



**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
MB-YL-2009-004**

**SIĞIR VE KOYUN SERUMLARININ BRUCELLOSİS  
YÖNÜNDEN TÜP AGLÜTİNASYON TESTİ VE ELİSA İLE  
İNCELENMESİ**

**Vet. Hek. Hale ÖNAY**

**DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Serap SAVAŞAN**

**AYDIN-2009**

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
MB-YL-2009-004**

**SİĞİR VE KOYUN SERUMLARININ BRUCELLOSİS  
YÖNÜNDEN TÜP AGLÜTİNASYON TESTİ VE ELİSA İLE  
İNCELENMESİ**

**Vet. Hek. Hale ÖNAY**

**DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Serap SAVAŞAN**

**AYDIN-2009**

## ÖNSÖZ

Brusellozis, bakteriler tarafından oluşturulan sığır, koyun ve keçi gibi evcil hayvanlarda görülen ve ülkemiz hayvan yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen bir hastalıktır. Hayvanlarda yavru atma, kısırılık ve süt veriminde düşüklük yaparak büyük ekonomik kayıplara yol açan; insanlar için de bulaşıcı olan, enfeksiyöz karakterde önemli bir zoonozdur.

Bu çalışmada, Artvin ilindeki sığır ve koyunlardan alınan serum örneklerinde Brusellanın varlığını ve bölgedeki durumunu tespit etmek amaçlanmıştır.

Çalışmamız; Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (SAE 08015) tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
1.GİRİŞ	1
2. GEREÇ VE YÖNTEM	16
2.1. Materyal	16
2.1.1. Saha Serum Örnekleri	16
2.1.2. Rose Bengal Pleyt Test Antijeni	16
2.1.3. Brucella Tüp Aglütinasyon Antijeni	16
2.1.4. Ticari Elısa Test Kiti	17
2.2. Metod	17
2.2.1. Rose Bengal Pleyt Testi	17
2.2.2. Satndart Tüp Aglütinasyon Testi	17
2.2.3. ELISA Testi	17
3. BULGULAR	20
4. TARTIŞMA	23
5.SONUÇ	27
6. ÖZET	28
7. SUMMARY	29
8. KAYNAKLAR	30
ÖZGEÇMİŞ	37
TEŞEKKÜR	38

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1. Sığırlar serumlarında RBPT, SAT ve ELISA testine ait pozitif/negatif oranları	20
Çizelge 2. Koyun serumlarında RBPT, TAT ve ELISA testine ait pozitif/negatif oranları	21
Çizelge 3. Sığırlarda brusella infeksiyonunun yaş ve abort yapanlarla yapmayanlar arasındaki RBPT ile seropozitiflik oranları	21
Çizelge 4. Koyunlarda brusella infeksiyonunun yaş ve abort yapanlarla yapmayanlar arasındaki RBPT ile seropozitiflik oranları	22

# 1. GİRİŞ

Brusellozis, Türkiye'nin de içinde bulunduğu Akdeniz ülkelerinde sık görülen, hem hayvanlarda hem de insanlarda infeksiyon oluşturan bir infeksiyon hastalığıdır ( Esel ve ark. 2004 )

Brusellozis ülkemiz sığır ve hayvan yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen büyük ekonomik kayıplara yol açan; insanlar için de bulaşıcı olan, enfeksiyöz karakterde önemli bir zoonozdur ( Şeyda ve ark. 199 ). Bakterilerin oluşturduğu, özellikle sığır, koyun ve keçi gibi evcil hayvanlarda yavru atma, süt veriminde azalma, damızlık değeri kaybı, kısırılık gibi zararlı etkileri olan, ekonomik yönden zarar verici ve halk sağlığı yönünden önem taşıyan bir hastalıktır ( Kılıçarslan 2008 ).

Dünyanın birçok ülkesinde halk sağlığının ve ekonomik endişenin devam etmesinin nedenlerinden biri olan Brusellozis dünyadaki en büyük zoonozlardan biridir ( AS ve ark. 2007 ). Hastalığın çabuk yayılması, kontrol ve mücadelesinin güçlüğü, uzun süre alması ve masraflı olması dikkat çekmektedir. Hayvansal protein kaynaklarına olan olumsuz etkisi, hayvan ve hayvansal ürünlerin ticaretine engel teşkil etmesi ve çoğunluğu kırsal kesimde bulunan kısıtlı imkanlara sahip hayvan yetiştiricilerinin sosyo-ekonomik gelişmesini engellemesi gibi zararlarının olması bir başka faktördür ( Kılıçarslan 2008 ).

Ülkemizde brusellozis morbiditesi oldukça yüksek olmasına rağmen mortalitesi çok düşük olan bir infeksiyon hastalığıdır. Her yıl binlerce insan hastalığa yakalanmakta ve hastalık insanlarda fiziksel yetersizliğe ve iş kaybına neden olmaktadır ( Mehli ve ark. 2008 ).

Dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülen Brusellozisin tarihsel isimleri “ Ondülan ateş”, Bang hastalığı” , Gibraltar ateşi”, “Akdeniz ateşi” ve “Malta ateşi” olarak da bilinmektedir. Ülkemizde bu endemik bölgelerin içerisinde ( Mehli ve ark. 2008 ). 1887'de Bruce tarafından, Malta adasında Mediterranean ateşten ölen askerlerin dalağından ilk olarak izole edilmiştir. Bruce tarafından micrococcus melitensis olarak adlandırılmıştır ( Directorate, 2001 ).

Brucella genusunda 7 tür bulunmaktadır. *B.melitensis*, *B.suis*, *B.abortus*, *B.canis*, *B.ovis*, *B.neotomae* ve *B.maris*. Brucella türleriyle ilk tanışma, 1887 yılında Bruce adlı bir araştırmacının *B.melitensis*'i izole etmesiyle gerçekleşmiştir. Bang; 1897 yılında kontagiyöz abortus etkeni olarak ineklerden *B.abortus*, Traum; 1914 yılında dişi bir domuzun fetusundan *B.suis*, Yeni Zelanda ve Avustralya'da ; 1953 yılında, koçlarda cinsel yolla geçen epididimit etkeni olarak *B.ovis*, Stoenner ve Lack-Carmichael ve Bruner; 1968 yılında, köpeklerden abortus etkeni olarak *B.canis* izole etmeyi ilk defa başarmıştır. En son 1993 yılında deniz memelilerinden ( yunus, balina gibi ) yeni bir Brucella türü ( biovarı ) izole edilmiştir ve *B.maris* adı verilmiştir. Filogenetik olarak Brucella, Agrobacterium, Rickettsia, Rhizobiumun da içinde bulunduğu Proteobacterianın  $\alpha$ -2 alt grubunun bir üyesi olarak sınıflandırılmıştır. Brucella genomunda diğer birçok bakteriden farklı olarak iki kromozom bulunmaktadır ( Yumuk 2005 ).

Bang ve Stribolt (1895) fetal membranlar ile uterus sıvılarından saf gram negatif basilleri ayırmışlardır. Hayvanlarda ise laboratuvar muayenesi sonucunda ilk brucellosis olgusunu ortaya koyan Berke (1931) olmuştur. Golen (1943), insan ve hayvanlarda brucellosisin varlığını serolojik yöntemlerle ortaya koymuştur ( Arda ve ark. 1997 ).

Koyunlarda brucellosis ilk olarak 1906'da Garcia ve Iscara tarafından tespit edilmiştir. Türkiye de brucellosisin varlığı uzun yıllardan beri bilinmektedir. Koyunlarda brucellosisin varlığı ilk olarak Köyoğlu ve Aktan tarafından 1944 yılında Bandırma Merinos Çiftliğindeki koyunlarda serolojik olarak tespit edilmiştir. Türkiye de yapılmış çalışmalarda, koyun ve keçilerde görülen bakteriyel kaynaklı yavru atmaların başlıca sebebinin brucellosis olduğu bilinmektedir ( Şahin, Yıldız 2006 ). Koyunların tabii enfeksiyonuna çoğunlukla Brucella melitensis sebep olmaktadır, fakat Brucella abortus da izole edilmiştir ( Karasoy 2000 ).

Türkiye' de sığırlarda *Br.abortus* enfeksiyonu ilk kez 1931 yılında, kültür ırkı hayvanların ithaliyle sorun olmaya başlamıştır ( A. Fidancı ve ark. 1995 ).

Brucella cinsindeki bakteriler 0.6-1.5 mm boyunda, ikişer ikişer uç ucuna durma özellikleri nedeniyle diplokoklara benzeyen, genellikle kokobasil tarzındaki gram negatif çomakçıklar olup, sporsuz ve hareketsizdirler. İlk izolasyonlarında üretilmeleri güçtür ( Kaya

ve Arsever 2000, Demirdal 2007, Özdemir ve ark. 2007 ).İnsanın da dahil olduğu memelilerin geniş bir kısmında kronik infeksiyona neden olan Brucella soyunun üyeleri fakültatif, intracellüler, gram-negatif bakterilerdir. Brucellaların virulensinin en önemli nedeni hücre içinde yaşayabilmesi ve fagositik konakçı hücrelerinde yaşamama yeteneğidir ( Delrue 2001 ).

Etken çoğu kez ısıya, asitler ve dezenfektanlara dirençli değildir. Sütün pastörizasyonu ile ölürler. Katalaz ve oksidaz pozitifdirler. Üreaz oluşturmaları değişkendir. Nitratları nitritlere indirgerler. Asetilmetilkarbinol ve jelatinaz oluşturmazlar. Karbonhidratları parçalamakla birlikte, sınıflandırmaları için yeterli miktarda ne asit ne de gaz oluştururlar. Brucellaların yüzey katmanları diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi; en içteki sitoplazma membranı, bunu çevreleyen sert peptidoglikan tabakası ve fosfolipid - LPS - proteinleri ( OMP ) içeren dış membrandan ( OM ) meydana gelir. Bazı suşlarda ayrıca yüzeysel L zarf antijeni varlığı ortaya konmuştur. Daha çok B.abortus kökenlerinde bulunan bu L antijeni yeni izole edilen bakterilerde var olup, onların immun serumlarla aglütinasyonuna engel olmakta, 100 °C de yarım saat ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadır. Bu özelliği ile Salmonellardaki Vi antijenine benzer. Brucella bakterilerinin peptidoglikan tabakası da diğer gram negatif bakterilerinkine benzer ve adjuvan özelliği nedeniyle immun yanıtta rol oynar. Bu antijenlerden S - LPS, aglütinasyon, kompleman birleşmesi ve rose bengal tetlerinde rol oynayan majör antijendir. NH ve poly B haptenleri ise infekte hayvanları aşılanmışlardan ayırt etmede immündefüzyon testlerinde kullanılır. S tipi brucella bakterileri ile *E.coli* O:116 ve O:157, francisella tularensis, N grubu salmonellalar, pseudomonas naltophilia, vibrio cholerae, yersinia enterocolitica =:9 bakterileri arasında çapraz reaksiyonlar saptanmıştır. Bu ilişkiden sorumlu olan kısım, belirtilen tüm bu bakterilerde ortak olarak bulunan, S - LPS'lere bağlı karbonhidratın O zincirindeki 4 - 6 dideoksi - 4-amino - D - mannoz ( N-acil-D-perozamin ) bölgesidir. Bruselloz ajanı olan brucella türleri; keçiler, domuzlar, inekler ve köpekleri içeren pek çok hayvanın, genital ve üriner sisteminin normal florasında bulunmaktadır ( Cengiz ve Iştar 1997 ).

