



T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİK-YL-2013-0001

**SİĞİR VE KOYUN ABORTLARINDAN BRUCELLA SPP.
İZOLASYONUNDA FARKLI SELEKTİF BESİYERLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

ORBAY SAYI

DANIŞMAN
Doç. Dr. SERAP SAVAŞAN

AYDIN-2013

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİK-YL-2013-0001

**SIĞIR VE KOYUN ABORTLARINDAN BRUCELLA SPP.
İZOLASYONUNDA FARKLI SELEKTİF BESİYERLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

ORBAY SAYI

DANIŞMAN
Doç. Dr. SERAP SAVAŞAN

AYDIN-2013

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Vel. Hek. Orbay SAYI tarafından hazırlanan "Sığır ve Koyun Abortlarından Brucella spp. izolasyonunda Farklı Selektif Besiyelerinin Karşılaştırılması" başlıklı tez, 24/05/2013 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

1- Prof. Dr. Osman KAYA

2- Prof. Dr. K. Serdar DİKER

3- Doç. Dr. Scrap SAVAŞAN

Üniversitesi :

ADÜ, Veteriner Fakültesi

AÜ, Veteriner Fakültesi

ADÜ, Veteriner Fakültesi

İmzası:



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Sacide KARAKAŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Brusellosis dünyanın birçok ülkesinde yaygın ve ekonomik olarak önemli bir zoonotik hastalıktır. Hastalık abortuslar, süt verimi kaybı, damızlık değeri kaybı, infertilite, veteriner ve aşılama masrafları nedeniyle hayvansal üretimde kayıplara neden olurken infekte hayvanlarla direkt temas veya kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketimiyle önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Ayrıca hastalık hayvan ve hayvan ürünlerinin ticaretine engel teşkil etmekte ve özellikle çoğunluğu kırsal kesimde bulunan ve kısıtlı imkanlara sahip bir sektörü temsil eden hayvan yetiştiricilerinin sosyo-ekonomik gelişmesini etkilemektedir (Gotuzzo E, Carrillo C, 1998; Young E.J., 2000).

Hastalığın hayvandan hayvana bulaşmasının ana kaynağı abort ya da doğum sırasında dışarıya atılan çok sayıdaki mikroorganizmalardır. Plasenta, fetus ve fetal sıvılarda çok sayıda bakteri bulunmaktadır. Bir abort olayında yaklaşık 10^{12} - 10^{13} gibi çok büyük miktarlarda bakteri saçılmasının meydana geldiği bildirilmektedir (Alton GG. 1970).

Bir abort ya da infekte doğumu genellikle vaginal akıntılar yolu ile etkenin masif bir şekilde yayılması izlemektedir ve bu da çevrenin geniş çaplı olarak kontaminasyonuna neden olmaktadır. *B.melitensis*'in küçük ruminantlarda vagina yolu ile atılmasının *B.abortus*'un sığırlardaki atılımından daha uzun sürdüğü belirtilmektedir. Bakterinin atılması keçilerde en azından 2-3 ay ve koyunlarda 60 gün sürmektedir (Alton GG. 1970).

Bu çalışmada Marmara Bölgesi'nden Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne getirilen toplam 100 adet büyük ve küçük gevişgetiren atık materyallerinin karaciğer, böbrek, mide sıvısı ve dalak organlarının homojenatları, farklı seleklif besiyerleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu araştırma ile abort yapmış sığır ve koyunlardan atık materyallerinin, farklı seleklif besiyerleri (Farrell's Medium, Modified Thoyer Martin Medium, CITA Medium) kullanılarak, izole edilen brucella türlerinin izolasyon oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Brucella Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri	8
1.1.1. Brucella abortus	8
1.1.2. Brucella melitensis	9
1.1.3. Brucella suis	10
1.1.4. Brucella neotomae	10
1.1.5. Brucella ovis	11
1.1.6. Brucella canis	11
1.2. Brucellosis'in Akdeniz Ülkelerindeki Durumu ve Eradikasyon Programları	13
1.2.1. İspanya	13
1.2.2. İsrail	13
1.2.3. İtalya	14
1.2.4. Kıbrıs	14
1.2.5. Mısır	14
1.2.6. Portekiz	15
1.2.7. Suriye	15
	iii

1.2.8. Yunanistan	16
1.2.9. Makedonya	16
1.2.10. Bulgaristan	16
1.2.11. Hırvatistan	17
1.2.12. Sırbistan	17
1.2.13. Türkiye	17
1.3. Bakteriyoskopi	22
1.4. Kültür	23
1.5. Hayvan Deneyi	23
1.6. Serolojik Testler	23
1.6.1. Serum Aglütinasyon Testi	23
1.6.2. Coombs Testi	24
1.6.3. Rivanol Testleri	24
1.6.4. Mikroaglütinasyon Testi	24
1.6.5. Rose Bengal Plate Testi	24
1.6.6. Lam Aglütinasyon Testi	25
1.6.7. Spot Testi	25
1.6.8. Polimeraz Zincir Tepkimeleri	25
1.6.9. Radioimmunoassay	25
1.6.10. Komplement Fiksasyon Testi	25
1.6.11. Milk Ring Testi	25
1.6.12. ELISA	26
1.7. Alerji Testleri	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1. Gereç ve Saha Örnekleri	28

2.1.1. Brucella Antiserumları	28
2.1.2. Brucella Selektif Besiyerleri	28
2.1.2.1. Farrell's Medium	28
2.1.2.2. CITA Medium	29
2.1.2.3. Modifiye Thayer-Martin Medium	30
2.1.3. Boya İçeren Besiyerleri	32
2.1.3.1. Tiyonin'li Besiyeri	32
2.1.3.2. Bazik Fuksin'li Besiyeri	32
2.1.3.3. Safranin-O'lu Besiyeri	33
2.1.4. Antibiyotik İçeren Besiyerleri	33
2.1.4.1. Streptomisinli Besiyeri	33
2.1.4.2. Penisinli Besiyeri	33
2.1.4.3. İ-eritritol'lü Besiyeri	33
2.1.5. Biyokimyasal Testler	33
2.1.5.1. Katalaz Testi	33
2.1.5.2. Üreaz Testi	34
2.1.5.3. Oksidaz Testi	34
2.2. Cihazlar	34
2.3. YÖNTEM	35
2.3.1. Direkt Mikroskopik Muayene	35
2.3.2. Brucella İzolasyon Yöntemi	35
2.3.2.1. Organ Homojenatlarının Hazırlanması	35
2.3.2.2. İzolasyon	35
2.3.3. Cins Düzeyinde İdentifikasyon	35
2.3.3.1. Bireysel Morfoloji	35

2.3.3.2. Koloni Morfolojisi	36
2.3.3.3. Polivalan Brucella Antiserumu ile Aglütinasyon	36
2.3.4. Biyokimyasal Testler	36
2.3.4.1. Katalaz Testi	36
2.3.4.2. Üreaz Testi	36
2.3.4.3. Oksidaz Testi	36
2.3.4.4. Hidrojen Sülfür Üretimi	37
2.3.5. Antibiyotikli Besiyerlerinde Üreme Durumu	37
2.3.5.1. Penisilinli Besiyerinde Üreme	37
2.3.5.2. Streptomisinli Besiyerinde Üreme	37
2.3.5.3. İ-Eritritol İçeren Besiyerinde Üreme	38
2.3.6. Boyalı Besiyerlerinde Üreme Durumu	38
2.3.6.1. Tiyonin Varlığında Üreme	38
2.3.6.2. Bazık Fuksin Varlığında Üreme	38
2.3.6.3. Safranin-O Varlığında Üreme	38
3. BULGULAR	40
4.TARTIŞMA	42
5.SONUÇ	46
ÖZET	47
SUMMARY	48
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	57
TEŞEKKÜR	58

KISALTMALAR

- AB : Avrupa Birliği
- ABD : Amerika Birleşik Devletleri
- BP : Biraysel Prevalans
- Bk₂ : Berkeley
- CFT : Komplement Fikzasyon Testi
- CMS : Cenin Mide Sıvısı
- DMS : Dimetil Sülfoksit
- ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- Fi : Firenze
- FTS : Fizyolojik Tuzlu Su
- KRK : Kıbrıs Rum Kesimi
- ME : Merkaptoetanol
- MRT : Süt Ring Testi
- PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
- RIA : Radioimmunoassay
- RBP : Pose Bengal Playt Testi
- SAT : Serum Aglütünasyon Testi
- SC : Deri Altı
- SP : Sürü Prevalansı
- OIE : Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
- Tb : Tibilisi
- Wb : Weybridge

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. Brucella Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri	8
Çizelge 1.2. Brucella Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye, 1975-2005.....	22
Çizelge 2.1. Numune Bilgileri ve Sonuçları.....	39

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. 1. Dünyada insan brusellozisinde türler ve konakçıları	4
Tablo 1.2. 2010 Yılı Sığır Brucella Survey Türkiye Geneli	18
Tablo 1.3. 2010 Yılı Koyun-Keçi Brucella Survey Türkiye Geneli.....	19
Tablo 1.4. Brucella Vaka ve Ölüm Sayıları, Morbidite ve Mortalite Hızları	20

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. İspanya'da aşılama ve başarı verileri	13
Şekil 1.2. Türkiye'de Bruselloz olgularının bölgelere göre dağılımı	21
Şekil 1.3. Bruselloz morbidite hızının en yüksek olduğu il.....	21

1.GİRİŞ

Brucellosis, *Brucella* cinsine ait mikroorganizmaların oluşturduğu, insanlarda ve hayvanlarda genellikle kronik veya subakut seyreden, nekrotik ve yangısal enfeksiyonlara neden olan zoonoz bir hastalıktır. Koyun, keçi, sığır, domuz gibi ekonomik değeri olan evcil hayvanlarda özellikle testis, meme, uterus gibi genital organlara yerleşen etken, yavru atmalarına ve infertiliteye neden olarak büyük boyutlarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Enfekte olan hayvanların süt ve süt ürünleriyle, et ve et ürünleriyle insanlara bulaşması nedeniyle de halk sağlığı açısından da büyük öneme sahiptir (Arda M ve ark, 1997; Arslan A ve ark, 2002; Aytuğ CN ve ark, 1989; İmren HY ve Şahal M, 1991).

