166-2170, 1995.
16. **Bellaire, B.H., Elzer, P.H., Baldwin, C.L., Roop II, R.M.:** Production of the siderophore 2,3-Dihydroxybenzoic acid is required for wild-type growth of *Brucella abortus* inthe presence of erythritol under low-iron conditions in vitro. Infect. Immun. 71(5): 2927-2932, 2003.
17. **Bercovich, Z., Güler, L., Baysal, T., Schreuder, B.E.C., Van Zijderveld, F.G.:** Evaluation of the currently used diagnosis procedures for the detection of *Brucella melitensis* in sheep. Small Rum. Res. 31:1-6, 1998.
18. **Bercovich, Z.:** The use of skin delayed-type hypersensitivity as an adjunct test to diagnose Brucellosis in cattle: A Review. Vet Quart, 22: 123-30, 1999.
19. **Bilgehan, H.:** Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. İzmir, 1994.

20. **Blasco, J.M., Garin-Bastuji, B., Marin, C.M., Gerbier, G., Fanlo, J., Jimenez de Bagues, M.P., Cau, C.:** Efficacy of different rose bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of brucella melitensis infection in sheep and goats. *Vet. Rec.* 134 (16): 415-420, 1994.
21. **Blasco, J.M., Marin, C., Jimenez de B, M.P., Barberan, M., Hernandez, A., Molina, L., Velasco J., Diaz R., Moriyon I.:** Evaluation of allergic and serological tests for diagnosing *Brucella melitensis* infection in sheep, *J. Clin. Microbiol.* 32 (8): 1835-1840, 1994.
22. **Bowden, R.A., Verger, J.M., Grayon, M., Limet, J.N., Dubray, G.:** Simultaneous expression of smooth and rough phase properties related to lipopolysaccharide in a strain of *Brucella melitensis*. *J. Med. Microbiol.* 39(5): 363-370, 1993.
23. **Bruselloz:** Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti III. Ulusal Sindirim Yolu ile Bulaşan İnfeksiyonlar Sempozyumu, Nevşehir. *Aktüel Tıp Dergisi*, 8(4): 38-41, 2003.
24. **Burgers, G.W., Norris, M.J.:** Evaluation of the cold complement fixation test for diagnosis of ovine Brucellosis. *Aust. Vet. J.* 59: 23-25, 1982.
25. **Canavessi, A.M.O.:** In vitro and in vivo analyses of *Brucella abortus* genes identified in RAW 264.7 macrophage infection using a GFP reporter system (PhD). The University of Wisconsin-Madison, USA, 2003.
26. **Carter, G.R., Chengappa, M.M., Roberts, A.W.:** Essential of Veterinary Microbiology. Fifth edition. Williams and Wilkins. USA, 1995.
27. **Carter, G.R., Chengappa, M.M.:** Essential of Veterinary Bacteriology and Mycology. 4th ed., Lea-Febiger, Philadelphia, 1991.
28. **Cengiz, A.T., Dolapçı, G.İ.:** Brusella'ların özellikleri ve brusellozda tanı yöntemleri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 50(1): 41-46, 1997.

29. **Cloekaert, A., Grayon, M., Grepinet, O.:** An IS711 element downstream of the bp26 gene is a specific marker of *Brucella spp.* isolated from marine mammals. CDLI. 7(5): 835-839, 2000.
30. **Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M.:** Microbiological Methods. Sixth edition. Butterworth Heineman. London, 1989.
31. **Corbel, M. J.:** Comparison of brucella melitensis and B.abortus antigens for the rose bengal plate test on sera from cattle infected with B.abortus biovar-5, Vet. Rec. 117: 385-386, 1985.
32. **Corbel, M.J., Cockrem, S., Brewer, R.A.:** Differentiation of smooth and rough *Brucella* strains by lectins. Vet. Rec. 113:261-262, 1983.
33. **Corbel, M.J.:** Brucella. 829-853. In: Balows, A., Duerden, B.I. (Eds.) Microbiology and Microbial Infections. Ninth edition. Arnold. New York, 1998.
34. **Corbel, M.J.:** Phages typing of *Brucella* methods in Microbiology 16, Ch. 2 (pp 23-74). Academic press, London/New York, 1984.
35. **Corner, L.A., Alton, G.G., McNichod, L.N., Streeten, T., Trueman, K.F.:** An evaluation of the anamnestic test for brucellosis in cattle of the northern postonal area. Aust. Vet. J. 60: 1-3, 1983.
36. **Çağatay, A.A., Küçükoğlu, S., Berk, H., Özsüt, H., Eraksoy, H., Dilmener, M., Çalangu, S.:** Otuz altı bruselloz olgusunun değerlendirilmesi. Klimik Dergisi. 15(1): 19-21, 2002.
37. **Çetinkaya, B., Öngör, H.:** Evaluation of immunocomb in comparison with other serological tests in ovine brucellosis. Vet. Rec. 147: 632-634, 2000.
38. **Dhar, R., Lastimoza, J.L., Hira, P.R.:** A modified indirect fluorescent antibody test for the diagnosis of brucellosis. Diagn. Microbial. Infect. Dis. 11 : 189-194, 1988.
39. **Diker, K.S.:** İmmunoloji. Birinci baskı. Ankara, 1998.