Brucelalar gerçekte asido rezistans değildir. Fakat zayıf asitlerce renk kaybına dayanır, bu yüzden Ziehl - neelsen metodunu Stamps modifikasyonu tarafından kırmızıya boyanır. Sıvı örnekleri tam smear brucellosisin mikroskopik tanısı için bazen kullanılır. Büyümesi için optimum pH 6.6'dan 7.4'de kadar değişmektedir. Optimum üreme ısısı 36- 38°C.arasındadır. Fakat birçok suşu 20 °C ile 40 °C arasında üreyebilir. Brucella biotin, tiamin ve nicotinamide



ihtiyaç duyar. Üreme serum ve kan tarafından geliştirilir, fakat haemin ( V-faktör ) ve nicotinamideadeninnukleoti ( X-faktör )'e ihtiyaç duymaz ( Directorate 2001 ).

Hastalığa neden olan brucellalar *Brucella melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*, *B.neotomae*, *B.ovis* ve *B.canis*'tir ( Terzi 2006, Cengiz ve İştar 1997 ). *B.melitensis* koyun ve keçilerde, *B.abortus* sığır ve mandalarda, *B.suis* domuzlarda, *B.canis* köpeklerde bulunur. *B.ovis* ve *B.neotomae* dışındakilerin hepsi insan patojeni olarak bilinmekle birlikte insanlardan en sık izole edilen türler *B.abortus* ve *B.melitensis*dir.( Cengiz ve İştar 1997 ).

*Brucella* cinsi bakteriler fakültatif intrasellüler patojenlerdir ve konağın fagositik hücreleri içinde yaşamlarını ve çoğalmalarını sürdürebilirler. Brusellanın polimorfonükleer lökositin intrasellüler öldürme yeteneklerinden korunma mekanizmaları kısmen anlaşılabilir. Bu mekanizmalardan bazıları primer ve sekonder granüllerin degranülasyonunun, myeloperoksidaz -H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sisteminin ve reaktif O<sub>2</sub> ara ürünlerinin eliminasyonunu sağlayan Cu-Zn süperoksit dismutazın inhibisyonudur. İnfeksiyonu takiben mikroorganizma, lenf nodu, karaciğer, dalak, kemik iliğı gibi retiküloendotelial sistem organlarında lokalize olur ( Tunçbilek 2006 ). *B.melitensis* veya *B.suis* infeksiyonları inekte rapor edilmiştir. Özellikle infekte küçük ruminantlarla ve domuzlarla temasla bulaşır ( Robinson 2001 ).

*B.abortus* küçük, kokoid, gram negatif hareketsiz ve sporsuz çomakçıklar tarzındaki bir mikroorganizmadır ( Arda ve ark. 1997 ). Genç kültürlerden yapılan preparatlarda koklardan 1.2µm uzunluğundaki basillere kadar değışik formlarda görülmesine karşılık en fazla kokobasil formunda karşımıza çıkarlar ( Özkuyumcu 2007 ). Islak ve nemli ortamda kolay ürerler, Bu yüzden çiğ süt ve süt ürünlerinde uzun süre kalabilirler. Kaynatmakla ve pastörizasyon ile inaktive olurlar ( Alkan ve Çalap 2004 ). Etken insan ve hayvanların zorunlu paraziti olan bakteridir. Tipik olarak hücre içinde yerleşim gösterir. Kısmen inaktif metabolizması vardır. *Brucella* hücre içi şartlara uyum sağlamıştır. Besin ihtiyaçları kompleksdir. Bazı suşlar aminoasit, vitamin, tuz ve glukoz içeren besiyerlerinde üretilebilirler.

*B.abortus* üreme için % 5-10 CO<sub>2</sub> isterken diğer türler istemez. Karbonhidratları kullanır fakat sınıflandırmada kullanılacak miktarda asit ve gaz oluşturmaz. Nitratları nitrite indirgerler. Brucella ısıtmaya ve asitlere orta derecede hassastır. Sütteki mikroorganizmalar pastörizasyon ile ölürlür. Koloni görünümü ve virulensine göre; yumuşak, mukoid ve pürüzlü koloniler tanımlanmışlardır. Tipik olarak virulensi yüksek mikroorganizmalar düzgün, yumuşak ve saydam kolonilere sahiptirler. Hassas hayvanlarda bulunan globülin ve lipoprotein avirulan, pürüklü kolonilerin üremesini baskımlarken virulan olan düzgün, yumuşak ve saydam kolonilerin üremesini destekler. Dirençli hayvanlarda bu faktörler (globülin ve lipoprotein) eksiktir, bu nedenle avirulana doğru hızlı mutasyon gözlenir ( Özkuyumcu 2007 ).

Etkenin brownian hareketi oldukça belirgindir. Besiyerlerine glukoz, karaciğer ekstresi, kan, serum veya protein katılması üreme üzerine olumlu etkide bulunur. Katı besiyerlerinde üremesi ancak ikinci günden sonra fark edilir ve maksimal gelişme 5-7 günde tamamlanır. 2-3 günlük koloniler, yuvarlak, konveks, kenarları düzgün ve 0.5 mm çapındadırlar. yansıyan ışıkta hafif mavimsi-yeşil bir refle verirler ( S formu ) .6-7 günlük bir süre sonunda koloniler matlaşır ve dissosiyeye olmaya başlarlar. R koloni formundakiler yassı, daha büyük çapta, mat ve granüllü bir yüzeye sahiptirler. Belirtilen bu iki ana koloni formundan başka intermedier ( I ) ve mukoid ( M ) özellik gösteren koloni varyasyonlarına ve bunların da alt formlarına rastlanabilir. Sıvı besiyerlerinde yavaş ürerler. Homojen bir bulanıklık ve dipte de yumurta akı benzeri tortu yaparlar. Brucella grubu mikroorganizmalar, genellikle indol, jelatin, metil red ve VP reaksiyonları yönünden negatif bir durum göstermelerine karşılık nitrat ve katalaz pozitifdir. Suşların çoğunluğu oksidaz pozitif olup, üreaz testi hepsinde pozitifdir. Sitratl besiyerlerinde üreme göstermezler ( Arda ve ark. 1997 ).

Sığır brucellosisi abort ve infertiliteyle beraber ekonomik önemi olan bir hastalık olan *B.abortus* tarafından meydana getirilir. Eradikasyon için uygulanan metotlara, aşılama dahil yapılan testler ve itlaflara rağmen, hastalığın prevalansı dünyanın birçok bölgesinde artmaktadır. Birçok eradikasyon programları, hayvan sürülerindeki *B.abortus* infeksiyonunun varlığını tespit edilebilmesi için canlı yada itlaf edilen sığırlarda serolojik testlerin kullanımını gerektirir. Teşhiste yaygın olarak kullanılan serolojik testlerin birkaçı komplemant fikzasyon, rivanol presipitasyon ve Rose Bengal plate testlerini içerir. *B.abortus* da serum antikorlarının tespiti için ELISA'nın kullanılması birkaç yazarca tanımlanmıştır ( Hall and Canfer 1987 ). ELISA Brucella'da eradikasyon programlarında, aşılama sonrası titre

belirlemelerinde, sürü taramalarında ya da komplement fikzasyon tesitine ilave olarak yararlanılan bir testtir ( Radostits ve ark. 2000 )

Büyükbaş brucellozisi genellikle *B.abortus* tarafından, az sıklıkla *B.melitensis* ve seyrek olarak *B.suis* tarafından meydana getirilir. Genellikle abortla, rahime ait salgı ve süt içindeki organizmaların salgıyla birlikte kendini gösterir. *B.abortus* infeksiyonları inekte bulunmasından başka evcil buffalo, Afrika buffalo, kuzey Amerika buffalo ve devegillerde bulunur. Atlarda ve köpeklerde tek tük infeksiyonlar rapor edilmiştir ( Nasir ve ark. 2005 )

Patolojik olarak, koyun ve keçilerde hastalık oluşturan *B.melitensis*'le, inekte hastalık oluşturan *B.abortus* benzerlik gösterir. Bununla beraber Brusellaların her bir türü farklı hastalığa neden olur. Brusellaların virulensi çeşitli faktörlere göre değişir. Konakçı hassasiyetide infeksiyonda önemli rol oynar ( Directorate 2001 ) .Ülkemiz için önemli olan suşlar öncelikle *B.melitensis* ve *B.abortus*'dur. *B.melitensis* tüm dünyada en sık ve en şiddetli hastalığa yol açan türdür ( Alkan ve Çalap 2004 ) .

Keçi ve koyun brusellozisine neden olan tür *B.melitensis*'tir. Sporadik olarak *B.abortus*'ta hastalık oluşturur. Kliniksel olarak hastalık bir yada daha fazla semptom gözlenir. Bunlar abort, tutulmuş plasenta, orşitis, epididimis ve son zamanlarda orthritis. Dünyada büyük ciddi zoonozlardan birine neden olan *B.melitensis* insanlar için yüksek patojendir. Tüm infekte dokular, kültürler ve potansiyel kontamine materyaller biyolojik tehlike olarak ele alınabilir ( Robinson 2001 ) . Koyun ve keçilerin brusellozisi ( *B.ovis* infeksiyonu dışında insan için patojen değildir.) hem insan sağlığı hem de hayvan sağlığı açısından ve dünyanın birçok bölgesinde yaygın olması nedeniyle önemli zoonoz bir infeksiyondur. Küçük ruminantlarda brucellosisin ana etiyolojik ajanı olan *B.melitensis*, Brucella cinsindeki ilk tanımlanan türdür ( Directorate 2001 ) .

*B.melintesis* H<sub>2</sub>S üretmez. Üreaz aktivitesi çok yavaştan çok hızlıya geçişebilir. Tryptofone ve asetimetilkarbinol glikozdan üretilmediğinde indol üretilmez. Brucella türleri özellikle *B.melitensis* kültürleri üreme boyunca özellikle alt kültürleriyle beraber, varyasyon geçirme eğilimindedir ve sert, pürüzlü ( R ) formlara ve mukoid ( M ) formda koloniler oluşturur. Bazı kültürlerde S, R, M formları arasında Intermedia ( I ) formu bulunabilir.

Koloni morfolojisindeki değişim genellikle virulensle ve serolojik özelliklere bağlı olarak farklılıklar gösterebilir ( Directorate 2001 ).