Brucella'ların oluşturduğu enfeksiyonlar brucellosis olarak adlandırılrsa da farklı isimleri de bulunmaktadır. Hastalığın Malta Adası'nda ilk olarak tespit edildiği düşünüldüğünden hastalığa "Malta Humması", Akdeniz bölgesinde yaygın olarak görüldüğü için "Akdeniz Humması", insanlarda görülen dalgalı ateşlenmeden dolayı "Dalgalı Ateş", koyunlardan insana bulaşmanın sık olmasından dolayı "Koyun Hastalığı", hayvanlardan insanlara bulaştığı için ise "Mal Hastalığı" gibi isimler almaktadır. (Sözen TH, 1996; Murray RP ve ark, 1990; Koneman WE ve ark, 1992).

Hastalığın ana bulaşma yolu doğum ve abortta şekillenen akıntılar olduğundan, bu hayvanların izole edilmeleri ve atık materyallerin, enfeksiyonun sürünün kalan kısmına, komşu çiftliklere ve insan topluluklarına bulaşmasını önlemek için uygun bir şekilde imhası esastır. Çiftlikler ve içindeki alet ve ekipman hastalığın yayılmasını azaltmak için ayrıca dezenfekte edilmelidir. Kontamine gübre en az 3 ay kullanılmamalıdır (Deyoe BL ve ark, 1979).

İzolasyon ve diğer hijyenik işlemler sıklıkla çok pratik değildir ve hastalığın bulaşmasındaki ilkelere ait bilgilerin yetersiz olduğu kişilerce uygulanması pek olası değildir (Deyoe BL ve ark, 1979).

Saha da çalışan kişiler, insanlara bulaşmayı ve enfeksiyonun hayvandan hayvana ve diğer sürülere pasif olarak geçişini önlemek için, koruyucu giysi giymek ve tüm ekipmanları dezenfekte etmek gibi basit ve temel önlemleri almalıdırlar (Uysal ve Erdenliğ, 2001).

Laboratuvar personeli için infeksiyon riski çok yüksektir. Brusellosis en kolay alınabilen laboratuvar infeksiyonlarından birisidir ve infekte materyaller ve bakteriyel kültürlerle yapılan manipulasyonlarda yeterli güvenlik önlemleri alınmalıdır. Hastalık etkenlerinin çok miktarda olduğu marazi maddelerin incelenmesi, yeterli bir şekilde eğitilmiş personel tarafından güvenlik kabinleri içinde yapılmalıdır. Ancak, serum örnekleri ile yapılan manipulasyonlar neredeyse hiç risk taşımazlar. Benzer önlemler mezbahada çalışan personel tarafından da alınmalıdır (Nicoletti P, 1977).

İnfeksiyona genellikle maruz kalma şanslarının yüksek olduğu tıp doktorları ve veteriner hekim gibi profesyonel kişiler düzenli aralıklarla check-up ve serolojik testlerden geçmelidirler. İnsanların aşılınması, brusellosisin kontrolünde önemli bir rol oynamamaktadır. Bunun da sebebi ciddi yan etkilerin gelişmediği etkili bir aşının henüz geliştirilmemiş olmasıdır. Özel durumlar hariç, insan brusellosisinin kontrolünün, hastalığın hayvanlardaki kontrolünden geçtiği konusunda geniş ölçüde bir fikir birliği mevcuttur (Uysal ve Erdenliğ, 2001).

İnsan tüketimi için pastörize edilmemiş taze süt ve süt ürünlerinin kullanımı dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir. Süt ve süt ürünleri ucuz ve kolay elde edilebilir bir protein kaynağı olarak insan infeksiyonlarının en yaygın kaynağıdır (Deyoe BL ve ark, 1979).

Brusellosisin kontrolü gerek çiftçilikle uğraşan ve gerekse hayvan ürünlerini tüketen halk için oldukça önem taşımaktadır. Hayvancılıkla uğraşan insanları hastalığın kontrol programının avantajları konusunda bilgilendirmek önem teşkil etmektedir (Nicoletti P, 1989).

M.Ö.450 yılında Epidemics adlı eserinde Hippocrates, ilk kez tekrarlanan ateş sonucu 4 ay içerisinde öldürücü olan bir hastalıktan bahsetmiştir. 1751 yılında bir Akdeniz adası olan Minorca'da İngiliz Ordusu'nda hekim olarak görev yapan Cleghorn, Hippocrates'in tanımladığı hastalığa uyan ateşli bir hastalıktan bahsetmiştir. Sir William Burnett (1779-1861), İngiliz ordusu donanmasında görev yapan denizci subaylarda görülen çeşitli ateşleri birbirinden ayıran ilk hekimdir. Bu hastalığın klinik özelliklerini kendi hastalığından yola çıkarak ilk defa 1861 yılında Mısır'da İngiliz Kraliyet kuvvetlerinde çalışan Jeffery Allen Marston (1831-1911) bildirmiştir. Bu hastalık o zaman "Akdeniz Ateşi" olarak bilinmekteydi. Marston, Malta ateşi hakkında detaylı bilgileri belgeleyen ilk kişidir (Hoover DL ve ark; Davis R ve ark).

İngiliz ordusunda hekim olarak görev yapan ve bir mikrobiyolog olan Sir David Bruce (1855-1931), 1887 yılında Malta Adası'nda Malta ateşine neden olan mikroorganizmayı *Micrococcus melitensis* olarak isimlendirmiştir. Bu mikroorganizmayı Malta ateşinden ölmüş bir askerin dalağından izole etmiştir. Mikroorganizmanın yaz aylarında daha çok enfeksiyon yaptığını ve rezervuarının keçiler olduğunu tespit etmiştir. Keçilerin süt, idrar ve kanlarından da mikroorganizmayı izole etmiştir (Baysal B, 1999; Bilgehan H, 2000; Shapiro DS ve ark, 1999; Koneman E, 2006)

1897'de M.L. Hughes, 844 hastada yaptığı çalışmalar sonucunda "Ondülan Ateş" hakkında bir monografi hazırlamıştır. 1897'de Wright, Bruce tarafından tarif edilen mikroorganizmanın hasta serumlarını aglütine ettiğini göstermiştir. Danimarka'lı bir veteriner hekim olan Bernhard Bang (1848-1932); 1897'de ilk kez sığırlarda, atlarda, koyunlarda ve keçilerde düşüğe neden olan mikroorganizmayı *Bacterium abortus* olarak isimlendirmiştir. Mikroorganizmayı doğum yapan sığırların uterus duvarından izole etmiştir. Hastalığa "Bang Ateşi" adı verilmiştir (Hoover DL ve ark; Davis R ve ark; Baysal B, 1999; Bilgehan H, 2000; Shapiro DS ve ark, 1999; Koneman E, 2006).

1906 yılında Zammit, enfekte keçilerden aynı mikroorganizmayı izole etmiş, bu nedenle devlet personeline keçi sütünden yapılmış süt ürünlerinin tüketilmesini yasaklamıştır. 1914 yılında Traum; ABD'nin Indiana eyaletinde prematüre doğan domuz yavrularının karaciğer, mide ve böbreklerinden *Brucella suis*' i izole etmiştir (Baysal B, 1999; Hoover DL ve ark).

1920 yılında Amerika'lı bakteriyolog olan Alice Evans; Bang'in ve Sir David Bruce'un isimlendirdiği türlerin aslında hemen hemen aynı özelliklere sahip olduğunu bulmuştur. Günümüzde artık bu mikroorganizmaların ait olduğu cins Bruce'a ithafen *Brucella* olarak isimlendirilmektedir. 1920 yılında Meyer ve Shaw; daha önce tanımlanan türleri *Brucella* cinsi altında toplamıştır. Huddleson ve Abell; bu bakterilerin H₂S üretme aktivitelerini, tiyonin ve fuksin boyalarına duyarlılıklarını araştırmışlardır (Shapiro DS ve ark, 1999).

Buddle (1953) ve Boyes (1956) tarafından Yeni Zelanda'da koçlardan *B. ovis*, 1968 yılında, Carmichael ve Bruner tarafından köpeklerden *Brucella canis* izole edilmiştir. *Brucella neotomae*; 1957 yılında Stoenner ve Lacman tarafından Utah'da çöl farelerinde izole edilmiştir. Rusya ve Alaska'da ren geyiklerinden *Brucella rangiferi* izole edilmiştir (Baysal B, 1999; Bilgehan H, 2000; Shapiro DS ve ark, 1999).

Türkiye'de insanlarda ilk kez 1915 yılında Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi edilen bir askerde tespit edilmiştir. Koyunlarda *B.melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında Bandırma merinos çiftliğinde saptanmıştır. (Tarım Bakanlığı Brusellosis ve Tüberkülozis Şubesi, Ankara, 1965). Ülkemizde sığırlarda ilk izolasyon 1931-32 yıllarında Berke tarafından bildirilmiştir. Yine Türkiye'de insan ve hayvanlarda brucellanın serolojik yöntemlerle saptanması Golem tarafından 1943 yılında bildirilmiştir (Golem SB, 1943). Ayrıca ülkemizde *Brucella canis* enfeksiyonunun serolojik olarak ilk teşhisi 1984 yılında Diker, İstanbulluoğlu ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir (Diker S ve ark, 1984).