40. **Ebadi, A., Zowghi, E.:** The use of allergic test in the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep, Br. Vet. J. 139: 456-461, 1983.
41. **El, S., Ural, S., Kaptan, F., Müftüoğlu, I., Coşkun, N.A.:** Bruselloz tedavisinde siprofloksasin/rifampisin kombinasyonunun etkinliğinin ve güvenilirliğinin doksisisiklin/rifampisin kombinasyonunki ile karşılaştırılması: Prospektif bir çalışma. Klimik Dergisi 11 (3): 89-91, 1998.
42. **Erdenebaatar, J., Sugar, S., Yondondorj, A., Nagabayashi, T., Syuto, B., Watarai, M., Makino, S., Shirahata, T.:** Serological Differentiation *Brucella*-Vaccinated and Infected Domesticated Animals by the Agar Gel Immunodiffusion Test Using *Brucella* Polysaccharide in Mongolia. J. Vet. Med. Sci. 64(9): 839-841, 2002.
43. **Erdenlig, S., Şen, A.:** Koyun atıklarından brucella cinsi mikroorganizmaların izolasyonu ve biyotiplendirilmesi, Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg. 31 (2): 31-42, 2000.
44. **Erdenliğ S.:** Koyun Atıklarından *Brucella* Cinsi Mikroorganizmaların İzolasyonu ve Biyotiplendirilmesi (Doktora Tezi). Bursa, 1999.
45. **Erganiş, O., Kaya, O., Güler, L., Kenar, B.:** Koyun Brusellozis'inin sahada koagülünasyon testi ile teşhisi. Veterinarum 3 (1) : 11-13, 1992.
46. **Ertürk, Ö.:** *Brucella abortus* S. 19 Aşısının İnsanı Enfekte Etme Kabiliyeti. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 2 (3-4): 176-182, 1955.
47. **Esendal, Ö.M., Yardımcı, H., Keskin, O., Altay, G.:** Sığır, koyun ve keçi brucellosisinin serolojik tanısında konvansiyonel testler ve Coombs testinin kullanılması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 48: 97-102, 2001.
48. **Ferreira, A.C., Cardoso, R., Dias, I.T., Mariano, I., Belo, A., Preto, I.R., Manteigas, A., Fonseca, A.P., Correa de sa, M.I.:** Evaluation of a modified Rose Bengal test and an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for

- the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. Vet. Res. 34:297-305, 2003.
49. **Ficapal, A., Alonso-Urmenata, B., Velasco, J., Moriyon, I., Blasco, J.M.:** Diagnosis of *Brucella ovis* infection of rams with an ELISA using protein G as conjugate. Vet. Rec. 137: 145-147, 1995.
50. **Ficapal, A., Jordana, J., Blasco, J.M., Moriyon, I.:** Diagnosis and epidemiology of brucella ovis infection in rams. Small Rum. Res. 29: 13-19, 1998.
51. **Garin, B., Trap, D., Gaumont, R.:** Assessment of the EDTA seroagglutination test for the diagnosis of bovine brucellosis, Vet. Rec. 117: 44-445, 1985.
52. **Godfroid, J.:** Brucellosis in wildlife. Rev. Sci. Tech. Off. İnt. Epiz. 21 (2): 277-286, 2002.
53. **Güllüce, M., Leloğlu, N.:** Kars ve Çevresinde, Süt Sığırlarında, *Brucella abortus*'a Karşı oluşan Antikorların ELISA ve MRT ile Saptanması, Sonuçlarının Karşılaştırılması Tr. J. Vet. Anim. Sci. 20: 251-255, 1996.
54. **Gürtürk, K., İlhan, Z., Erganiş, O.:** Detection of *Brucella* antibodies in Sheep Sera Using Dot-Immunobinding Assay and Rose Bengal Plate Agglutination Test. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 21: 341-344, 1997.
55. **Gyles, C.L., Thoen, C.O.:** Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 2nd ed., Iowa State University Pres. Ames., 1988.
56. **Helvacı, S.:** *Brucella*. 135-139. İçinde: Kılıçturgay, K. (Edt.) Klinik Mikrobiyoloji. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. Bursa, 1994.
57. **Herr, S., Brugge, L.A., Giney, M.C.M.:** The value of the microtitre serum agglutination test as a second screening test in bovine Brucellosis. Onderstepoort J. Vet. Res. 49:23-28, 1982.