*B.melitensis* koçlarda ve koyunlarda ve abortlara ve insanlarda malta fever olarak hastalık yapan fakültatif intracelluler patojen bir bakteridir. Hayvan çiftliklerindeki muayene, aşılama ve kesim programları tarafından gelişmiş ülkelerde hastalığın yayılması kontrol edilebilir olmasına rağmen ekonomik kayıplara neden olan brucellosis dünyanın birçok bölgesinde özellikle Asya, Afrika ve Latin Amerika'nın bazı bölümlerinde büyük bir sorundur. Hastalık insanlara pastörize edilmeyen süt ve süt ürünlerinin tüketimi ya da infekte hayvanlarla direkt temas ya da karkasları vasıtasıyla bulaşır. Hemoraji, bunun sonucu bakteriyemiye neden olarak vücut içinde yayılmayı kolaylaştıran brucella deriye yada mukozal membranlara penetre olarak, lenf nodüllerine girer. İnfeksiyonun erken aşamalarında brusellalar makrofajlara hücum eder, asidik çevreye adapte olur ve vaculer bölümlerde çoğalırlar. Brucella, salmonella, mycobakterium ve legionella gibi etki gösterirler. İnfeksiyon birçok dokuyu ve organları kuşatır. Ateş, üşüme, baş ağrısı, acı, yorgunluk, bunama ve arthiritis içeren semptomlar nonspesifiktir. İnfeksiyon doxycycline ve streptomycin ya da doxycycline ve rifampin gibi antibiotik kombinasyonlarıyla tedavi edilebilir. Brucellaya karşı aşılarda hastalık kontrollerinde değişken derecede başarıya sahiptir. Buna rağmen insan aşıları mevcut değildir. Halen kullanımda olan hayvan aşıları ise insanlar için patojendir ( Delvecchio 2001 ).

Ovin bulaşıcı epididimisi gelişen ülkelerde daha çok koyunlarda önemli bir hastalıktır. Etkeni gram negatif bakteri olan *B.ovistir*. Antikorların bu mikroorganizmalara karşı tespiti için serolojik metotların birçoğu kullanılmaktadır. Bunların arasında aglütinasyon, indirekt hemaglütinasyon, counterimmuno electroforesis, agarjel difüzyon test, komplement fikzasyon test, çeşitli ELISA testleridir ( Kittelberger ve ark. 1994 ).

*B.suis*, ilk bakteriyemiden sonra, genital organların her ikisine birden ve kemiklerde lokalize olan, kronik yangısal lezyonlara neden olan domuz brucellozisi olarak adlandırılan bakteriyel bir infeksiyondur. Gebelerde abortlara, ölü doğumlara ya da zayıf doğumlara neden olur. Domuzlarda en göze çarpan semptom orşitistir ve *B.suis* semende bulunur. Çiftleşmeyle bulaşma ruminantlardaki brusellosise göre daha yaygındır. Her iki cinsiyet, kemikler ve özellikle eklem yerleri ve tendon kılıfı, topallık ve bazen paralise neden olarak etkilenebilir.

Domuzlar *B.abortus* ve *B.melitensis*le beraber olan suni infeksiyonlar için hassastır. Fakat bu organizmaların her ikisinde meydana getirdiği hastalık rapor edilmemiştir. *B.suis* büyükbaş hayvanların memesini sömürgeleştirmesi ve çeşitli insan salgınlarına neden olması nedeniyle önemlidir ( Robinson 2001 )

Devedeki infeksiyon *B.abortus* ve *B.melintensis*in farklı biyotipi tarafından meydana getirilir. Deve çiftlikleri Asya ve Africada kırsal bölgelerdeki deve çiftliklerinde önemlidir ( Robinson 2001 ).

Türkiyede yapılmış çalışmalarda, koyun ve keçilerde görülen bakteriyel kaynaklı yavru atmaların başlıca sebebinin brusellozis olduğu bilinmektedir. Brucella etkenleri süt, idrar ,sperm ve gebe hayvanların uterus içeriğinde, fötus ve fötal membranlarda bulunmakta ve bu yolla da dışarı atılmaktadır. Bir hayvandan diğere bulaşma, sindirim sistemi, deri, konjunktiva, çiftleşme ve sağım sırasında memelerin kontaminasyonu ile olmaktadır. Brusella etkenleri ile bulaşık yem, su, idrar gibi maddeler ve enfekte koçların spermaları da hastalığın bulaşmasında rol oynar (Eşel ve ark. 2004, Şahin ve Yıldız 2006 , Agasthya ve ark. 2007 ). Bruselloziste ahır veya ağıl içinde hayvanlar arasında bulaşma ağız, deri, göz yoluyla, çiftleşme veya sağım sırasındaki hatalar sonucu meme yoluyla olur. Mikroorganizmayı taşıyan gebe hayvanlar yavru atarken veya doğururken atık yavru zarlari ve sulari ile çevreyi bulaştırırlar ( Demirdal 2007 ). Brucella bakterileri ile infekte hayvanlar bakterileri özellikle laktasyon döneminde sütleri ile çıkarırlar. Pek çok insan hastalığı kontamine sütlerin içilmesi yoluyla alır ya da hastalığa mesleki olarak maruz kalır. Bu nedenle infekte hayvanların süt ve süt ürünleri önemli infeksiyon odaklarıdır. Koyun sütünden hazırlanan peynir bir diğere önemli kaynağı oluşturur ( Cengiz ve İhtar 1997, Beytut ve Kamiloğlu 2005 ).

Hayvanlardan insanlara bulaşma, genellikle infekte hayvanın sekresyonlarının bütünlüğü bozulmuş deri ile direkt teması, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin kullanımı, infekte aerosollerin inhalasyonu ve konjunktival temas şeklinde olmaktadır. Türkiye gibi hastalığın endemik özellik taşıdığı ülkelerde bulaş sıklıkla pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketimiyle olmaktadır ( Kaya 2006, Zer ve ark 2007 ). Hayvan gübresi ile bulaşan sebzelerin tüketimi de insan infeksiyonunda söz konusu olabilir. Hayvanlarda bulaşma genellikle bulaşık materyallerin yenmesi içilmesi veya teması ile olur. Hastalığa

yakalanan koyunlar genellikle 2 ay kadar, keçiler 2 yıl kadar, sığırlar ise hastalığın yerleşme durumuna göre ömürleri boyu sütleri ile mikrop çıkarabilirler ( Kılıçarslan 2008 )

Brucella türleri, oldukça geniş bir hayvan kitlesi için patojendirler. Deniz memelilerinden foklarda bile izole edilmişlerdir. Brucellalar hücre içine yerleşen bakteriler olup, hayvan plasentası, fötal sıvılar ve erkeklerin testislerine yerleşme eğilimi gösterirler. Bruselloziste hastalığın en önemli belirtisi abortuslar olup, bunlar yüzünden işletmelerin yetiştirme ve damızlık yenileme programları bozulur. İki buzağılama arası uzar, süt üretimi düşer, yavru atan ineklerde retentio secundinarium, metritis ve infertilite gibi komplikasyonlar çoğalır. Bulaşma; sindirim, solunum, çiftleşme, deri ve konjunktiva yoluyla olur ( Kaya ve Avsever 2000 ).

İnfekte gebe hayvanlar yavru atarken veya yavru doğururken, özellikle fötüs, fötüsa ait sıvılar, amnion ve plasenta aracılığı ile hastalık etkeninin çevreye bulaştırılmasına neden olurlar. İnfekte ineklerin uterus akıntıları, süt, atık yavru ve membranlarındaki mikroorganizmalar ile kontamine olan meraların, gıdaların ve suların yenilmesi ve içilmesi suretiyle infeksiyon sindirim sistemi yolu ile alınır. Testisleri iltihaplı olan infekte boğalar da hastalığın bulaşmasına neden olabilirler. Boğalar infeksiyonu mekanik olarak nakletmelerinin yanı sıra kendilerinin de infekte olması sonucu, infekte sperma aracılığı ile sağlam dişileri bulaştırabilirler. Hastalığın naklinde sinek, sivrisinek, tahtakurusu, kene, pire gibi artropodlarla yabani tavşan, sıçan, fare gibi kemiricilerin rolü olduğu bildirilmiştir. Hastalığa karşı vücudun duyarlılığı hayvanın yaşı ilerledikçe artar. Cinsel olgunluğa erişen hayvanlarda hastalık yerleşerek uzun yıllar kalabilir. Aynı hayvanda birinci yavru atımından sonra ikinci kez abortus olayları çok ender olarak görülür ( Arda ve ark. 1997 ).

Vücuda girdiği yerde üreyen brucella etkenleri lenf kanallarını izleyerek lenf yumrularına giderler ve yerleşirler. Buralarda ductus yolu ile kana karışarak bakteriyemi meydana getirirler ve organlara yayılırlar. Yerleşmeye eğilimli oldukları organlar; gebe uterus, lenf bezleri, karaciğer, dalak, kemik iliği ve diğer retikulo endotelial sistemdir. Brucella etkenleri bu organlarda sonradan apseleşebilen nodüller yaparlar. Gebe hayvanların uterusunu işgal eden mikroplar fetusa ait korionik villi epitelyumlerinde ürer ve buradan korion ve uterus mukozası arasına yayılırlar. Villilerde oluşan yağ dejenerasyonu ve otoliz sonucu meydana gelen fibrinopurulent eksudat, fötal ve maternal zarlar arasındaki bağlantının

gevşemesine, fetus membranlarının ayrılmasına ve yavrunun atılmasına neden olur. Mikroplar yavru ana karnındayken onun kan dolaşımına geçmek suretiyle yavrunun vücuduna girerler ve fetusun midesinde, ince bağırsakları ile parankimatöz organlarında yangısal reaksiyonlara neden olurlar. İnfeksiyonun gebeliğin son dönemlerinde oluşması halinde fetus doğabilir. Fakat septisemi veya kontitüsyonel bozukluklar sonucu yaşayamaz. Meme ve meme lenf yumrularında lokalize olan ve burada üreyen mikroplar kan yoluyla tekrar uterusu ve yavruyu infekte edebilir. Böylece brucella etkenleri dışarıdan yeniden alınmamasına rağmen, sürüde tekrarlanan abortuslara rastlanabilir. Etken fetus ile uterus arasında üreyen bağ dokunun meydana getirdiği kuvvetli bir bağ ile plasenta retensiyonuna neden olur ya da bu riski arttırabilir. Yine, meme ve meme lenf bezlerine yerleştiğinde ise süt veriminde % 20 ye yakın düşümlere neden olur. Erkek hayvanlarda brucellosise bağlı orşitis, epididimitis ve seminal vezikülitis sonucu kısırlık meydana gelir. Ayrıca birçok hayvanın fetus zarlarında brucella spp. için bir gelişme faktörü olan eritrol yapısında bir madde izole edilmiş olup, gebe hayvanların brucella spp.'ye duyarlılığı bu şekilde açıklanmıştır. İnsan plasentasında eritrol olmadığından insanlarda brucellosise bağlı abort olayları görülmez ( Kaya ve Avsever 2000 ).