Hayvanlarda brusellosis daha çok evcil hayvanlarda görülmektedir. Üç klasik tür olan *B.melitensis*, *B.abortus* ve *B.suis*' in tercih ettiği primer konakçıları varsa da diğer konakçı türlerinde de hastalık oluşturabilir. *B.ovis*, *B.canis* ve *B.neotomae* 'nin infekte ettiği konakçı türleri primer konakçıların dışında daha dardır (Hagan W 1973; Meyer ME 1990). İnsanlar üç klasik türle infekte olurlarsa da dünya genelinde olguların çoğundan en invaziv ve patojenik tür olan *B.meitensis* sorumludur (Gotuzzo E, Carrillo C 1998) (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Dünyada insan brusellozisinde türler ve konakçıları (Gotuzzo E, Carrillo C 1998)

Tür	Konakçı	Diğer konakçı	İnsanlarda Görülme Sıklığı
<i>B.melitensis</i>	Koyun, keçi	Sığır	++++ (olguların % 70'i)
<i>B.abortus</i>	Sığır, manda	At	+++ (olguların % 25'i)
<i>B.suis</i>	Domuz, kurt	Sığır	++ (olguların % 5'i).

B.abortus'un sebep olduğu ve Bang ya da sığırların yavru atma hastalığı olarak bilinen sığır brusellozu dünyanın pek çok ülkesinde yaygın bir şekilde görülür. Güney Avrupa ve Batı Asya'daki bazı ülkeler gibi sığırların koyun ve keçilerle yakın olarak tutuldukları yerlerde enfeksiyon *B.meitensis* tarafından da oluşturulabilir, *B.suis* nadiren sığırlarda enfeksiyon oluşturur (OIE Paris 1990).

Brusellosis'in önlenmesi ve kontrol stratejisi, enfeksiyonun patogenezi ve epidemiyolojisine dayanmaktadır. *Brucella* spp. evcil ve yabani birçok hayvan türünü etkiler. Başlıca ekonomik etkisi sığır, koyun ve keçiler üzerine olup bu türlerde hastalığın belirtileri benzerdir. Dişi hayvanlarda başlıca semptom abortustur. Genellikle atık yapan

hayvanlar bir daha atık yapmaz. Bazı hayvanlarda asemptomatik infeksiyon görülebilir. Asemptomatik hayvanlar sürüde infeksiyonun devamı ve yetiştiriciler tarafından test sonuçlarının şüphyle karşılanmasına yol açarak hastalığın kontrolünü güçleştirirler. Duyarlılık yaş, cinsiyet, ırk, alınan mikroorganizma miktarı, gebelik durumu ve mikroorganizmanın virülensi ile ilişkilidir. Ergin hayvanlarda bulaşma hemen hemen tamamıyla sindirim sistemi yoluyla olmaktadır. Erkekler bulaşmada hiç yada çok az rol oynarlar (*Brucella ovis* ve *Brucella suis* hariç). Koyunlar keçilerden daha çabuk iyileşirler. Koyunlar ortalama 6 ay içinde infeksiyondan doğal olarak ari olmaya bir eğilim göstermesine rağmen yaklaşık %20'si daha uzun süre taşıyıcı olabilir. Keçiler genellikle yaşam boyu infekte kalırlar. Sığırlarda meme ve memeüstü lenf yumrularında kalıcı infeksiyon sıklıkla görülür. Ancak bazı sığır ve keçiler iyileşebilir (İyisan A.S., Akmaz Ö., Düzgün S ve ark 2000 ; Tarım Bakanlığı Brusellosis ve Tüberkülozis Şubesi, Ankara 1965).

Brucella melitensis'in *Brucella* türleri içinde insan için en patojenik tür olması ve kırsal kesimde insanların bu hayvanlarla yakın temasta olmaları nedeniyle koyun brusellosisi ülkemizde insan sağlığına olumsuz etkisi bakımından daha büyük öneme sahiptir. *Brucella* infeksiyonunun insanlara bulaşması ve bir ülkede yaygınlığı yerel yemek alışkanlıkları, süt ve süt mamullerini işleme yöntemleri, sosyal örf ve adetlere, kişisel ve çevre sağlığı standartları ile ilişkilidir. İnsanlarda Brusellosis'in önlenmesi hastalığın hayvanlarda kontrol ve eradikasyonuna bağlıdır (İyisan S., Akmaz Ö., Düzgün S ve ark 2000 ; Meyer ME 1990).

Brucella'lar ortalama 0.5 - 0.7 µm çapında, 0.6 - 1.5 µm uzunluğunda ve daha çok ikiyeşerli, uçuca duran kok, kokobasil veya kısa çomakçıklardır ve bu durumları ile diplokoklara benzerler. Bazen sıvı besiyerlerinde 3-5'li zincirler yapabilirler. Her ne kadar bu üç tür arasında görünüm yönünden farklılıklar kaydedilmiş ise de pratik olarak bu yönleri ile birbirlerinden ayırmak olanaksızdır (Bilgehan H, 2000; Sümerkan B, 2002; Baysal B, 1999; Yıldırıncı G, 1999; Arda M ve ark, 1992).

Hareketsiz, kirpiksiz ve sporsuzdurlar. Küçük olduklarından moleküler hareket nedeni ile yerlerinde titreşirler (Braunien hareket). Organizmadan yeni ayrıldıkları zaman S tipi kolonilerde ince bir kapsüllerinin bulunduğu, yapılan pasajlarda ve R koloni şekillerinde bu kapsüllerinin kaybolduğu saptanır (Bilgehan H, 2000; Sümerkan B, 2002; Baysal B, 1999; Yıldırıncı G, 1999; Arda M ve ark, 1992; Chu MC ve Weyant RS 2003).

Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram olumsuzdurlar. Çomakçık şeklinde olanlar bazen düzensiz boyanma özelliği gösterirler. Kapsülleri yoktur ve endospor oluşturmazlar (Bilgehan H, 2000; Arda M ve ark, 1992; Baysal B, 1999; Chu MC ve Weyant RS 2003; Renner DE ve Hausler JW 1980).

Brucella grubu mikroorganizmalar genellikle konakçı hayvan dışında çoğalamazlar. Fakat ortamın ısı, nem ve asitlik değerlerine bağlı olarak değişik sürelerde canlılıklarını sürdürürler. *Brucella* mikroorganizmaları direkt güneş ışığı, dezenfektanlar, pastörizasyon ve kuru şartlara duyarlıdır. Etkenler pastörizasyon ısında 10-15 dakikada ölürler. Güneş görmeyen topraklarda 50-70 gün, suda 15 gün, buzlukta 3-5 ay, sütte birkaç gün, dondurmada 1 ay canlı kalabilirler (Arslan A, 2002). Güneş ışığında 1-12 saatte, 60 °C' de 10 dakikada, 100 °C' de hemen ölürler. Çeşme suyunda 4-8 °C' de birkaç ay, 0 °C' de 2,5 yıl, dondurulmuş dokularda birkaç yıl, nemli toprakta 60 gün ve 20 °C' de %39 nemli ortamda 144 gün canlı kalabilirler. İdrarda 30 gün, atık fötuslarda en az 75 gün ve uterus akıntılarında 200 günden fazla canlı kalabilir. Enfekte dışkı materyali ile bulaşık altlıkta 56-61 °C' lerde 4.5 saatte tahrip olur. Çiğ süttten yapılan tuzsuz krema yağında buzdolabında 142 gün, % 10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün %10 tuz içerende ise 1 ay canlı kalır. Etin normal dinlendirilmesi sürecinde oluşan pH değişikliği (asitlik) ette bulunabilecek *brucella* mikroorganizmalarını öldürmeye yeterlidir. Etkenler %0.12' lik süblime de birkaç dakikada , %2' lik formol , % 1'lik lizol içinde 15 dakikada ölürler (Arda M ve ark, 1997; Taşçı F, 2004).

Uygun katı besiyerinde *Brucella* kolonileri 2 günlük inkübasyon sonrasında görülebilir duruma gelmektedirler. Koloniler maksimum büyüklüğe 5- 7 gün içinde erişirler ve bu süre sonunda 1- 2 mm çapta, smooth, saydam ve bal rengi konveks *Brucella* kolonileri oluşur. Kolonilere üstten bakıldığında konveks olup, parlak beyaz görünürler. Daha sonra koloniler genişlemekte ve daha koyu hale gelmektedirler (Quinn PJ ve ark, 2000). Smooth (S) *Brucella spp.* kültürleri, özellikle *B. melitensis* kültürü, subkültürlerinde rough (R) formuna veya kimi zamanda mukoid (M) formuna dissosiyeye olmaya eğilimlidirler. Sonrasında koloniler daha az saydam, daha fazla granuler, donuk yüzeyli (R) veya yapışkan tekstürde (M), yansıyan ışıkta mat beyazdan kahverengiye doğru değişen koloni rengi oluşturmaktadırlar. S, R ve M formları arasında dissosiyeye olmuş kültürlerde intermediate formlar şekillenmektedir. Koloni morfolojisinde, genelde virulensdeki değişiklikler, serolojik özellikleri ve faj sensitivitesine bağlı olarak değişimler görülebilmektedir (Anonim, 6).

Smooth Brucella suşları ile E.coli O:116, O:157, Kaufmann-White'ın Salmonella grubu N (0:30), Pseudomonas multophila, Vibrio cholera ve özellikle Yersinia enterocolitica O:9 gibi çeşitli Gram negatif bakteriler arasında serolojik olarak kros reaksiyonlar olduğu bilinmektedir. Bu organizmalar, tanı testlerinde *Brucella spp*'nin S-LPS antijenleriyle kros reaksiyon vererek yanlış pozitiveye neden olmaktadır (Timoney JF ve ark, 1988; Quinn PJ ve ark, 2000).

Organik kükürtlü bileşikler parçalamada *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis* H₂S oluşturur. *B. suis* en uzun süre (3-5gün) ve en fazla miktarda, *B. abortus* orta süre (2 gün) ve miktarda, *B. melitensis* ise en az süre (1 gün) ve miktarda kükürtlü hidrojen yapar (Bilgehan H, 2000).