58. **Hosie, B.D., Al-Bakri, O.M., Futter, R.J.:** Survey of brucellosis in goats and sheep in the Yemen Arab Republic: comparison of tests for *Brucella melitensis* infection in sheep. Trop. Anim. Health. Prod. 17(2):93-99, 1985.
59. **Huber, J.D., Nicoletti, P.:** Comparison of the results of card, rivanol, complement fixation and milk ring testts with isolation rate of *Brucella abortus* from cattle. Am. J. Vet. Res. 47(7): 1529-1531, 1986.
60. **İlhan, Z., Keskin, O., Sareyyüpoğlu, B., Kökçü, L., Akan, M.:** Bir sığırcılık işletmesinde *Brucella abortus* epidemisi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 46: 257-262, 1999.
61. **İyisan, A.S., Akmaz, Ö., Düzgün, S.G., Ersoy, Y., Eskiizmirliler, S., Güler, L., Gündüz, K., Işık, N., İçyerioğlu, A.K., Kalender, H., Karaman, Z., Küçükayan, U., Özcan, C., Seyitoğlu, Ş., Tuna, İ., Tunca, T., Üstünakın, K., Yurtalan, S.:** Türkiye’de sığır ve koyunlarda brusellozisin seroepidemiolojisi. Pendik Vet. Mikrobiol. Derg. 31(1): 21-75, 2000.
62. **İyisan, A.S.:** Ergin Koyunlarda, Düşük Doz *Brucella melitensis* REV-1 aşısı ile aşılama sonucu oluşan antikorların çeşitli reaksiyonlarla saptanması, Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg. 23 (2) :175-185, 1992.
63. **Jacques, I., Olivier-Bernardin, V., Dubray, G.:** Efficacy of ELISA compared to conventional tests (RBPT and CFT) for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. Vet. Microbiol. 64: 61-73, 1998.
64. **Jensen, A.E., Ewalt, D.R., Cheville, N.F., Thoen, C.O., Payeur, J.B.:** Determination of stability of *Brucella abortus* RB51 by use of genomic fingerprint, oxidative metabolism and colonial morphology and differentiation of strain RB51 from *B. abortus* isolates from bison and elk, J. Clin. Microbiol., 34(3): 628-633, 1996.
65. **Jimenez De Bagues, M.P., Elzer, P.H., Jones, S.M., Blasco, J.M., Enright, F.M., Schurig, G.G., Winter, A.J.:** Vaccination with *Brucella abortus* rough

- mutant RB52 protects BALB/c mice against virulent strains of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella ovis*, *Infect. Immun.*, 62(11): 4990-4996, 1994.
66. **Jimenez de Bagües, M.P., Marin, C.M., Blasco, J.M., Moriyon, I., Gamazo, C.:** An ELISA with *Brucella* lipopolysaccharide antigen for the diagnosis of *B.melitensis* infection in sheep and for the evaluation of serological responses following subcutaneous or conjunctival *B.melitensis* strain Rev 1 vaccination. *Vet. Microbiol.* 30:233-241, 1992.
67. **Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C.:** Pathology of Domestic Animals. 2 nd ed., Acedemic Pres, London, England, 1970.
68. **Karaman, Z., Güler, E.:** İnsan ve hayvan serumlarının Brucellosis yönünden çeşitli muayene ile mukayeseli araştırılması. *Etlik Vet. Microbiol. Derg.* 3(6): 55-68, 1988.
69. **Kaya, O.:** Koyun ve keçi brusellozisinin alerjik deri testleri ile teşhisi üzerine çalışmalar. *Veterinarium* 3(1) : 13-15, 1992.
70. **Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckart, J., Zinkernagel, R.M.:** Tıbbi Mikrobiyoloji. Çeviri : Küçükler, M.A., Tumbay, E., Anđ, Ö., Erturan, Z. 9. Baskı. Nobel Kitabevi. İstanbul, 2002.
71. **Kirkbride, C.A.:** Managing an outbreak of livestock abortion-2: Diagnosis and control of bovine abortion. *Vet. Med.*, 80(5): 70-79, 1985.
72. **Klein, G.C., Behan, K.A.:** Determination of *Brucella* immunglobulin G agglutinating antibody titer with dithiothreitol. *J. Clin. Microbiol.* 14:24-25, 1981.
73. **Küçükayan, U.:** Sığır Serumlarında *Brucella* Antikorlarının Konglutinasyon Komplement Absorbsiyon Testi ile Saptanması ve Sonuçların Konvansiyonel Testlerle Karşılaştırılması (Doktora Tezi). Ankara, 2000.