Ruminantlarda brusellozis, B.abortusun plasentanın korio-allantoik hücrelerine yerleşip çoğalmasıyla plasentit, fetal ölüm ve genellikle gebeliğin 2 veya son trimesterinde oluşan yavru atımıyla kendini gösterir. Bütün aerobik organizmalar oksidatif bileşiklere karşı koruyucu mekanizmaya sahiptir. Bununla birlikte fagositik hücreler bu bakterileri yok etmek için oksijen radikallerini kullanır. Normal koşullar altında reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile antioksidan savunma sistemi arasında ince bir denge bulunur ( Beytut ve Kamiloğlu 2005 ).

Brucella cinsindeki bakteriler vücuda ilk alındığında polimorfonükleer ve mononükleer lökositler tarafından fagosite edilir. İntrasellüler ortamda yaşamını sürdürür ve ilk üremesini bölgesel lenf bezlerinde yaptıktan sonra hematogen yayılımla retikulo-endotelyal sistem elemanlarının bol bulunduğu doku ve organlara yerleşir. İnkübasyon süresi ortalama 2-8 hafta olarak kabul edilmektedir (Alkan ve Çalap 2004 ). Sonuçta ruminant türlerinin infekte olmasına, yaş, konakçının immunitesi, hamilelik durumu ve virulensi ve istilacı brucellanın sayısına bağlıdır. Bakterinin virulensi vücut direncinin üzerinde olduğunda bakteriyemi genellikle ispatlanmıştır. Bu bakteriyemi 10-20 gün sonra algılanır ve 30 günden 2 aya kadar kalır. Eğer hayvan hamileyse bakteriyemi sıklıkla uterusu yayılmasını etkiler. Aynı zamanda

infeksiyon çeşitli lenf nodüllerinde ve organlarda sıklıkla memede ve bazen dalakta yerleşerek oluşur ( Directorate 2001 ).

Brusellozis oluşabilmesi için *Brucella*'nın vücuda girdikten sonra makrofajda yaşayabilmesi gerekmektedir. Bu konuda, *Brucella* hücre duvarında bulunan oligopolisakkarit ( OPS ) yapının önemli rol oynadığı düşünülmektedir. *B.abortus*, *B.melitensis* ve *B.suisin* hücre duvarında bulunan Lipopolisakkarit ( LPS ),OPS adlı bir yapı içermektedir. OPS bulunması bakterinin daha az immunojenik ve aynı zamanda konak immün yanıtına daha dirençli olmasına neden olmaktadır. *B.canis* ve *B.ovis* hücre duvarı yapısında OPS bulundurmadığı için *B.abortus*, *B.melitensis* ve *B.suisin* neden olduğu infeksiyonlara göre daha hafif seyirli infeksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda, *Brucella* türlerinin üretildikleri ortamdan etkilendikleri, bazı proteinler üreterek stres koşulları karşısında tepki verebildikleri gösterilmiştir. Sığır plasentasından izole edilen *B.abortus* suşunun, invitro üretilen aynı suştan, intracellüler öldürme mekanizmalarının etkisine karşı daha dirençli olduğu gösterilmiştir. Makrofaj tarafından *Brucella* fagosite edildiğinde, bakteri tarafından 62, 28, 24 ve 17 kDa ağırlığındaki özel proteinler üretilmektedir ve bu proteinler makrofajların bakterilerin öldürülmesi için oluşturdukları asidik ortama direnç sağlamaktadır. Organizmanın dış ortam koşullarına dayanabilmesi de yine aynı şekilde bir takım mekanizmalar sonucu gerçekleşebilmektedir ve bu özelliği sayesinde süt ve süt ürünleriyle hayvanlardan insanlara hastalık bulaşabilmektedir. Endemik bölgelerde pastörize edilmiş keçi sütünden yapılan peynir *B.melitensis* infeksiyonunun en önemli kaynağıdır; bakteri süt, krema ve peynir gibi gıdalarda uzun süre ( 8- 11 hafta ) canlı kalabilmektedir ( Yumuk 2005 ).

İnfeksiyonun ilk aşamasında başlıca klinik semptom aborttur. Diğer belirtiler *Brucella*'nın yerleştiği bölgelerde şekillenir (örneğin orşitis, epididimis, hygroma, arthiritis, metritis, subklinik mastitis). Gebeliğin son döneminde hayvan infekte olursa abort genellikle yapmaz. Hayvanlar genellikle 3.ayın ortası içinde abort yapar, fakat uterusun tekrar invazyonu sıvıdaki döküm ve membranlarla beraber sonraki gebelikte meydana gelir ve gebeliğin tüm dönemleri boyunca devam edebilir ( Sanco 2001 ).

Klinik belirtilerin farklılığı yapay olarak infekte hayvanlarda tanımlanmasına rağmen koyun ve keçilerdeki brucellozisin başlıca klinik belirtisi dişi ruminantlardaki gibi üreme bozukluğudur. Örneğin; abort, zayıf yavru doğumu. Abort genellikle gebeliğin son 2 ayı



boyunca meydana gelir ve fetal membranların retensiyonunu bazı olaylar takip eder. Erkeklerde testislerde lokalize olan, epididimis görülür ve bakteri semenle saçılabilir. Bu akut orşitis ve epididimis ve infertilitenin sonlanmasıyla sonuçlanabilir. Arthritis arasıra iki cinsiyette de görülmektedir ( Sanco 2001 ).

Uterusun reinvazyonun sonraki gebelikte bulunması ve brucella organizmalarının membranlarla ve sıvılarla beraber saçılmasına rağmen, hayvanlarda genellikle birkez abort olur. İnfekte meme bezindeki yangısel değişiklik %10 minimum süt üretimini azaltır. Orşitis ve epididimis genellikle kronik enfeksiyona rehberlik eder. Brucella enfekte hayvanlarda genellikle granuloz yangısel lezyonlar sıklıkla lenfoid doku ve organlarda üreme organları gibi meme ve supramamary lenf nodülleri ve bazen eklem ve synovial membranlarda gelişir. Lezyonlar mevcut olduğunda patogonomik değildir. Aşağıda gösterilmektedir. Nekroze olan placentetis, palpabre testicular değişiklik, nekroze arşitis ve epididimis, seminal vesiculitis ve prostatitis. Hissedilebilir akut mastitis ve kaymağın üretimi ve lezzetsiz süt meydana gelebilir. Bazı abort olan fütüslerin vücut kavitesi fazlasıyla kanlanır, dalak ve karaciğer büyür. Diğer organlar normal görünür (Directorate 2001 ).

Koyun ve keçilerde brusellozise en çok *B.melitensis* daha az olarakta *B.abortus* neden olur. Gebe olan koyunlar enfeksiyona kuzulara oranla daha duyarlıdır ve kontamine plasenta ve fütüs ile temaslarının ardından enfeksiyona çok çabuk yakalanırlar. Gebe hayvanlarda oluşan enfeksiyon, çoğu zaman abort ile sonuçlanır. Enfekte hayvanlar kısa sürede hastalıktan kurtulabilirler ve nadiren ikinci kez yavru atarlar. Gebe hayvanlarda oluşan enfeksiyon çoğu zaman abort ile sonuçlanır. Enfekte hayvanlar kısa sürede hastalıktan kurtulabilirler ve nadiren ikinci kez yavru atarlar. Keçiler brusellozise koyunlardan daha duyarlıdır ve bazı durumlarda enfeksiyon yıllarca persistent kalabilir. Keçilerde etkenin süt ile atılımı en az iki laktasyon periyodu boyunca sürebilmektedir. Koyun ve keçilerde etkenin vaginal yolla atılımı sığırlara oranla daha çok ve daha uzun sürelidir. keçilerde 2-3 ay) süt verimindeki azalmada sığırlara oranla daha fazla olmaktadır. Ancak koyun ve keçilerde infertilite oranı sığırlara oranla daha düşüktür. Malta humması olarak da bilinen koyun ve keçi brusellozisi Akdeniz ülkeleri ve Arap yarım adası başta olmak üzere orta ve batı Avrupa ülkeleri, Latin Amerika ülkeleri, batı ve Orta Asya gibi dünyanın güney ve güneydoğu ülkelerinde görülmektedir. Hastalığın en belirgin semptomları, dişilerde abortus, kısırılık,

mastitis, erkeklerde orşitis ve her iki cinsiyette birden görülen artiritisdir. Brusellozisin kesin teşhisi, etkenin izolasyonu ve identifikasyonu ile olmaktadır ( Şahin ve Yıldız 2006 ).

Hastalığın hayvanlardaki gözle görülen belirtileri yavru atma ve süt veriminde azalma olduğu halde insanlarda sürekli, aralıklı veya düzensiz bir ateş, terleme, kas ve iskelet sistemine olan etkinin sonucu olarak yorgunluk, dermansızlık genel ağrı ve mental depresyon gibi semptomlar görülür. Eklem, mide-bağırsak, akciğerler, kan yapan organlar, cilt ve nadiren kalp-damar sistemi ve beyin etkilenir ( Kılıçarslan 2008 ).

*B.abortus* genellikle sığırlarda atıklara sebep olmaktadır. Aynı zamanda erkek hayvanların testis, epididimis ve seminal vesiküllerinde de yangısel nekrotik değişmelere yol açarlar. Sığır brucellosisinde klinik ve otopsi bulgularıyla kesin tanı konamaz. Bunun için bakteriyolojik ve serolojik testlerden yararlanır. Enfeksiyonun tanımında etken izolasyonu ve identifikasyonu önemli olmasına karşı materyal teminindeki güçlükler etken izolasyonunu zaman alıcı ve zor oluşu indirekt yöntemlerin daha fazla kullanılmasına yol açmıştır. İndirekt yöntemler arasında kan serumu ile yapılan serolojik testler bulunmaktadır. Teşhis, kontrol ve eradikasyon, programlarında kullanılan başlıca serolojik testler; Rose bengal plate test ( RBPT ), Tüp aglütinasyon test ( TAT ), Komplement fksasyon testi ( KFT ), Brucella ring test ( BRT ), İndirekt hemoliz test ( IHT ), Antiglobulin test ( Coombs ), Merkaptotanol test ( MET ), Radio immunoassay ( RIA ) ve ELISA gibi yöntemlerdir ( Özdemir ve ark. 2007 ).

Bir aglütinasyon testi olan RBPT, hem laboratuarda ve hem de tarama testi olarak sahada kullanılmaktadır. Rose bengal boyası ile boyanmış ve pH 3.65'e ayarlanmış antijenin bu asidik pH derecesi serumdaki IgM aktivitesini engelleyerek IgG'lerin (özellikle IgG 1) reaksiyona katılmalarına yardımcı olurken nonspesifik aglutininlerin etkinliğine de engel olur ( Özdemir ve ark. 2007 ).