Brucella türleri üremeleri için CO₂ gereksinimleri, üreaz ve H₂S üretimi, bazik fuksin ve tiyonin ve tiyonin mavisi boyalarına duyarlılıkları türlere göre değişir. Boya duyarlılıkları biyovarlara ayırımında kullanılır. Besiyerlerine belli konsantrasyonlarda konulan thionin, bazik fuksin, kristal viyole ve pironin gibi maddeler karşısında *B. melitensis* inhibisyona uğramadan ürer. *B. abortus* yalnız thionin tarafından inhibe olur. *B. suis* ise thionin dışındaki bazik fuksin, kristal viyole, pironin tarafından inhibe edildiği halde thioninden etkilenmeyerek üremesini sürdürür. Ayrıca inozitol, mannoz, ramnoz ve trehaloz gibi karbonhidratları fermente etme bakımından da türler arasında ayrılıklar görülmektedir (Bilgehan H, 2000).

B. abortus ve *B. suis* biyokimyasal ve serolojik farklılıklarına göre biyovarlara ayrılırken *B. melitensis* serolojik özelliklerine göre biyovarlara ayrılır. *B. melitensis* bazik fuksin, tiyonin ve tiyonin mavisi boyalarına dirençlidir. *B.melitensis*, *B.suis* ve *B. abortus* yoğun inokülümelerde üreaz pozitifken *B. suis* 5 dakika içerisinde üreaz üretirler. Ayrıca cins spesifik monoklonal antikor kullanılarak uygulanan koagülünasyon yöntemleri ile *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis*'e ait A ve M antijenleri saptanabilir (Bilgehan H, 2000; Baysal B, 1999; Shapiro DS ve ark, 1999; Koneman E ve ark, 2006; Stack J, 2006).

Ayrıca bu etkenlerin tiplendirilmesinde bakteriyofajlara duyarlılıkları da önemli bir kriterdir. Tiplendirmede Weybridge (Wb), Tbilisi (Tb), Berkeley (Bk₂), Firenze (Fi) fajlarından yararlanır (Stack J, 2006).

Tür	Biyovar	CO ₂	H ₂ S	Üreaz	Boyalarda Üreme					Aglütinasyon			Tb fajı erime		Konak
					Thionin			Fuksin		Anti A	Anti M	Anti R	RTD	10.000xRTD	
					a	b	c	b	c						
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	D	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Koyun Keçi İnsan
	2	-	-	D	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
	3	-	-	D	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
<i>B. abortus</i>	1	+, -	+	1-2 h	-	-	-	+	+	+++	-	-	++	++	Sığır İnsan
	2	+	+	1-2 h	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	
	3	+, -	+	1-2 h	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	4	+, -	+	1-2 h	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	
	5	-	-	1-2 h	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
	6	-	-+	1-2 h	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	7	-	-+	1-2 h	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
	8	+	-	1-2 h	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
	9	+, -	+	1-2 h	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
<i>B. suis</i>	1	-	++	0-30 dk	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	Domuz
	2	-	-	0-30 dk	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	Domuz
	3	-	-	0-30 dk	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	Domuz, İnsan
	4	-	-	0-30 dk	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Ren geyikleri
<i>B. neotomae</i>	1	-	+	0-30 dk	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	Neotoma lepida
<i>B. ovis</i>	1	+	-	0	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	Koç
<i>B. canis</i>	1	-	-	0-30 dk	+	+	+	-	±	-	-	+	-	-	Köpek, insan

a: 1/25.000 b :1/50.000 c:1/100.000 A: Mono spesifik abortus serumu, M: Mono spesifik melitensis serumu R: anti R *Brucella* serumu, Tb : Tbilisi , RTD : Rutin test dilüsyonu -Boya deneyleri, Trypticase Soy Agar veya Tryptose Agar'da yapılmıştır.

Çizelge 1.1. *Brucella* türlerinin ayırt edici özellikleri (Dubos JR, 1965)

1.1. *Brucella* Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri

1.1.1. *Brucella abortus* [(Schmidt & Weis, 1901) Meyer & Shaw 1920]

B. abortus öncelikle sığırları enfekte etmekle beraber bufalolar, develer, geyikler, köpekler, atlar, koyunlar ve insanları da enfekte eder. Katalaz ve oksidaz pozitifler. İlk izolasyonlarında %10 CO₂'e gereksinim duyarlar. H₂S üretirler. Genelde üreyi hidrolize ederler fakat bazı suşlar üreyi hidrolize etmeyebilir. Bazik fuksin, metil viyole, pyronin, safranin O varlığında ürerler. Thionin varlığında üremezler. Nitratları nitrite indirgerler. S tipi koloniler A, M veya hem A hem M yüzey antijenleri içerebilir. Spesifik

antiserumları aglütine etme özellikleri biyovarlara göre değişir. L-alanine, D-alanine, L-asparagine, L-glutamic acid, D-galactose, D-glucose, D-ribose, ve meso-erythritol'ü okside ederler. D-xylose, L-arginine, DL-citrulline, DL- ornithine ve L-lysine'ini okside etmezler. S tipi kolonileri Tbilisi (Tb), Weybridge (Wb), Firenze (Fz), M51-S708, Berkeley (Bk), MC/75 ve D grubu Brucella fajları ile lize olurlar. S tipi olmayan koloniler ise Brucella R fajı ile lize olur. Yedi biyovarı vardır. Biyovarlar için referans suşlar şunlardır (Stack J, 2006) ;

Biyovar	Referans sus
Biyovar 1	Brucella abortus <u>544</u>
Biyovar 2	Brucella abortus <u>86/8/59</u>
Biyovar 3	Brucella abortus <u>Tulya</u>
Biyovar 4	Brucella abortus <u>292</u>
Biyovar 5	Brucella abortus <u>B3196</u>
Biyovar 6	Brucella abortus <u>870</u>
Biyovar 9	Brucella abortus <u>C68</u>

1.1.2. *Brucella melitensis* [(Hughes 1893) Meyer & Shaw 1920]

B.melitensis çoğunlukla koyun ve keçilerde hastalık oluşturur fakat sığırları da enfekte edebilir. İnsanlar için en tehlikeli Brucella türüdür. Katalaz ve oksidaz pozitifler. Üremeleri için CO₂' e gereksinim duymazlar. H₂S üretmezler. Çoğunlukla üreyi hidrolize ederler fakat bazı suşları üreyi hidrolize etmeyebilir. Bazik fuksin, thiyonin, metil viyole, pironin, ve tiyonin mavisi boyları varlığında ürerler. Nitratları nitrite indirgerler. S tipi kolonileri monospesifik antiserumlarla M, A veya her iki yüzey antijenleri ile aglütinasyon reaksiyonu verirler. D-glucose, meso-erythritol, L-alanine, D-alanine, L-asparagine ve L-glutamic asidii okside ederler. L-arabinose ve L-lysine'i okside etmezler. S tipi kolonileri Bk fajına duyarlıdır fakat Wb, Tb, Wb, Fz, M51-S708, MC/75, D ve R grubu fajlarla lize olmazlar. S tipi olmayan koloniler bütün fajlara dirençlidir. Üç biyovarı vardır. Biyovarlar için referans suşlar şunlardır (Stack J, 2006);

Biyovar	Referans suş
<u>Biyovar 1</u>	Brucella melitensis <u>16M</u>
<u>Biyovar 2</u>	Brucella melitensis <u>63/9</u>
<u>Biyovar 3</u>	Brucella melitensis <u>Ether</u>

1.1.3. *Brucella suis* (Huddleson 1929):

B. suis diğer *Brucella* türlerine kıyasla konak yelpazesi daha geniş bir türdür. 5 biyovarı vardır. *B. suis* biyovar 2 ve 3 en çok domuzları enfekte ederken, *B. abortus* biyovar 4 ren geyiklerini ve vahşi karibuları, *B. suis* biyovar 5 ise kemiricileri enfekte eder. Biyovar 2 hariç bütün biyovarlar insanları enfekte eder. Katalaz ve oksidaz pozitifler. Üremeleri için CO₂' e gereksinim duymazlar. Biyovar 1 çok miktarda H₂S üretirken diğer biyovarlar üretmezler. Üreyi çok hızlı hidrolize ederler. Tiyonin varlığında ürerler fakat bazik fuksin, metil viyole, pyronin, safranin O ve malaşit yeşili varlığında üremezler. S tipi kolonilerde biyovar 4 hariç A tipi yüzey antijeni fazladır. Biyovar 4'de eşit miktarda A ve M tipi yüzey antijeni bulunur. D-ribose, D-glucose, meso-erythritol, D-xylose, L-arginine, DL-citrulline, DL-ornithine ve L-lysine'i okside ederler. L-asparagine, L-glutamic acid, L-arabinose ve D-galactose oksidasyonu biyovarlar arasında farklılık gösterir. L-alanine ve D-alanine'ni okside etmezler. S tipi kolonileri Wb, M51-S708, Bk, MC/75 ve D grubu *Brucella* fajları ile lize olur. Fz grubu ve Tb grubu fajlarla belirli bir düzeyde lize olurlar. S tipi olmayan koloniler fajlarla lize olmazlar. Beş biyovarı vardır. Biyovarlar için referans suşlar şunlardır (Stack J, 2006);

Biyovar	Referans sus
Biyovar 1	<i>Brucella suis</i> <u>1330</u>
Biyovar 2	<i>Brucella suis</i> <u>Thomsen</u>
Biyovar 3	<i>Brucella suis</i> <u>686</u>
Biyovar 4	<i>Brucella suis</i> <u>39</u>
Biyovar 5	<i>Brucella suis</i> 513

1.1.4. *Brucella neotomae* (Stoenner & Lackman 1957):

B.neotomae çöl farelerini enfekte eder. Diğer türler ile ilgili vakalara rastlanmamıştır. Katalaz pozitifler. Okzidaz negatifler. Üremeleri için CO₂'e gereksinim duymazlar. H₂S üretirler ve üreyi çabuk hidrolize ederler. Bazik fuksin, tiyonin mavisi ve safranin O varlığında üremezler. Tiyonin varlığında ürerler. Nitratları nitrite indirgerler. S tipi kolonilerinde A tipi yüzey antijeni baskındır. L-asparagine, L- glutamic acid, L-arabinose, D-galactose, D-glucose, meso-erythritol ve and D-xylose' u okside ederler. L-alanine, D-alanine, L-arginine, DL-citrulline, DL-ornithine ve L- lysine'i okside etmezler. D-ribose oksidasyonu değişkendir. Peptonlu besiyerlerinde D- glucose, D-galactose, L-arabinsoe ve D-xylose' u fermente ederler. S tipi kolonileri Wb, M51-S708,

Fz, Bk, MC/75 ve D grubu brucella fajları tarafından lize edilirler. Tb fajı kısmı lize yapar. R tipi ve M tipi koloniler fajlarla lize olmazlar. Biyovarları yoktur. Referans suş *Brucella neotomae* 5K33' dır (Stack J, 2006).