74. **MacMillan, A.:** Conventional serological tests. In: Animal Brucellosis. Eds. Nielsen, K., Duncan, J.R., CRC pres Boca Raton Florida 154-197, 1909.
75. **MacMillan, A.P., Cockrem, D.S.:** Reduction of non-specific reaktions to the *Brucella abortus* serum agglutination test by the addition of EDTA, Res. Vet. Sci. 38: 288-291, 1985.
76. **Mahajan, N.K., Kulshreshtha, R.C.:** Comparison of serological tests for *Brucella melitensis* infection in sheep. Trop. Anim. Hlth. Prod. 23: 11-16, 1991.
77. **Marin, C.M., Jimenez de Bagues, M.P., Barberan, M., Blasco, J.M.:** Comparison of two selective media for the isolation of brucella melitensis from naturally infected sheep and goats, Vet. Rec.138: 409-411, 1996.
78. **Marin, C.M., Moreno, E., Moriyon, I., Diaz, R., Blasco, J.M.:** Performance of Competitive and Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, Gel Immunoprecipitation with Native Hapten Polysaccharide and Standard Serological Tests in Diagnosis of Sheep Brucellosis. CDLI. 6(2): 269-272, 1999.
79. **McFadyean, J., Stockman, S.:** In report of the departmental commitee to inquire into Epizootic abortion in cattle Appendix top art 1 Board of Agriculture and Fischeries. In: Conventional serological tests. MacMillan, A. In: Animal Brucellosis. Eds.: Nielsen, K., Duncan, J.R., CRC pres Boca Raton Florida, 167., 1909.
80. **McGiven, J.A., Tucker, J.D., Perrett, L.L., Stack, J.A. Brew, S.D., MacMillan, A.P.:** Validation of FPA and CELISA for the detection of antibodies to *Brucella abortus* in cattle sera and comparison to SAT, CFT and iELISA. J. Immunol. Methods. 278(1-2):171-178, 2003.
81. **Mense, M.G., Van deVerg, L.L., Bhattacharjee, A.K., Garrett, J.L., Hart, J.A., Lindler, L.E., Hadfield, T.L., Hoover, D.L.:** Bacteriologic and histologic

- features in mice after intranasal inoculation of *Brucella melitensis*. AJVR 62(3): 398-405, 2001.
82. **Nada, H.S.:** Koyun ve keçi brusellozunun teşhisinde kullanılan saha ve serolojik testler arasında karşılaştırılmalı çalışmalar. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg. 25(1-2): 33-47, 1994.
83. **Nicoletti, R.:** Further evaluation of serologic test procedures used to diagnose Brucellosis. Am. J. Vet. Res. 30:1811, 1969.
84. **Nielsen, K., Gall, D., Lin, M., Massangill, C., Samartino, L., Perez, B., Coats, M., Hennager, S., Dajer, A., Nicoletti, P., Thomas, F.:** Diagnosis of bovine brucellosis using a homogeneous fluorescence polarization assay, Veterinary Immunol. Immunopathol. 66: 321-329, 1998.
85. **Olle-Goig, J.E., Canela-Soler, J.:** An outbreak of *Brucella melitensis* infection by airborne transmission among laboratory workers. AJP 77 (3): 335-338, 1987.
86. **Pidgen, G.L., Scanlan, C.M., Miller, W.R., Mayer, T.W.:** Experimental infection of dogs with *Brucella abortus*. Cornell Vet., 77:339-347, 1987.
87. **Rahaley, R.S., Dennis, S.M., Smeltzer, M.S.:** Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay and complement fixation test for detecting *Brucella ovis* antibodies in sheep. Vet. Rec. 113: 467-470, 1983.
88. **Reichel, R., Nel, J.R., Emslie R., Bishop, G.C.:** Brucella melitensis biotype 1 outbreak in goats in northern Kwazulu-Natal, Onderstepoort J. Vet. Res. 63: 183-185, 1996.
89. **Saz, J.V., Beltran, M., Diaz, A., Agulla, A., Merino, F.J., Villasante, P.A., Velasco, A.C.:** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Brucellosis. European J. Clin. Microbiol. 6:71-74, 1987.
90. **Spencer, T.L., Burgess, G.W.:** Enzyme-linked immunosorbent assay for brucella ovis specific antibody in ram sera. Res. Vet. Sci. 36: 194-198, 1984.