Tüp aglütinasyon testi, Brusellozisin serolojik tanısında eskiden beri başvuru en önemli testlerden biridir. Yapılan çalışmalarda TAT'de IgM'lerin, IgA, IgG 1 ve IgG 2'lerden daha yüksek reaksiyon verdiği, bu sebeple TAT'ın akut brucellosis olgularının serolojik tanısında kroniklere oranla daha etkili olduğu bulunmuştur. Hastalığın erken dönemlerinde özellikle yüksek titreli serumlarda prozon ve diğer bloke fenomenler nedeniyle testte negatif sonuç elde edilebilir. Makro TAT fazla miktarda serum tüp, pipet ve antijen gerektirdiği için çok sayıda örneğin işlenmesinde dezavantaja sahiptir. Ayrıca TAT'ın fazla spesifik olmadığı

bildirilmekte ve buna sebep olarak koaglutininler ve nonspesifik aglutininlerin spesifiteyi etkilediği ileri sürülmektedir. Brucella grubu mikroorganizmalar ile ortak antijenik yapıya sahip olan bazı bakteriler ( *Y.enterocolitica* 0:9,*E.coli* 0:116 ve 0:157, *F.tularensis*, N grubu Salmonella'lar özellikle *S.urbana* ve *C.fetus* vs ) koaglutininlerin nedeni olarak gösterilmiştir. Nonspesifik aglutininlerin nedeni henüz tam olarak anlaşılmamasına rağmen bu durum serum glikoproteinlerinin desializasyonuna bağlı olarak serumda bulunan IgM'lerin modifiye olması ve bu serumlarla yapılan TAT'de IgM'lerin brucella antijenleri ile nonimmün reaksiyon vermeleri ile açıklanmıştır ( Şeyda ve ark. 1999 ).

Sığırlarda görülen başlıca klinik bulgular yavru atma, kısırılık, mastitis, orşitistir. Gebelik süresince hayvanlarda infeksiyona ait herhangi bir klinik belirti görülmez. Yavru atmalar gebeliğin her devresinde olursa da, genel olarak gebeliğin 6-8. aylarında meydana gelir. Daha genç veya daha erken yavru atma olgularına da rastlanabilir. Fakat birçok hayvan yavru atmadan da hastalık etkenini taşır ve etrafı bulaştırırlar ( Arda ve ark. 1997 ).

Brusellozisin laboratuvar tanısı için materyal olarak kan kullanılır. Brusellozis şüphesinde kan kültürleri birkaç kez tekrarlanmalıdır. İnfekte dokulardan apse içeriklerinden kemik iliğinden, karaciğer biyopsisi ile elde edilen materyalden de kültür yapılabilir. Daha seyrek olarak BOS, plevra ve periton sıvısı, eklem sıvısı ve idrar gibi örneklerde brucella kültürü için kullanılabilir. Kültür için triptik soy buyyon, triptik soy agar, tiyoin triptoz agar, triptoz agar, serum veya %5 koyun kanı ilave edilmiş agar besiyeri, brucella agar, tripticase agar, serumlu patetesli infüzyon agar, serumlu dekstroz agar kullanılır. Kan kültürleri 35- 37 °C de en az 6 hafta inkübe edilmelidir. Mikroorganizmalar kan kültür vasatlarında herhangi bir gözle görünür belirti yapmaksızın bulunabilirler ( Cengiz ve İştah 1997 ).

Brusellozisin kesin teşhisi, etkenin izolasyonu ve identifikasyonu ile olmaktadır. Canlı materyallerde bakteriyolojik yoklamalar pratik değildir ve izolasyon her zaman mümkün olmaz. Bu nedenle brusellozisin teşhisinde bakteriyolojik testler ile birlikte serolojik ve alerjik testler de kullanılmaktadır. Brusellozisin tanısında serolojik testlerden ELISA oldukça güvenilir ve çabuk sonuç veren bir testtir ( Şahin ve Yıldız 2006 ).

Tanı klinik bulgular, seroloji ve kesin olarak mikroorganizmayı izole etmekle konur. Bakteriyolojik konfirmasyonun yapılmaması halinde, tanı sıklıkla serolojik testlerin

sonuçlarına dayanır. Spesifik antikorların varlığının ve ayrıca bu antikorların titresinin arttığına gösterilmesi tanı koydurucudur. Serolojik testler içerisinde en yaygın kullanılan standart tüp aglutinasyon ( STA ) testidir. Brucella bakterileri görece yavaş ve güç ürediklerinden ve kültürde üretilebilme oranları düşük olduğundan Standard tüp aglutinasyon testi, klinikle birlikte değerlendirildiğinde brusellozis tanısında oldukça güvenilir bir testtir. Ancak zaman alıcı ve zahmetli bir test olması ve kimi zaman blokan antikorlara bağlı yalancı negatiflik durumlarıyla karşılaşabilmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Rutin biyokimyasal laboratuvar bulguları brusellozun nonspesifik tanısında önem taşımaktadır. Brusellozda lökosit sayısı çoğu zaman normal olmakla birlikte bazen lökopeni bezende lökositos görülmektedir. Bazı kronik vakalarda anemi, trombositopeni de görülebilir. Eritrosit sedimentasyon hızı ise orta derecede artmaktadır ( Mehli ve ark. 2008 ).

Etkenler akut dönemde kanda aranmalıdır. Bu amaçla kemik iliği de muayene edilebilir. Herhangi bir lokalizasyon oluşmuşsa o bölgedeki irin ya da punksiyon ile alınan sıvı teşhis amacıyla incelenebilir. Bunun dışında abortus vakalarında mümkünse bütün fetus laboratuvara gönderilmelidir. Mümkün değilse fetusa ait mide içeriği, fetal lezyonlar, uterus parçaları, kolostrum, serum örnekleri, erkeklerin epididimis ve testis örnekleri ile semen de gönderilebilir ( Kaya ve Avsever 2000 ).

Bugün birçok gelişmiş ülkede, bruselloz ya tamamen eradike edilmiş ya da kontrol altına alınmıştır. Bu ülkede brusellozis bir meslek hastalığı şeklinde tanımlanmakta olup, çiftçiler, veteriner hekimler, laboratuvar çalışanları ve hayvan bakıcılarında görülmektedir ( Ceylan ve ark. 2003 ). Brusellozis, Akdeniz ülkeleri ve gelişmekte olan ülkelerde daha sık karşılaşılan, endemik olmayan bölgelere uluslararası seyahatler ve infekte yiyeceklerle taşınabilen bir hastalıktır ( Zer ve ark. 2007 ).

## **2.GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1. Saha Serum Örnekleri**

Saha serum örnekleri Artvin ilindeki merkez köylerde, abort semptomu gösteren, Brucella aşısı yapılmamış, çoğunluğu genç olan ineklerden ve koyunlardan toplanmıştır. Alınan kanlardan çıkarılan serum örnekleri çalışma yapılana kadar -20 ° C'da laboratuvarında saklanmıştır.

#### **2.1.2. Rose Bengal Pleyt test antijeni**

Vet-Vac marka ticari Brucella Rose Bengal Plate Test Antijeni kullanıldı.

#### **2.1.3. Brucella Tüp Aglütinasyon Testi Antijeni**

Vet-Vac marka ticari Brucella tüp aglütinasyon antijeni kullanıldı.

#### **2.1.4. Ticari ELISA Test Kiti**

Sığır serumları için; Pourquier ELISA Version P04130/09 Marka ticari Brucella ELISA test kiti kullanıldı. Test işlemi üretici firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirildi.

Koyun serumları Pourquier ELISA Version P04310/07 Marka ticari Brucella ELISA test kiti kullanıldı. Test işlemi üretici firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirildi.

### **2.2. Metod**

#### **2.2.1. Rose Bengal Pleyt Test:**

RBPT Alton ve arkadaşları tarafından tanımlanan prosedüre göre yapılmıştır. Eşit miktardaki Rose Bengal antijeni ve şüpheli serum temiz bir lam üzerinde karıştırılır ve yavaşça sallanır. 4 dakika sonra aglütinasyonun oluşumu pozitif olarak kabul edilir ( Çelebi ve Atalay 2009 ).

#### **2.2.2. Serum Aglütinasyon Testi**

SAT yapmak için serumlar iki katlı sulandırılır. Serumlar 1/5'den 1/320'ye kadar titre verecek şekilde hazırlanır. Pendik Araştırma Enstitüsünden alınan test antijeni eşit miktarda her bir serum dilüsyonuna eklenir ve tüpler 18-24 saat 37 °C de inkubasyona bırakılır ( Çelebi ve Atalay 2009 ). 1/20 ve üzeri titre veren serumlar aşısız koyunlar için pozitif, 1/40 ve üzeri titre veren serumlar aşısız sığırlar için pozitif olarak değerlendirilir (Arda ve ark 1997).

#### **2.2.3. ELISA Testi**

Sığır serumları için test prosedürü ticari firmanın önerdiği şekilde standart prosedür uygulanarak yapıldı.

Test prosedürü;

- 1- Test pleytinin tüm gözlerine 190 mikrolitre dilusyon buffer konuldu.
- 2- A1 nolu gözlere 10 mikrolitre 1/20 oranında sulandırılmış negatif kontrol serumu ilave edildi.
- 3- B1 ve C1 nolu gözlere 10 mikrolitre 1/20 oranında sulandırılmış pozitif kontrol serumu ilave edildi.
- 4- Pleyt üzerinde uygun gözlere 10 mikrolitre 1/20 oranında sulandırılmış serum örneklerinden konuldu. Pleyt 1 saat (  $\pm$  5 dakika ) yada 1 gece 21°C'de bekletildi.
- 5- Gözleriçerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her göze 1900 ml yıkama solüsyonu eklenerek bekletildi ve işlem 3 kez tekrarlanarak yıkandı.
- 6- Her göze 100 mikrolitre 1/100 oranında sulandırılmış konjugat solusyonu eklendi. Pleyt 30 dakika bekletildi.
- 7- Gözler içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her göze 1900 ml yıkama solusyonu eklenerek bekletildi ve işlem 3 kez tekrarlanarak yıkandı.
- 8- Her göze 100 mikrolitre revalation solüsyonu ilave edildi.20 dakikada +21°C inkübe edildi.
- 9- Her göze 100 mikrolitre stop solusyonu ilave edildi.

Değerlendirme : optik dansite ( OD ) ELX808 Ultra Microplate Reader da 450nm'de okundu. Değerlendirme kit üreticisi firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı.

Koyun serumları için test prosedürü ticari firmanın önerdiği şekilde standart prosedür uygulanarak yapıldı.