1.1.5. *Brucella ovis* (Buddle 1956):

B. ovis koçlarda epididimit enfeksiyonlarından sorumludur. Dişi koyunlarda düşüklere neden olduğu bildirilmiştir. Keçiler deneysel olarak *B. ovis* ile enfekte edilebilmiştir. Diğer hayvan türlerini ve insanları enfekte etmezler. Katalaz pozitif, oksidaz negatiftirler. Üremeleri için CO₂' e gereksinim duyarlar. H₂S üretmezler. Üreyi hidrolize etmezler. Metil viyole ile inhibe olurlar. Bazik fuksin ve tiyinin varlığında ürerler. Nitratı nitrite indirgeyemezler. S tipi koloni oluşturmazlar. İlk izolasyonda R tipi koloniler yaparlar. Rough (R) spesifik yüzey antijenleri diğer S tipi olmayan brucella antijenleri ile çapraz reaksiyon verir. L-alanine, D-alanine, L-asparagine, D- asparagine, L-glutamic acid, DL-serine ve adonitolü okside ederler. L-arabinose, D- galactose, D-glucose, D-ribose, meso-erythritol, D-xylose, L-arginine, DL-citrulline, DL-ornithine ve L-lysine i okside etmezler. Tb, Wb, M51-S708, Fz, Bk, MC/75, D or R grubu *Brucella* fajları ile lize olmazlar. R/O fajı ile lize olurlar. Biyovarları yoktur. Referans suş *B. ovis* 63/290' dır (Stack J, 2006).

1.1.6. *Brucella canis* (Carmichael & Bruner 1968):

B. canis erkek köpeklerde epididimoorşit, dişi köpeklerde ise düşüklere neden olur. İnsanlarda enfeksiyon yaptığı bildirilmiştir fakat diğer hayvan türlerinde enfeksiyon henüz bildirilmemiştir. Katalaz ve oksidaz pozitifler. Üremeleri için CO₂' e gereksinim duyarlar. H₂S üretmezler. Üreyi çok çabuk hidrolize ederler. Nitratları nitrite indirgerler. Üremeleri bazik fuksin ile inhibe olur. Tiyinin ile inhibe olmaz. S tipi koloniler oluşturmazlar. İlk izolasyonlarında R veya M tipi koloniler oluştururlar. Rough (R) - spesifik yüzey antijenleri diğer S tipi olmayan Brucella antijenleri ile çapraz reaksiyon verir. D-ribose, D-glucose, L-arginine, DL-citrulline, DL-ornithine, L-lysine i okside ederler. Mezo-erythritol oksidasyonu değişkendir. L-alanine, D- alanine, L-asparagine, L-glutamic acid, L-arabinose, D-galactose u okside etmezler. Tb, M51-S708, Wb, Fz, Bk, MC/75, D, R, ve R/O grubu brucella fajları ile lize olmazlar. Biyovaları yoktur. Referans suş *B. canis* RM6/66'dır (Stack J, 2006).

Brucella bakterileri Tüberküloz ve Listeria bakterileri gibi hücre içinde yaşama alışkanlığında olan fakültatif intrasellüler parazittirler (Bilgehan H, 2000; Chu MC ve Weyant RS, 2003; Joklik KW ve ark, 1988). Virülanslarının kaynağı kesin olarak bilinmemektedir. Herhangi bir ekzotoksinleri bulunmamakla birlikte hücre maddelerinin toksik olduğu düşünülmektedir. Bu toksinin barsak bakterilerinin endotoksini ile benzer olduğu ve hastalık oluşumuna yardım ettiği düşünülmektedir (Baysal B, 1999; Mikalich JD ve ark).

Hayvanların fötüs zarlarında bulunan ve erytritrol ismi verilen madde *Brucella*'lar için bir gelişme faktörüdür. Gebe hayvanların *Brucella*'lara karşı duyarlı olmaları bu şekilde izah edilebilmektedir. İnsan plasentasında erytritrol adı verilen madde bulunmadığından *Brucella* enfeksiyonlarına bağlı abortuslara rastlanmadığı bildirilmektedir (Bilgehan H, 2000; Baysal B, 1999; Murray RP, 1990).

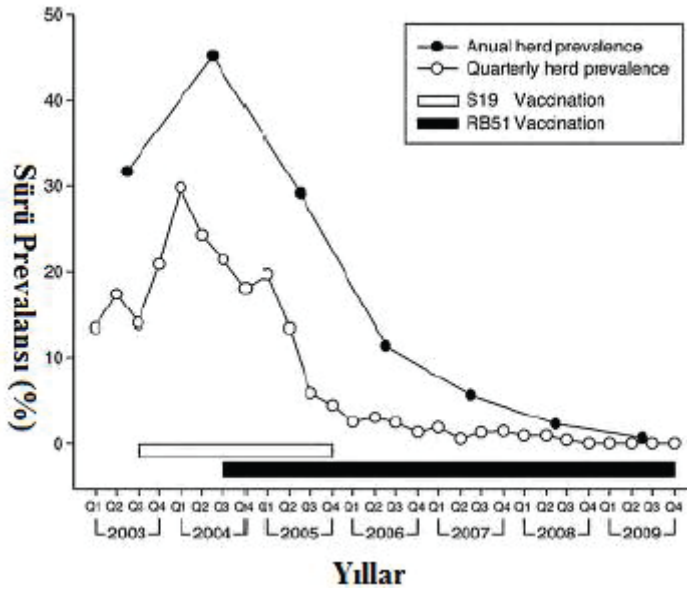
Normal insan serumu bazı brucella türlerine bakterisit etki gösterir ve polimorf nüveli lökositler tarafından fagosite olmaları için opsonize eder. *Brucella*'lar fagosite edildiklerinde fagozomdaki sindirici enzimleri engelleyici etki gösterirler (Bilgehan H, 2000). *Brucella mellitensis* serumun bakterisit etkisine dirençlidir ve bu etkenin diğer türlere göre daha virülan olmasını açıklar. *Brucella*'lar fakültatif hücre içi parazitidirler. Konağın fagositik hücrelerinde canlı kalabilir hatta orada çoğalabilirler. Bakterilerin hücre içinde canlı kalabilmeleri, nötrofillerde miyeloperoksidaz-H₂O₂ sistemini baskılayan, makrofajlarda fagozom - lizozom füzyonunu engelleyen ve oksidatif hasara karşı koruyan bazı maddeler ve enzimler sentez etmelerine bağlıdır (Sümerkan B, 2002; Sağlam M, 1980; Young EJ, 2000).

Sığır brusellosisi birçok ülkede vardır. İnsidensi, ülkeler arasında ve kendi içinde değişik oranlarda değişmektedir. Bazı ülkelerde tam olarak eradike edilmiştir. Hastalık Afrika, Orta Doğu, Orta ve Güney Amerika'da ve gelişmekte olan ülkelerde önemli tehlike oluşturmaktadır. ABD'de yaklaşık 50 yıllık bir eradikasyon çalışmasından sonra, bir eyalet dışında tüm bölgelerden eradike edilmiştir. AB ülkelerinden, Kuzey İrlanda, Yunanistan, İspanya, İtalya ve Portekiz'de ulusal brusellosis eradikasyon projeleri yürütülmektedir. Sığırlarla birlikte koyun-keçi yetiştiriciliği yapılan ülkelerde sığırlarda *B. melitensis*'e bağlı brusellosis görülebilmektedir (Alvarez ve ark 2010).

1.2. Brucellosis'in Akdeniz Ülkelerindeki Durumu ve Eradikasyon Programları

1.2.1. İspanya

Sığır brusellosisi kontrol ve eradikasyon programı anlamında etkin mücadele çalışmaları 1990'ların ortalarından (süt ineklerinde ve besi hayvanlarında) itibaren başlamıştır. 1986 da ülkesel prevalans % 6.59 iken 1997 de %2,58' e düşürülmüştür. Bunun üzerine planda bazı -ek epidemiyolojik çalışmalar yapılmadan aşılamanın yasaklanması gibi- değişikliklere gidilmiş, ancak 2001 yılından itibaren özellikle ekstensif yetiştirilen besi hayvanlarının sürü prevalansı (SP) nda önemli artışlar görülmüştür. İspanya'nın kuzeyinde ve batısındaki işletmelerde salgınların merkezi durumundaki bölgelere RB51 aşısı ile yaygın aşılama, çevre bölgelere ise ring aşılama uygulama yaparak 2003-2004 te SP %30-47 iken 2009 yılında % 0'a, BP % 0.05 'e indirilmiştir. Başarıda hayvan hareketlerindeki sıkı kontroller ve biyogüvenlik tedbirleri ile etkin ve hızlı tanı



sistemlerini kullanılmasının ve yaygın aşılama uygulamaları ile en önemlisi bunları sağlamadaki paydaşlar arası işbirliği ile sürekli durum analizlerinin yönetimi etkili olmuştur (Sanz ve ark 2010). İspanya AB destekli, koyun keçi brusellosisi eradikasyon planı da uygulamaktadır (Spain 2007).

Şekil 1.1. İspanya'da aşılama ve başarı verileri (Sanz ve ark 2010).