91. **Sutherland, S.S., Den Holander, L.:** Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies and complement fixation test for cattle vaccinated and infected with *Brucella abortus*. *Vet. Microbiol.* 12:55-64, 1986.
92. **Sutherland, S.S.:** Immunology of bovine Brucellosis. *Vet. Bull.* 50:359-368, 1980.
93. **Sutherland, S.S.:** An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Brucella abortus* in cattle using monoclonal antibodies. *Aust. Vet. J.* 62: 264-268, 1985.
94. **Sünbül, M.:** Bruselloz. İnfeksiyon 2001.
95. **Şeyda, T., Güler, M.A., Genç, O.:** Koyunlarda *B.melitensis*'in Mikroaglutinasyon Testi (MAT) ile Teşhisi Üzerine Araştırmalar. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 3(1): 67-72, 1997.
96. **Şemsettin, U.:** Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş kitabevi 571-577 Eylül 1999.
97. **Türütoğlu, H., Mutluer, B., Uysal, Y.:** Burdur yöresinde toplanan sütlerin *Brucella* infeksiyonu yönünden araştırılması, *Türk J. Vet. Anim. Sci.* 27: 1003-1009, 2003.
98. **Van Eart, A., Brioen, P., Dekeyser, P., Uytterhaegen, L., Sijens, R.J., Boeye, A.:** A comparative study of ELISA and other methods for the detection of *Brucella* antibodies in bovine sera. *Vet. Microbiol.* 10: 13-21, 1984/85.
99. **Waghela, S., Wandera, J.G., Wagner, G.G.:** Comparison of four serological tests in the diagnosis of caprine brucellosis. *Res. Vet. Sci.* 28: 168-171, 1980.

100. **Worthington, R.W., Mülders, M.S.G., McFarlane, I.S., Becker, D.:** Serological titres following vaccination of sheep and goats with *Brucella melitensis* Rev 1 vaccine. Onderstepoort J. Vet. Res. 40(1): 1-6, 1973.
101. **Wrathall, A.E., Broughton, E.S., Gill, K.P.W., Goldsmith, G.P.:** Serological reactions to *Brucella* species in british pigs. Vet. Rec. 132: 449-454, 1993.
102. **Yagupsky, P.:** Detection of brucellae in blood cultures, J. Clin. Microbiol. 37 (11): 3437-3442, 1999.
103. **Yardımcı, H., Esenal, Ö.M., Küçükayan, U., Erdemoğlu, A.:** Koyun brusellozisinin serolojik teşhisinde Dithiothreitol ve EDTA'nın kullanılması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 42: 241-245, 1995.
104. **Yardımcı, H.:** Koyunlarda *Brucella melitensis* infeksiyonlarının aglutinasyon, rose bengal ve ELISA testleriyle ortaya konması ve bu testlerin teşhisteki değeri üzerine bir araştırma (Doktora Tezi). Ankara, 1989.
105. **Yurtalan, S.:** Türkiye'de *Brucella abortus* hastalığı kontrolünün ekonomik önemi. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg. 30(2): 35-41, 1999.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kars 1977 doğumluyum. İlk öğrenimimi Diyarbakır'da, lise öğrenimimi ise Kars'ta tamamladım. 1995 yılında girdiğim Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2000 yılında "Veteriner Hekim" unvanı alarak mezun oldum. 2001 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açmış olduğu Yüksek Lisans sınavını kazanarak Yüksek Lisansa başladım. 2003 yılında Araştırma Görevlisi olarak aynı birimde çalışmaya başladım. Halen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