Test prosedürü;

- 1- Test pleytinin tüm gözlerine 190 mikrolitre dılsyon buffer konuldu.
- 2- A1 nolu gözlere 10 mikrolitre 1/20 oranında sulandırılmış negatif kontrol serumu ilave edildi.
- 3- B1 ve C1 nolu gözlere 10 mikrolitre 1/20 oranında sulandırılmış pozitif kontrol serumu ilave edildi.
- 4- Pleyt üzerinde uygun gözlere 10 mikrolitre 1/20 oranında sulandırılmış serum örneklerinden konuldu. Pleyt 45 dakika (  $\pm 5$  dakika ),  $21^{\circ}\text{C}$  (  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  )'de bekletildi.
- 5- Gözler içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her göze 1900 ml yıkama solüsyonu eklenerek bekletildi ve işlem 3 kez tekrarlanarak yıkandı.
- 6- Her göze 100 mikrolitre 1/100 oranında sulandırılmış konjugat solusyonu eklendi. Pleyt 30 dakika bekletildi.
- 7- Gözler içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her göze 1900 ml yıkama solusyonu eklenerek bekletildi ve işlem 3 kez tekrarlanarak yıkandı.
- 8- Her göze 100 mikrolitre revalation solüsyonu ilave edildi. 10 dakikada  $+21^{\circ}\text{C}$  inkübe edildi.
- 9- Her göze 100 mikrolitre stop solusyonu ilave edildi.

Değerlendirme : optik dansite ( OD ) ELX808 Ultra Microplate Reader da 450nm'de okundu. Değerlendirme kit üreticisi firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı.



### 3.BULGULAR

Brucella aşısı yapılmamış, çoğunluğu genç hayvanlardan oluşan toplam 250 adet sığırdan ve 250 adet koyundan serum örnekleri toplandı.

Toplanan serum örneklerine önce Rose Bengal Plate Test (RBPT) uygulandı. Toplam 46 adet serum örneği zayıf pozitif olarak değerlendirildi. Şüpheli bulunan zayıf pozitif serumların 26 ( % 10.4 ) adeti sığır, 20 ( % 8 ) adeti koyuna ait serumlardı. Daha sonra zayıf pozitif bulunan bu serumlar önce Serum tüp aglütinasyon testi (SAT) ile incelendi. Bu testle incelenen serumlar Brucella negatif olarak belirlendi. Daha sonra aynı serumlar ELISA testi ile incelendiğinde negatif olarak değerlendirildi.

Sığır ve koyun serumlarında uygulanan testlerin oranları Çizelge 1 ve Çizelge 2’de verilmiştir.

**Çizelge 1.** Sığır serumlarında RBPT, SAT ve ELISA testine ait pozitif/negatif oranları

	RBPT	SAT	ELISA
Pozitif ( % )	26 (1.04)	-	-
Negatif ( % )	224 (89.6)	250 (100)	250 (100)
Toplam	250	250	250

**Çizelge 2.** Koyun serumlarında RBPT, TAT ve ELISA testine ait pozitif/negatif oranları

	RBPT	SAT	ELISA
Pozitif ( % )	20 (8)	-	-
Negatif ( % )	230 (92)	250 (100)	250 (100)
Toplam	250	250	250

Sığırlarda brusella enfeksiyonunun yaş ve abort yapanlarla yapmayanlar arasındaki RBPT ile seropozitiflik oranları Çizelge 3' de verilmiştir. Koyunlarda brusella enfeksiyonunun yaş ve abort yapanlarla yapmayanlar arasındaki RBPT'le seropozitiflik oranları Çizelge 4' de verilmiştir.

**Çizelge 3 :** Sığırlarda brusella enfeksiyonunun yaş ve abort yapanlarla yapmayanlar arasındaki RBPT ile seropozitiflik oranları

	ABORT		YAŞ		
	Var	Yok	1-3	4-6	>7
Seropozitif (%)	10 ( % 4.0 )	-	26 ( % 10.4 )	-	-
Seronegatif (%)	30 ( % 12 )	-	174 ( % 69.6 )	30 ( % 12 )	20 ( % 8.0 )
Toplam	40	-	200	30	20

**Çizelge 4 :** Koyunlarda brusella enfeksiyonunun yaş ve abort yapanlarla yapmayanlar arasındaki RBPT ile seropozitiflik oranları

	ABORT		YAŞ		
	Var	Yok	1-3	4-6	>7
Seropozitif (%)	15 ( % 6.0 )	-	16 ( % 6.4 )	4 ( % 1.6 )	-
Seronegatif (%)	-	230 ( % 92 )	184 ( % 73.6 )	46 ( % 18.4 )	-
Toplam	15	230	200	50	-

#### 4. TARTIŞMA

Teşhis ve tedavi konusundaki ilerlemelere rağmen brusellozis halen dünyada yaygın olarak görülmekte ve gelişmekte olan ülkelerde de prevalansı artmaktadır Sığır Brusellozisi birçok ülkede başarılı bir şekilde eradike edilmesine rağmen, koyun brusellozisi halen dünyanın birçok bölgesinde endemik bir seyir izlemektedir. ( Abuharfeil ve Abo-Shehada 1998 ).

İneklerde brusellosisin abortta, düşük yaşama kapasiteli buzağılamada ve düşük üreme performansında rolü büyüktür. İneklerde abort ilk gebelik döneminde meydana gelebilir. Brusellozis epiditimidis ve fırsatçı infeksiyonla meydana gelebilir. Ruminantlardaki ilk bulaşma kontamine fetal dokunun yenmesi ya da abort boyunca akan sıvıdan ya da doğumda meydana gelir ( Eter ve Drew 2006 ).

*B.abortus* sığır brusellozuna sebep olan bir bakteridir. Hastalık ateş, abort, erkeklerde epididimitis ve infertilite gibi üreme bozuklukları oluşturmakla karakterizedir ( Beytut ve Kamiloğlu 2005 ).

Brusella aglütinasyon testleri brusellozun teşhisinde önemli yer tutmaktadır. Rose bengal deneyi tarama amacıyla kullanılan testlerdendir. Olumlu bulunan testler tüp aglütinasyon ve dilüsyon deneyleriyle yeniden değerlendirilmelidir. Aglütinasyon testlerinde olumsuz sonuçlarla karşılaşılması sık karşılaşılan olaylardandır ( Özdemir ve ark. 2007).

Brusellozisin serolojik teşhisinde RBPT ve SAT yaygın olarak kullanılan konvansiyonel testlerdir. RBPT IgG nin belirlenmesinde daha iyi performans gösteren bir tarama testi iken, SAT ile hem IgG hem de IgM sınıfı immunglobulinler belirlenebilir (Chachra ve ark 2009, Çelebi ve Atalay 2009 ). Brusellozis' de antikorun farklı immunglobulinler ( IgG 1, IgG2, IgM ) ile reaksiyon veren konvansiyonel testlerin kombine kullanılmaları yanısıra, ELISA gibi oldukça duyarlı bir testin doğrulama testi olarak kullanılması reaktörlerin kesin olarak

belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Diğer bir doğrulama testi olan CFT'den daha duyarlı kolay ve hızlı bir test olması nedeniyle de eradikasyon programlarında tercih edilmektedir.

Yapılan bir araştırmada, denemeye alınan 976 sığır serumunda RBPT- SAT- ELISA in kombine uygulanmasıyla RBPT-SAT-ELISA ile 4, RBPT-ELISA ile 4, SAT-ELISA ve RBPT-SAT ile l'er seropozitiflik saptandı. Araştırma bulguları, ELISA'nın sığır brusellozis 'in teşhisinde başarıyla kullanılabileceği hakkındaki görüşlerle desteklenmektedir. Ancak, sığır brusellozisinin ELISA ile tanısında tek bir konjugat yerine IgG ve IgM gibi farklı antikor gruplarının oluşturduğu konjugatların uygun antijenlerle birlikte kullanılması halinde daha fazla reaktörü ortaya koyabilmesi nedeniyle yararlı olacağını belirtmişlerdir ( Ayhan Fidancı ve ark. 1995 ).

Mongolia'da yapılan bir epidemiyolojik çalışmada serum örnekleri Brucella yönünden RBPT ve ELISA ile incelenmişlerdir. Çalışmada Brucella aşısı yapılmış bir sürüde 150 serumun 66'sı RBPT de pozitif vermişken bu serumlardan 21'i ELISA'da pozitif vermiştir. Bu 21 serum doğru pozitif kabul edilirken, diğer 45 serum ELISA testinde negatif bulunmuş ve yanlış pozitif olarak değerlendirilmiştir. RBPT ile pozitif bulunan bu 45 serumun yanlış pozitifliğinin sebebi olarak, RBPT nin aşılı hayvanlara karşı oluşan antikorları belirlemiş olabileceğini ya da bu serumların alındığı hayvanların *Yersinia enterocolitica* O9 ya da diğer Gram negatif bakterilere maruz kalmış olabileceğini bunlarında Brucella ile çapraz reaksiyon verebileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde RBPT ile toplam 46 serum zayıf pozitif verdi. Bu serumlar ELISA ile negatif sonuç verdi. Birçok literatürde ELISA brucellanın serolojik teşhisi için Altın Standart olarak kabul edildiği için, bizde bu 46 pozitifliği yanlış pozitiflik olarak değerlendirdik. Bu sonuçlarda literatürle uyumlu bulundu (Erdenebaatar ve ark 2004)

ELISA testinin brusellaya karşı çok düşük seviyedeki antikorları ortaya çıkarması, brusellozise karşı yapılan serolojik çalışmalarda yüksek oranda spesifite ve sensitivite gösterdiği birçok araştırıcı tarafından doğrulanmıştır. Bu nedenle araştırmamızda, brusellozisin seroprevalansının belirlenmesinde ELISA testini uygulandı. Yapılan serolojik çalışmalarda birçok araştırmacı yaş artışı ile brusellozisin prevalansının arttığını ileri sürmektedir. Akakpo ve ark. Senegal/togo'da 1056 sığır üzerine yaptıkları serolojik çalışmada, 1-3 yaşındakilerde % 33.6, 10 yaş ve üzerindekiilerde % 58.1'lik seropozitiflik

tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Masoumi ve ark., Pakistan'ın Lahore bölgesinde, serum aglutinasyon testi ile 500 keçi, 532 koyun ve 522 insan serum örneğinde en yüksek insidansın 4 yaşın üstündeki keçilerde olduğunu rapor etmişlerdir. Brusellozisin araştırıldığı bazı serolojik çalışmalarda, ırklar arasında da farklılıkların olduğu araştırmacılar tarafından saptanmıştır. *B. ovis* ile enfekte sürü ve besi koçları üzerine yaptıkları araştırmada, Merinos koçlarının seroprevalansının Border Leicester ve Dorset koçlarından önemli derecede daha düşük olduğunu bildirmişlerdir ( Şahin ve Yıldız 2006 ).

Esendal ve ark. bruselloz yönünden şüpheli 250 sığır serumunda RBPT ile % 47.2, SAT ile % 51.6; 250 koyun - keçi serumunda da RBPT ile % 37.6, SAT ile % 44.4 pozitif reaksiyon saptamışlardır. Yardımcı ve ark. abortus yapmış 101 koyuna ait kan serumundan, RBPT ile 59'unun, Mikroaglutinasyon testi ile de 64'ünün seropozitif bulunduğunu bildirmişlerdir. Değişik yerlerde yapılan çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar, o bölgedeki brusellozun yaygınlığına, kullanılan testlere ve seropozitif olarak kabul edilen en düşük titreye bağlı olarak değişebilir ( Ceylan ve ark. 2003 ).