1.2.2. İsrail

İsrail'de *B.abortus* 1985'te resmi olarak eradike edilmiştir. Veteriner servis, 2-6 aylık dişi buzağuların SC yolla S19 aşılanmasını ve aynı zamanda sörvelansı sürdürmüşlerdir. 1988'de sporadik olarak sütçü işletmelerde *B.melitensis* biyotip 3 tespit edilmiş, diğer işletmelere yayılmaya başlamış ve 1988-1993 yıllarında *B.melitensis* biyotip 1 daha baskın olmaya başlamıştır. Sığırlarda eradikasyon faaliyetleri test ve kesim ile sürdürülürken, çevredeki kuzu ve oğlaklara Rev-1 aşılması yapılarak sürdürülmüştür (Re-fai ve ark 2002, WHO 1998).

1.2.3. İtalya

1992 yılından beri Brusellosis eradikasyon çalışmalarını sürdüren İtalya’da, OBF (resmi olarak brusellosisten ari) sürülerde senede bir kere, diğer sürüler ise senede 2 kere serolojik testlerle brusellosis yönünden taranmaktadır. 2005-2007 yıllarındaki koyun keçi verilerine göre 20 bölgede sürülerin % 90-94 taranmıştır. Pozitif bulunan hayvan oranları, 2005 yılında % 2.99, 2006 yılında % 2.16 ve 2007 yılında % 2.06’dır. Sicilya adasında ise 2003 yılında hayvanların % 9 u pozitif iken 2007 yılında % 6 sı pozitifdir (Italy, 2007). Klinik olarak brusellosis görülmemekle birlikte serolojik olarak brusellosis pozitifdir (OIE WAHID 2009).

1.2.4. Kıbrıs

Kıbrıs Rum Kesimi (KRK) nde, 1973 - 1985 yıllarında, aşı kullanmadan 13 yıl süreyle test ve kesim yapılarak uygulanan başarılı bir eradikasyon programı (WHO 1998) sonunda sığır brusellosisinin eradike edildiği, 1998 yılına kadar hastalığın görülmediği, 1998-2000’li yıllarda hastalığın tekrar görülmeye başladığı, 2001’de tekrar eradikasyon projesi başlatıldığı ve 2007 yılı sonu itibarı ile toplam 330 sürüde 38950 sığır bulunan KRK’de sığır brusellosisin eradike edildiği, toplam 3439 sürü ve 570829 koyun-keçiden oluşan küçük baş brusellozunun ise 2000 yılından itibaren arttığı, 2004’te prevalansın % 7 ‘ye kadar çıktığı ve nihayet 2007 yılı sonu itibarı ile % 0.1 olduğu rapor edilmiştir (Cyprus Report, 2009). Kıbrıs Türk Kesiminde (KKTC), OIE’ye resmi brusellosis bildirimini olmamakla beraber, Tarım ve Doğal Kaynaklar Bakanlığı için, AB kaynaklı “Hayvancılık Projesi” kapsamında hem sığırlar hem de koyun-keçiler için brusellosis kontrol ve eradikasyon planları hazırlanmıştır (Erganiş ve ark 2009a, Erganiş ve ark 2009b).

1.2.5. Mısır

Mısır’da sığır, buffalo, koyun, keçi, deve, domuz, at, eşek ve katırlarda brusellosis endemik olup, enfeksiyondan sorumlu en yaygın brucella etkenleri; *B. melitensis*, *B. suis* ve *B. abortus*’tur. At-merkep-katır brusellosisinin, insan ve diğer hayvanlara brusellaların bulaşmasında potansiyel kaynak olabileceği ileri sürülmektedir. Tesadüfi örnekleme yöntemi ile yapılan bir serosörvey çalışmasında, atların % 5.88’i, eşeklerin % 20.61 ve katırların %71.42’si pozitif bulunmuştur. Kontrol programı stratejisi, genç hayvanların (koyun keçi, buzağı, manda) aşılınması ile test ve kesim temeline dayanmaktadır. 6 ayın üzerindeki tüm hayvanlar, her 6 ayda bir serolojik olarak test edilmektedir. Pozitif veya şüpheli hayvanlar kesilmektedir. Lokal veteriner servis hayvan sahiplerine tazminat

ödemektedir. Enfekte çiftlikler veya sürüler karantinaya alınmakta, periyodik olarak dezenfekte edilmektedir. Her 3 haftada bir serolojik olarak test uygulanmakta, üst üste 3 kere negatif bulunan sürüler, hastalıktan ari olarak deklare edilmektedir. Genç hayvanlar, aşılama öncesinde serolojik olarak test edilmektedir. Bu kontrolle sırasında enfekte/reaktör olarak tespit edilenler de mevcut yasalara göre tazminatlı olarak kesilmektedir. Sağlıklı buzağı ve manda yavruları 3-7 aylık yaşta S-19 aşısıyla, sağlıklı kuzu ve oğlaklar ise 3-6 aylık iken Rev.1 aşısı ile aşılanmaktadır. (Banai 2002, WHO 1999).

1.2.6. Portekiz

Koyun-Keçi Brusellosisi eradikasyonuna 1998 yılında başlanmıştır. 1998 yılında 3.166.508 hayvanın 3.152.983 ünü serolojik kontrolden geçirilmiş ve 85.920 hayvan seropozitif (BP %2.73) bulunmuştur. Aynı yıl 79.285 sürüden 7.831'i (SP % 8.76) brusella pozitif olarak rapor edilmiştir. 2001-2004 yıllarında genç ve ergin hayvanlara konjunktival yolla yaygın Rev-1 aşılması yapılmış, sonraki yıllarda sadece gençler aşılanmıştır. 2007 yılında SP % 1.6 ya, BP ise % 0.52 ye düşürülmüştür (Portugal 2007). Portekiz'de, Azor adalarında 2002-2007 yılları arasında *B. abortus* RB51 aşılması ile birlikte test ve kesim uygulanarak 5 yıllık bir sürede sığır busellosisi eradikasyonu hedeflenmiştir (Martin ve ark 2009).

1.2.7. Suriye

Ülkede Brusellosis endemik olup, hayvanlarda yaygın olduğundan insan vakaları da artmaktadır (1993 te 1391, 1997 de 6991). 1989 da RBP ve CFT testleri kullanılarak random sample yöntemle toplanan hayvan örnekleri ile yapılan bir sörvey çalışmasında, sığırlarda % 2,86 (12554 hayvan), köy sığırlarında % 7,83 (1827), koyun ve keçilerde %1,81 (26755 hayvan) bulunmuştur.1995 yılında, Rev 1 ve S19 aşılama temelli, 15-20 yılda tamamlanması beklenen bir “ulusal brusellosis eradikasyon planı” hazırlanmış, kaynak bulunamadığından başlatılamamıştır. Bu sebeple, Brusellosis kontrol çalışmaları, standart koruyucu tedbirlerle (karantina, sütlere ısı işlem, abortlarda fetus ve plasenta vs imhası gibi) sürdürüldüğü rapor edilmiştir (WHO 1999).

1.2.8. Yunanistan

Aşı kullanmaksızın, test ve kesim uygulaması ile 1975-1992 yıllarındaki çalışmalarla adalardan hastalığı eradike etmiştir. Yarımadadan adalara hayvan girişini yasaklamıştır. Sadece aşılama uyguladığı yarımadada, test ve kesim uygulamadan enfeksiyonu oldukça azaltmasına rağmen tümünden eradike edememiştir. 1995'te insan brusellosis (*B.melitensis*) vakalarındaki artışlardan sonra yaygın aşılama uygulamaya başlamış, % 30'luk aşılama oranlarına ulaştıktan sonra insan vakalarında belirgin azalma gözlenmeye başlamıştır (Jelastopulu ve ark 2000, Minas ve ark 2004, Taleski ve ark 2002). 2004'te % 5 olan sürü prevalansı, 2007 de % 3.04'e gerilemiştir. Yunanistan'da, *B. melitensis*'in baskın olduğu alanlarda, sığırlara Rev-1 aşısı kullanılmıştır (EU 2003).

1.2.9. Makedonya

İnsanlarda, 1945-1979 yılları arasında 45 vaka bildirim olurken, son yıllarda artış göstermiş ve 1992 yılı brusellosis 44.2/100.000 (907 vaka) ile en yüksek yıl olmuştur. Bu durum koyun-keçi brusellosisinin artışı ile oldukça ilişkili bulunmuştur. Makedonya'da insan brusellosis vakalarının mevsimsel (Kasım Ayı'nda % 1.7 iken Mayıs Ayı'nda %17.9 Haziran Ayı'nda %16.5) olduğu rapor edilmiştir. Hayvanlarda, 2001 yılında 914 köyden toplam 663350 koyun test edilmiş, 134 köyde (sürü prevalansı-SP % 14.66) ve toplam 3938 koyunda (bireysel prevalans-BP %0.56) brusellosis tespit edilmiştir. Keçilerde ise, 2001 yılında SP % 9.01, BP %1.22, sığırlarda ise SP % 5.6, BP %0.3, bildirilmiştir (Taleski ve ark 2002). İzole edilenler genellikle *B. melitensis* biyotip 2 ve biyotip 3 olarak tanımlanmıştır. 1998 yılına kadar Sağlık Kurumlarındaki uygulamalardan dolayı bildirim yapılmamış ve eradikasyon çalışmalarında başarı elde edilememiştir. Makedonya, aşılama yapmadan, test ve kesim stratejisi uygulamaktadır. Tüm hayvanların sağlık kontrolleri yapılarak eradikasyon çalışmalarını sürdürmektedir (Taleski ve ark 2002).

1.2.10. Bulgaristan

1941 yılından beri Brusellosis'ten ari olarak bilinmektedir (OIE WAHID 2010). 1996-2001 yıllarında sadece 2 insanda brusellosis rapor edilmiştir. Yoğun olarak yaban domuzu ve sokak köpekleri bulunan bazı bölgelerde *B. suis* biyotip 2 ve *B. canis* izole edilmiştir (Taleski ve ark 2002). 2006 yılında Türkiye sınırındaki 3 köyde toplam 5 keçi 3 sığır ve 1 eşekte brusellosis tespit edilmiş ve itlaf edilerek kontrol ve eradikasyona çalışılmıştır. Bulaşma kaynağı olarak komşu ilkelere yapılan kaçak hayvan ticareti olabileceği ileri sürülmüştür (Bulgaria 2007).

1.2.11. Hırvatistan

Hırvatistan 1961 den 1990 a kadar brusellosisten arı idi. 1990 yılından itibaren ilk olarak koyunlarda *B. melitensis* salgını görülmüş, sonra keçilerde (*B. melitensis* ve *B.suis*) ve domuzlarda (*B.suis*) görülmüş ve insan vakalarında da önemli artışlar gözlenmiştir. Keçiler ile domuzlardaki brusellosis artışının yaban domuzlarından kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Taleski ve ark 2002).

1.2.12. Sırbistan

1996-1999 yıllarında 578 koyun ve keçide, 5 sığırdı, 111 domuzda, 5 köpekte ve 5 eşekte Brusellosis tespit edilmiştir. 1996 yılında, veteriner ve medikal kontroller, finans, mevzuat, gibi tüm katılımcıların etkili katılımı ile -aşılamsızın- 10 yıllık bir kontrol ve eradikasyon planı başlatılmıştır (Taleski ve ark 2002).

1.2.13. Türkiye

Türkiye’de, ulusal brusellosis kontrol ve eradikasyon programını 1984 yılında başlatmıştır. Program uygulama ve başarı 26 yıl üzerinden planlanmıştır. Gerçekleştirilecek planın stratejisi, 4-8 aylık yaştaki tüm dişi buzağların S-19, kuzu ve oğlakların Rev-1 ile aşılması üzerine kurulmuştur. Tazminatlı test ve kesim planlanmamıştır. 1989 yılında brusellosisi prevalansı sığırlarda ve koyun-keçilerde sırası ile %3,56 ve %1,26 iken, 1990’da, %1,2 ve %2.02, 1991 de %1.01, %1,83 bulunmuştur. 1998’de sığırlar için %1.43, koyunlar için % 1.97 dir. Brusellosis’in sürü prevalansı sığırlarda % 11.4, koyun-keçilerde ise % 15’tir (İyisan 2006, WHO 1999). Türkiye’nin 6.3.2009 tarihinde, OIE’ye gönderdiği verilere göre, 675 odakta 1854 vakada, sığır brusellosisi çıkmış, 1827 kesim, 21 ölüm ve 6 imha yapılmış; 2866 ring aşılama uygulanmış ve toplam 297044 hayvan aşılanmıştır. Türkiye, Nisan 2009 tarihinde yayımladığı sığır brusellosisi yönetmeliğine göre; isteğe bağlı arılık çalışmalarını yürütmekte, hastalık çıkışlarında tazminatlı kesim uygulamaktadır.

Türkiye’de tüm ülke genelinde 2010 yılında yapılan Brucella sero-surveyine göre sığırlarda sürü prevalansı %7.8 (fert prevalansı %2,7) ve koyunlarda sürü prevalansı %22.5 (fert prevalansı %3.4) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen son verilerin ışığı altında Brucella hastalığı ile mücadelede kitle aşılması etkili tek yöntemdir.(Türkiye-Hollanda Ortak Projesi “Türkiye’de Brucelloz ve Tüberkülozun Kontrol Stratejisinin Belirlenmesi Projesi” Haziran 2011 Ref:G2609/TR/9/3) (Tablo2 ve Tablo 3)

SIRA NO	İL	İŞLETME SAYISI	İŞLETME		SERUM SAYISI	%
			+	-		
1	ADANA	35	34	2,9	167	0,6
2	ADYAMAN	42	39	7,1	173	4,6
3	AFYON	42	42	0,0	164	0,0
4	AĞRI	40	34	15,0	172	6,4
5	AKSARAY	39	32	17,9	185	17,3
6	AMASYA	40	33	17,5	225	4,4
7	ANKARA	47	45	4,3	247	0,8
8	ANTALYA	39	37	5,1	183	3,3
9	ARDAHAN	40	27	32,5	330	5,5
10	ARTVIN	37	37	0,0	146	0,0
11	AYDIN	40	40	0,0	172	0,0
12	BALIKESİR	40	39	2,5	220	0,5
13	BARTIN	45	45	0,0	148	0,0
14	BATMAN	37	33	10,8	265	2,3
15	BAYBURT	40	31	22,5	189	7,4
16	BİLECİK	40	39	2,5	234	0,4
17	BİNGÖL	39	36	7,7	300	2,0
18	BITLİS	57	53	7,0	186	1,6
19	BOLU	39	38	2,6	184	0,5
20	BURDUR	39	36	7,7	238	1,3
21	BURSA	39	38	2,6	167	0,6
22	ÇANAKKALE	40	38	5,0	228	0,9
23	ÇANKIRI	45	36	20,0	280	5,4
24	ÇORUM	39	35	10,3	180	6,1
25	DENİZLİ	39	35	10,3	207	2,9
26	DIYARBAKIR	39	38	2,6	151	1,3
27	DÜZCE	40	40	0,0	101	0,0
28	EDİRNE	41	40	2,4	191	0,5
29	ELAZIĞ	40	39	2,5	185	1,6
30	ERZİNCAN	40	37	7,5	222	2,3
31	ERZURUM	30	26	13,3	203	2,0
32	ESKİŞEHİR	49	46	6,1	317	2,2
33	GAZİANTEP	36	36	0,0	153	0,0
34	GİRESUN	43	41	4,7	202	2,0
35	GÜMÜŞHANE	40	34	15,0	162	4,3
36	HAKKARİ	88	68	22,7	126	5,6
37	HATAY	43	43	0,0	191	0,0
38	İĞDIR	42	37	11,9	308	2,6
39	İSPARTA	38	35	7,9	195	9,2
40	İSTANBUL	34	29	14,7	178	4,5
41	İZMİR	40	35	12,5	251	8,0

SIRA NO	İL	İŞLETME SAYISI	İŞLETME		SERUM SAYISI	%
			+	-		
42	K. MARAŞ	41	5	12,2	180	3,3
43	KARABÜK	39	1	2,6	163	0,6
44	KARAMAN	40	3	7,5	180	1,7
45	KARS	38	12	31,6	347	5,5
46	KASTAMONU	40	0	0,0	219	0,0
47	KAYSERİ	30	7	23,3	187	9,1
48	KIRIKKALE	38	3	7,9	172	1,7
49	KIRKLARELİ	38	0	0,0	206	0,0
50	KİRŞEHİR	41	3	7,3	206	1,9
51	KILIS	43	2	4,7	190	1,1
52	KOCAELİ	30	1	3,3	194	0,5
53	KONYA	38	3	7,9	158	9,5
54	KÜTAHYA	37	3	8,1	157	1,9
55	MALATYA	44	1	2,3	147	0,7
56	MANİSA	63	0	0,0	361	0,0
57	MARDİN	33	2	6,1	123	3,3
58	MERSİN	38	0	0,0	229	0,0
59	MUĞLA	40	2	5,0	198	1,5
60	MUŞ	51	16	31,4	301	2,3
61	NEVŞEHİR	40	3	7,5	207	2,9
62	NİĞDE	39	0	0,0	176	0,0
63	ORDU	40	0	0,0	92	0,0
64	OSMANİYE	40	2	5,0	161	1,9
65	RİZE	32	1	3,1	80	3,8
66	SAKARYA	43	2	4,7	236	0,8
67	SAMSUN	42	3	7,1	190	3,7
68	SIIRT	47	3	6,4	272	1,1
69	SİNOP	38	0	0,0	199	0,0
70	SIVAS	42	14	33,3	280	8,9
71	ŞURFA	38	5	13,2	277	3,6
72	ŞIRNAK	33	1	3,0	97	0,0
73	TEKİRDAĞ	38	3	7,9	226	5,3
74	TOKAT	41	4	9,8	238	4,6
75	TRABZON	42	0	0,0	232	0,0
76	TUNCELİ	40	1	2,5	128	0,0
77	UŞAK	43	2	4,7	194	1,0
78	VAN	91	2	2,2	295	0,3
79	YALOVA	40	2	5,0	220	3,2
80	YOZGAT	35	3	8,6	163	5,5
81	ZONGULDAK	37	0	0,0	120	0,0
	TOPLAM	1702	146	8,6	8326	2,7