Sığırlarda görülen *Brucella abortus* enfeksiyonları sadece klinik yönden değil, insan ve çeşitli hayvan türleri için enfeksiyon kaynağı olduklarından da önem taşımaktadır ( Arda ve ark. 1992 ). Sığır brusellosisinin tanısında serolojik testler çok önem taşımaktadır. Bu amaçla en çok Plate Test, Rose bengal plate test ve seroaglutinasyon testlerinden yararlanılmaktadır. Brusellosisin serolojik tanısında çeşitli yöntemler açıkça ortaya konulduktan sonra Tüp aglutinasyon testi tanı için en geçerli yöntem olmuştur. TAT serum aglutininlerinin tayini ve ölçümü amacıyla tercihen kullanılmışsa da nonspesifik antikorlardan ileri gelen olumsuzluklar, fazla miktarda serum, tüp, pipet ve antijen gerektirdiği için çok sayıda örneğin işlenmesinde de önemli bir dezavantaja sahip olması gibi bazı olumsuzlukları bildirilmiştir ( Brown ve ark. 1982 ).

Yaptığımız çalışmada 250 adet sığır serumundan 26 ( % 1.04 ) adet serum, 250 koyun serumundan 20 ( % 8.0 ) adet serum RBPT ile çok zayıf pozitif olarak değerlendirildi. Bu pozitif serumlara SAT uygulandı. SAT negatif olarak belirlendi. Aynı serumlara ELİSA uygulaması yapıldı ve yine hepsi negatif olarak bulundu. Bu sonuçlar incelendiğinde

örneklerin alındığı bölgede Brucella infeksiyonunun olmadığı düşünüldü. İncelendiğinde bu bölgede hayvanların hiç Brucella aşısı olmadığı ve hayvanlarda Brucella infeksiyonunun görülmediği belirlendi. Artvin bölgesinde merkez köylerde bruselloza rastlanmaması bu bölgelerde hayvan hareketlerinin olmaması, çevre koşullarının infeksiyona uygun olmaması ve suni tohumlamanın yaygın olmasıyla açıklanabilir. Yine literatürlerde yaş ilerledikçe hastalığın daha yaygın olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda kullanılan örneklerin çoğu genç hayvanlardan alınmıştır. Bölge incelendiğinde örnek alınmayan Artvin ilinin çeşitli ilçelerinde Brusellanın varlığı sporadik olarak gözlenmiştir ki bu bölgelerde Erzurum ve Ardahan illerinden fazla hayvan sevki olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Brusella'nın serolojik teşhisinde uygulanan testlerin kombine edilmesinin ve beraber değerlendirilmesinin daha güvenilir olduğu gözlendi Brucella infeksiyonunun herhangi bir eradikasyon programı uygulanmadan, sadece bazı doğal şartlar ve önlemlerle kontrol altına alınabilir olduğu gözlenmiştir. Brucella infeksiyonunun kontrol altına alınması ve eradikasyonu hem insan sağlığı hem de hayvan sağlığı açısından önemlidir. Dolayısıyla taramaların düzenli olarak yapılması ve infeksiyonun kontrolünün devamının sağlanması gereklidir

## 5. SONUÇ

Artvin ilindeki merkez köylerdeki sığır ve koyundan alınan, brusella aşısı olmayan, abort yapmış ve çoğunluğunu genç hayvanların oluşturduğu serumlardan Brucella infeksiyonunun varlığının serolojik olarak araştırılmasının amaçlandı.

Bu çalışmada; sığır ve koyunlardan 250'şer adet olmak üzere toplam 500 adet serum örneği toplandı. İncelenen bu örnekler sonucunda 250 adet sığır serumundan 26 ( % 10.4 ), 250 adet koyun serumundan 20 adet ( % 8 ) serum örneği RBPT testi sonucunda zayıf pozitif bulundu. Bu serumlara SAT ve ELISA testi uygulandı. Fakat hem SAT hemde ELISA testleri sonucunda serumlarda pozitif reaksiyon görülmedi. Üç testinde sensitivitesi yüksek olmasına rağmen RBPT 'de bazı gram negatiflerin çapraz reaksiyon vermesi nedeniyle yanlış pozitiflik olması ihtimali düşünüldü. Üç testin değerlendirmesi sonucu çalışılan örneklerde Brucella infeksiyonu negatif olarak belirlendi.

Araştırdığımız bölgede yaptığımız serolojik çalışmada infeksiyona rastlanmamıştır. Bu sonuçlara dayanarak, bölgede belirli bir eradikasyon programı uygulanmamasına rağmen, infeksiyonun kontrol altında olduğu düşünülebilir. Brucella infeksiyonunun kontrol altına alınması ve eradikasyonu hem insan sağlığı hem de hayvan sağlığı açısından önemlidir. Dolayısıyla taramaların düzenli olarak yapılması ve infeksiyonun kontrolünün devamının sağlanması gereklidir. Serolojik tanıda da uygulanan testlerin kombine edilmesinin ve beraber değerlendirilmesinin daha güvenilir olduğu gözlemlendi.



## 6. ÖZET

### **Sığır ve Koyun Serumlarının Brusellozis Yönünden Tüp Aglutinasyon Testi ve ELISA ile incelenmesi**

Brusellozis, ülkemiz hayvan yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen; yavru atma, kısırılık ve süt veriminde azalma yaparak ekonomik kayıplara yol açan, bulaşıcı zoonoz bir hastalıktır. Brucella'nın teşhisinde, eradikasyon programlarının hazırlanmasında, aşılama sonrası titre belirlemelerinde, sürü taramalarında yaygın olarak serolojik testler kullanılmaktadır. Bu çalışmada; Artvin Bölgesindeki koyun ve sığırlardan alınan serumlar ile Brucella'nın bölgedeki varlığının serolojik testlerle ortaya konması amaçlanmıştır. Alınan 250 adet sığır serumunda 26 ( % 1.04 ) adet, 250 koyun serumunda 20 ( % 8.0 ) adet serum örneği Rose Bengal Plate Test (RBPT) testi ile zayıf pozitif bulunmuştur. Bu serumlara Tüp Aglutinasyon testi (TAT) ve ELISA testleri yapılmıştır. Bütün serumlar her iki testte de negatif sonuç vermiştir. Sonuç olarak bölgenin Brucella infeksiyonu yönünden kontrol altında olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler :** Sığır, koyun, brucella, aglutinasyon, ELISA

## **7. SUMMARY**

### **Investigation of Brucella in Cattle and Sheep sera by Tube Agglutination Test and ELISA**

Brucellosis is a contagious zoonotic infection that causes economic loss in animal breeding by abortus, infertility and loss in milk yield. Serological tests are used widely in herd screening, determination of titre after vaccination and preparation of eradication programmes. Aim of this study was to determine the presence of Brucella in sera taken from sheeps and cattles in Artvin region. 26 (1.04 %) serum samples taken from 250 cattle and 20 (8.0 %) serum samples taken from 250 sheep were found weakly positive in Rose Bengal Plate Test (RBPT). All serum samples which were subjected to Tube Agglutination Test and ELISA were found to be negative. As a conclusion it is determined that the region is under control for Brucella infection.

**Key Words:** Cattle, sheep, Brucella, agglutination, ELISA

## 8. KAYNAKLAR

**Agasthya AS, Isloor S, Prabhudas K** ( 2007 ) *Brucellosis in High Risk Group Individuals*, Indian Journal of Medical Microbiology, 25 ( 1 ) : 28 – 31

**Alkan B. M., Çalap B.** ( 2004 ) *Brucellada Kas-İskelet Sistemi Bulguları*, Fiziksel Tıp Dergisi, 7 ( 2 ): 99 - 104

**Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Leloğlu N, Kahraman M, Ilgaz A, Diker K. S** ( 1997 ) *Özel Mikrobiyoloji*, Medisan Yayın Serisi No : 26, 110 - 125

**Artan Oğuzkaya M, Baykan Zeynep** ( 2006 ) *Kayseri İli Kocasinan İlçesi Yazır köyünde 15 yaş ve Üzeri Nüfusta Bruselloz Seroprevalansı*, İnfeksiyon Dergisi 20 ( 1 ) :19 – 21

**Bayraktar M, Bayraktar N, Bayındır Y, Durmaz R** ( 2005 ) *Brusellozlu Hastalarda Serum C-reaktif Protein, Demir ve Ferritin Düzeylerinin Tanı ve İzlemedeki Değeri*, ANKEM Dergisi, 19 ( 2 ) : 61 – 63

**Betsy J., Bricker and Shirley M., Halling** ( 1994 ) *Differentiation of Brucella abortus bv. 1, 2, and4, Brucella melitensis, B.ovis and B.suis bv.1 by PCR*, Journal of Clinical Microbiology, Vol.32,No.11 p.2660 - 2666

**Beytut E, Kamiloğlu Nabil N** ( 2005 ) *Brucella abortus ile Enfekte Sığırların Eritrosit Antioksidan Savunma Sistemi ve Lipid Peroksidasyonundaki Değişiklikler*, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 11 ( 1 ) : 61 - 64, yayın kodu : 2005 / 16 - A

**Brown S., Klein L., , McKinney G. C., Jones F. T., W. L.** ( 1982 ) *Safranin – O satined antigen Microagglutination Test for Detection of Brucella Antibodies*, Journal Clinical Microbiology, 13 ( 2 ) : 398 – 400

**Cengiz Tefvik A., Dolapçı İştar G.** (1997) *Brucellaların Özellikleri ve Brusellozda Tanı Yöntemleri*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, cilt 50, sayı 1, sayfa 41-46

**Ceylan E, Irmak H, Buzğan T, Karahocagil M. K., Evirgen Ö, Sakarya N, Akdeniz H, Demiröz A. P** ( 2003 ) *Van İline Bağlı Bazı Köylerde İnsan ve Hayvan Populasyonunda Bruselloz Seroprevalansı*, Van Tıp Dergisi, cilt : 10, Sayı : 1

**Ceylan E, Berktaş M, Ağaoğlu Z** ( 2006 ) *Vandaki Askeri Köpeklerde Brusellozisin Yaygınlığının Araştırılması*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, cilt 9, sayı 2, sayfa 55 – 57

**Chachra D., Saxena H.M., Kaur G., Chandra M** ( 2009 ) *Comparative Efficacy of Rose Bengal Plate Test, Standard Tube Agglutination Test and Dot ELISA in Immunological Detection of Antibodies to Brucella Abortus in Sera*, Journal of Bacteriology Research Vol 1 ( 3 ) pp. 030 - 033

**Cloekaert A, Baucheron S, Vizcaino N, Michel S. Zygmunt** (2001 ) *Use of Recombinant BP26 protein in Serological Diagnosis of Brucella melitensis Infection in Sheep*, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Vol.8, No.4, 772 -775

**Çelebi Ö., Atabay İ. H.** ( 2009 ) *Seroepidemiological Investigation of Brusellosis in Sheep Abortions in Kars*, Trop Anim Health Prod 41 : 115 - 119

**Delrue R. M, Martinez-Lorenzo M., Lestrade P., Danese I., Bielarz V., Mertens P., De Bolle X., Tibor A., Gorvel J. P., Letesson J. J.** ( 2001 ) *Identification of Brucella spp.genes Involved in Intracellular Trafficking*, Cellular Microbiology 3 ( 7 ) : 487- 497

**Demirdal T, Demirtürk N** ( 2007 ) *Afyonkarahisar İlinde Süt ve Süt Ürünleri Üretiminin Yoğun Olduğu Bölgelerde Bruselloz Seroprevalansı*, Genel Tıp Dergisi 17 ( 1 )

**Directorate C.** ( 2001 ) *Brucellosis in Sheep and Goats*, SANCO.C.2/AH/R23/2001, [http://ec.europa.eu/food/ts/sc/scsh/out59\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/ts/sc/scsh/out59_en.pdf) Erişim tarihi : Kasım 2008

**Erdenebaatar J., Bayarsaikhan B., Yondondor A., Watarai M., Shirahata T., Jargalsaikhan E., Kawamoto K., Makino S.** ( 2004 ) *Epidemiological and Serological Survey of Brucellosis in Mongolia by ELISA Using Sarcosine Extracts*, *Microbiology Immunology* 48 ( 8 ) 571 - 577

**Eşel D, Sümerkan B, Ayangil D, Telli M** ( 2004 ) *Brucella melitensis* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesinde Agar Dilüsyon ve E-Test Yöntemlerinin Karşılaştırılması, *Ankem Dergisi*, 18 ( 4 ) : 196 – 199

**Eter R. P., Drew M. L.** ( 2006 ) *Brucellosis in Elk of Eastern IDAHO*, *Journal of Wildlife Diseases*, 42 ( 2 ) pp. 271 - 278

**Fidancı Ayhan H, Alabay M, Akın S, Güvener N** ( 1995 ) *Sığırlarda Brucella Abortusa Karşı Oluşan Antikorları Saptamada ELISA ve Diğer Serolojik Tekniklerin Karşılaştırılması*, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 42 : 553 - 557

**Karasoy M.** ( 2000 ) *Brucellosizli Koyunlardan Elde Edilen Sütlere Yapılan Peynirlerde Brucella melitensis'in Dayanma Süresi Üzerinde Araştırmalar*, <http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/11/642/8219.pdf> Erişim tarihi : şubat 2008

**Kaya O, Avsever L** ( 2000 ) *Sığır ve Koyunlarda Atıklara Neden Olan Bakteriyel Etkenler*, <http://www.izmir-vho.org/dosyalar/abortlar.doc> Erişim tarihi : Aralık 2008

**Kaya S** ( 2006 ) *Brucelloz ve tedavi sorunu*, *İnfeksiyon Dergisi*(Turkish Journal of Infection) ( 3 ) : 227 - 230

**Kılıçarslan Kubilay** ( 2008 ) *Çiftlik Hayvanlarında Bakteriyel ve Viral Hastalıkların ELISA ile Serolojik Teşhisi*, e-Veteriner Dergisi Şubat'09 Sayfa 25 – 32

**Kittelberger R, Hansen M, Ross G P., Hilbink F** ( 1994 ) *A Sensitive Immunoblotting Technique for The Serodignosis of Brucella ovis Infections*, Journal Veterinary Diagnos Investigation 6 :188 -194

**Korkmaz S, Candan F, M. Kılıçlı F, Bakıcı M. Z** ( 2005 ) *Brusellozlu Olgularda Tanısal Yaklaşım: Olgu Sunumu*, C.Ü.Tıp fakültesi Dergisi 27 ( 2 ) : 83 – 87

**Marin C. M., Moreno E., Moriyon I., Diaz R., Blasco J. M.** ( 1999 ) *Performance of Competitive and Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, Gel Immunoprecipitation with Native Hapten Polysaccharide and Standard Serological Test in Diagnosis of Sheep Brucellosis*, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Vol. 6, No.2, p.269 - 272

**Mehli M, Karşılığil T, Gayyurhan E D, Akın F E Ö** ( 2008 ) *Brusellozda Standart Tüp Aglutinasyon Titreleri ve Rose Bengal Testi Sonuçlarının Biyokimyasal Parametrelerle İlişkisi*, Türk mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 38 (1) : 16 – 22

**Nasir A. A., Perveen Z, Ikram-ul-Haq M** (2005 ) *Comparative Study of Standard and Modified Serum Agglutination Tests for The Diagnosis of Brucellosis in Animals*, Veterinary Journal, 25 ( 1 ):

**Özdemir M, Doğan M, Baysal B** ( 2007 ) *Brusellozun Serolojik Tanısında Yeni Bir Yöntem : Immuncapture Aglutinasyon Testi*, Genel Tıp Dergisi 17 ( 1 ) : 9 – 13

**Özkuyumcu C** ( 2007 ) *Brucella*, [www.mikrobiyoloji.info/Ders/brucella\\_2007.pdf](http://www.mikrobiyoloji.info/Ders/brucella_2007.pdf)  
Erişim tarihi : Aralık 2008

**Radostits, Gay C.C., Blood D. C., Arundel J. H., Hinchliff K. W.** ( 2000 ) *9 th edition : A Textbook of The Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*, Yayınevi W. B. Saunders sayfa : 873

**Robinson A.** ( 2001 ) *Guidelines for Coordinated Human and Animal Brucellosis Surveillance*, <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4723E/Y4723e07.htm> Erişim tarihi : Kasım 2008

**Robinson A.** ( 2001 ) *Surveillance of Bovine Brucellosis*, <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4723E/Y4723e07.htm> Erişim tarihi : Kasım 2008

**Robinson A.** ( 2001 ) *Surveillance of Ovine and Caprine Brucellosis*, <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4723E/Y4723e07.htm> Erişim tarihi : Kasım 2008

**Robinson A.** ( 2001 ) *Surveillance of Porcine Brucellosis*, <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4723E/Y4723e07.htm> Erişim tarihi : Kasım 2008

**Robinson A.** ( 2001 ) *Surveillance in Camels, Wildlife and Other Species*, <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4723E/Y4723e07.htm> Erişim tarihi : Kasım 2008

**Saçar Suzan, Cenger Hırçın D, Kavas S. T, Asan A, Demir M, Saçar M, Turgut H** ( 2008 ) *Brucella Melitensis'in Neden Olduğu Brusella Endokarditi*, Dicle Tıp Dergisi Cilt : 35, Sayı: 1, ( 58 – 60 )

**Stephen M. Hall and Anthony W. Confer** ( 1987 ) *Comparison of TRACK XI Fluorometric Immunoassay System with Other Serologic Tests for Detection of Serum Antibody to Brucella abortus in Cattle*, Journal of Clinical Microbiology, Vol:25, p. 350 - 354

**Şahin T, Yıldız A.** ( 2006 ) *Hatay Yöresindeki Koyun ve Keçilerde brusellosizin Seroprevalansının Araştırılması*, F.Ü.Sağlık Bilimleri Dergisi 20 ( 5 ) : 331 – 335

**Şeyda T, Aydın F, Genç O, Güler M.A, Baz E.** ( 1999 ) *Sığır Serumlarında Mikroaglutinasyon Testi ( MAT ) ile Brucella Antikorlarının Araştırılması*, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Cilt : 3 sayı : 7 Sayfa : 7 – 11

**Terzi G** ( 2006 ) *Samsun Bölgesinden Toplanan Sütlerde Milk Ring Test ve Aglutinasyon Testi ile Brucella Antikoruğunun Araştırılması*, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni 5 ( 3 )

**Tunçbilek S** ( 2006 ) *Spinal Bruselloz : Klinik Özellikler, Tanı ve Tedavi Yaklaşımları*, The journal of Turkish Spinal Surgery 17 ( 1 ) : 9 – 16

**Türütoğlu H, Mutluer B, Uysal Y.** ( 2003 ) *Burdur Yöresinde Toplanan Sütlerin Brucella Enfeksiyonu Yönünden Araştırılması*, Turk Journal Veterinary Animal Science 27 : 1003 – 1009

**Uzal F. A. , Carrasco A. E., Nielsen K. H.** ( 1995 ) *Evaluation of an İndirect ELISA for The Diagnosis of Bovine Brucellosis*, Journal Veterinary Diagnos Invest. 7 : 473 – 475

**Vito G. Delvecchio, Kapatral V., Rajendra J. Redkar, Patra G., Mujer C., Los T., Ivanova N., Anderson L., Bhattacharyya A., Lykidis A., Reznik G., Jablonski L., Larsen N., D'Souza M., Bernal A., Mazur M., Goltsman E., Selkov E., Elzer P. H., Hagius S., O'Callaghan D., Letesson J.-J., Haselkorn R., Kyrpides N., Overbeek R.** ( 2001 ) *The Genome Sequence of The Facultative İntracellular Pathogen B.melitensis*, PNAS, Vol. 99 No. 1 / 443 – 448

**Yardımcı H., Küçükayan U., Ömer M. Esendal, Erdemoğlu A.** ( 1995 ) *Koyun Brusellosisinin Serolojik Teşhisinde Dithiothreitol ve Edtanın kullanılması*, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 42 :241 - 245



**Yumuk Z** ( 2005 ) *Alkol, Diyabet ve Brucella melitensis İnfeksiyonu*, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 35 : 203 – 214

**Zer Y, Namıduru M., Çam R.** ( 2007 ) *Kan Kùltürlerinden İzole Edilen Brucella melitensis Suşlarına Tigesiklinin in-vitro Etkinliđi*, ANKEM Dergisi 21 ( 1 ) : 42 - 45

## ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında İzmir'de doğdu. İlköğretimini Vali Rahmi Bey İlkokulu'nda, orta öğrenimini Otuz Ağustos İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini Buca Lisesi'nde tamamladı.1998 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı. 2005 yılında aynı fakülteden mezun oldu. 2006 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

2005-2006 yılları arasında özel sektörde çalıştıktan sonra 2007 yılında Artvin İl Tarım Müdürlüğüne Sözleşmeli Personel olarak, Artvin Merkez İlçe Ortaköy Köyü'ne atandı. Halen Artvin'de çalışmaktadır.

## **TEŞEKKÜR**

Tez çalıŐmalarım boyunca ilgi ve yardımlarını gördüğüm danıŐmanım Yrd.Doç.Dr. Serap SAVAŞAN'a, araŐtırmalarımın yapılmasında katkıda bulunan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı BaŐkanımız Prof.Dr. Osman KAYA'ya, tezimin tüm aşamalarında destek ve yardımlarını esirgemeyen AD Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine, çalıŐmalarımın yapılması sırasında destek veren Artvin İl Tarım Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Őube Müdürü Őeref DEMİR'e ve Veteriner Hekim Tansel AYKŐE'ye teşekkür ederim.