SÜRÜ PREVALANSI 8,6
İŞLETME PREVALANSI 1556
FERT PREVALANSI 2,7

Tablo 1.2. 2010 Yılı Sığır Brucella Survey Türkiye Geneli

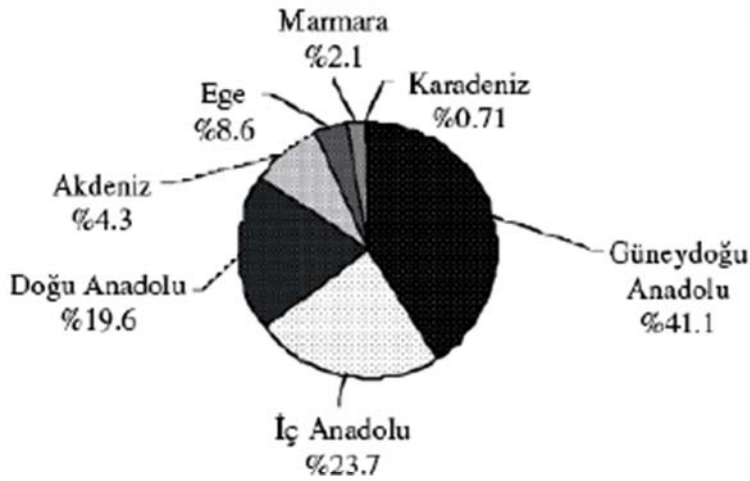
Brusella Vaka ve Ölüm Sayıları, Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye, 1970-2005					
Yıllar	Yıl Ortası Nüfus	Vaka Sayısı	Morbidite	Ölüm Sayısı	Mortalite
			Hızı -100.000		Hızı -1.000.000
1970	35.321.000	37	0,1	2	0,06
1971	36.215.000	70	0,19	0	0
1972	37.132.000	63	0,17	1	0,03
1973	38.072.000	84	0,22	0	0
1974	39.036.000	70	0,18	0	0
1975	39.078.000	69	0,17	0	0
1976	39.915.000	69	0,17	0	0
1977	41.768.000	62	0,15	0	0
1978	42.639.000	72	0,17	0	0
1979	43.530.000	157	0,36	0	0
1980	44.438.000	186	0,42	0	0
1981	45.539.000	438	0,96	1	0,02
1982	46.688.000	676	1,45	1	0,02
1983	47.864.000	618	1,29	1	0,02
1984	49.070.000	1.135	2,31	0	0
1985	50.306.000	1.177	2,34	0	0
1986	51.546.000	1.563	3,03	1	0,02
1987	52.845.000	1.809	3,42	1	0,02
1988	54.176.000	2.356	4,35	1	0,02
1989	57.426.316	3.145	5,48	0	0
1990	57.582.446	5.003	8,69	2	0,03
1991	57.736.288	4.658	8,07	4	0,07
1992	59.088.101	6.197	10,49	0	0
1993	60.384.474	6.795	11,25	2	0,03
1994	61.779.288	8.383	13,57	0	0
1995	63.206.510	8.506	13,46	9	0,14
1996	62.727.000	9.480	15,11	0	0
1997	63.745.000	11.812	18,53	1	0,02
1998	64.786.000	12.330	19,03	0	0
1999	65.819.000	11.462	17,41	3	0,05
2000	67.844.903	10.742	15,83	6	0,09
2001	69.081.716	15.510	22,45	2	0,03
2002	70.415.064	17.765	25,23	1	0,01
2003	71.772.711	14.572	20,3	0	0
2004	71.152.000	18.264	25,67	2	0,03
2005	72.065.000	14.644	20,32	1	0,01

Vaka ve ölüm sayıları rutin bildirim sisteminden elde edilmiştir. Hızların hesaplanmasında kullanılan nüfuslar Türkiye İstatistik Kurumu 2000 yılı nüfus sayımına göre yapılan projeksiyonlardır.

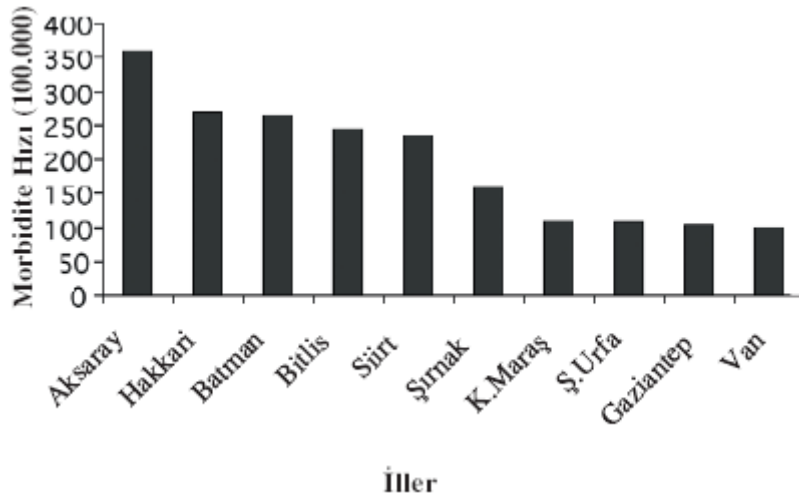
Tablo 1.4. Brucella Vaka ve Ölüm Sayıları, Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye, 1970-2005 (T.C. Sağlık Bakanlığı. İstatistikler)

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1970 yılında 37 olarak bildirilen olgu sayısı, 2004 yılına gelindiğinde 18.398'e, 2005 yılında ise 14.644 ulaşmıştır (T.C. Sağlık Bakanlığı istatistikleri, 2004). Bu artışın hastalık prevalansındaki gerçek artıştan çok bildirim ve tanı koyma oranlarındaki artıştan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Ülkemizde hastalık bildirimlerinin hala yeterli düzeyde olmadığı dikkate alınırsa, gerçek bruselloz prevalansının sanıldığından daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir (Tablo 1.4) (Yüce A ve Çavuş SA, 2006).

Türkiye'de brusellozun bölgelere göre dağılımı 2004 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre **Şekil 1.2'** de gösterilmiştir. Hastalık en sık Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde görülürken bildirilen olguların sadece %0.67'si Karadeniz Bölgesi'ndendir. Hastalığın en sık görüldüğü 10 ilimizdeki morbidite hızları **Şekil 1.3'**de gösterilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı istatistikleri, 2004).

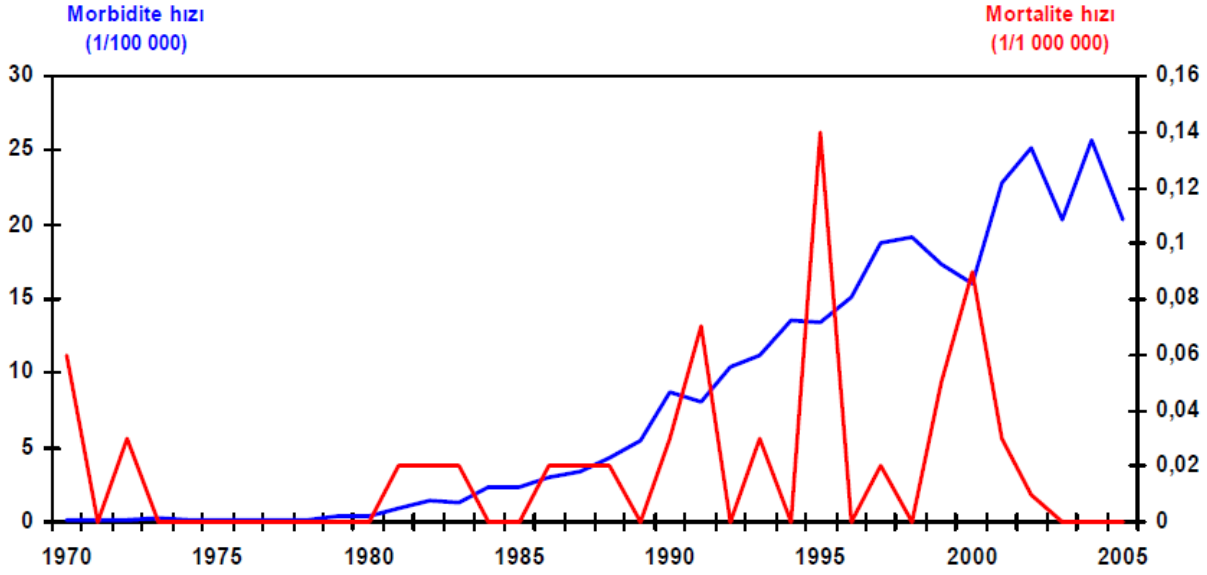


Şekil 1.2. Türkiye'de Bruselloz olgularının bölgelere göre dağılımı 2004 (T-22)



Şekil 1.3. Bruselloz morbidite hızının en yüksek olduğu il 2004 (T-22)

İlere göre Bruselloz insidansı, Sağlık Bakanlığı'na yapılan olgu bildirimlerinin il nüfusuna oranlanması ile hasaplanmıştır. 2004 yılı verilerine göre hastalık insidansı, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde en yüksek iken, Akdeniz Bölgesi'nde en düşüktür. Bu dağılım, hastalığın hayvanlardaki prevalans dağılımı ile uyumlu olduğu görülmektedir. Türkiye'de brusellozun yıllık mortalite hızı milyonda 0.01'dir (T.C. Sağlık Bakanlığı istatistikleri, 2004).



Çizelge 1.2. Brucella Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye, 1975-2005

Brucelloz tanısı, klinik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilmesine dayanır. Brucelloz da klinik bulgularıyla ve otopsi bulgularıyla kesin tanı koyulmaz Kesin tanı için bakteriyolojik ve serolojik testlere başvurulur.

1.3. Bakteriyoskopi

Kan, irin, uterus akıntısı, organ parçaları, plasenta, kotiledon ve fötüs mide içeriği gibi materyallerden hazırlanan preparatlar Köster ve Ziehl-Noelsan yöntemleri ile boyanarak muayene yapılır. Köster boyama ile boyanan preparatlarda Brucella bakterileri mavi renk içinde portakal renginde gözlenir. Ziehl-Noelsan ile boyanan preparatlarda ise; maviye boyanmış doku hücreleri içinde kırmızı renkte gözlenir. Brucella etkenlerini tanımda ayrıca Stemp ve Gram boyamalarından faydalanılır (Lenette HE ve ark, 1974; Moyer NP, 1991).

1.4. Kültür

Brucella' ların üretilmesi için katı, sıvı ve seçici besi yerleri kullanılır. Seçici besi yerlerinin içine etil violet, basitrasin, sikloheksimid, ve polimiksin B gibi çeşitli inhibitörlerin katılmasıyla selektif besi yerleri yapılır. Bu besi yerlerinde bazıları; Potato agar, Serum Dextrose Agar, Glycerol-dextrose agar ve Farrell's medium gibi besi yerleridir. Ekimler çift yapılarak birisi aerop ortamda, diğeri %5-10 CO₂ 'li ortamlarda üretilir. Üreyen koloniler boya testleri, kültürel, morfolojik, biyokimyasal, hayvan inokülasyonu ve serolojik olarak muayene edilerek identifiye edilir (Akan E, 1986; Bilgehan H, 1993; Özsan K, 1990; Young EJ, 1995; WHO, 1986; Arda M ve ark, 1992).

1.5. Hayvan Deneyi

Süt ve idrar gibi kontamine materyal kas içi veya subkutan yolla ve şüpheli kültürler ve kontaminasyon ihtimali olan marazi maddeler intraperitoneal olarak kobaylara verilir. Sonuçlar bakteriyolojik ve serolojik olarak değerlendirilir (Arda M ve ark, 1992)

1.6. Serolojik Testler

Brucelloz'un laboratuvar tanısında serolojik testler çok önemli bir yer teşkil etmektedir. Bu testler, her hastanın özgül antikor durumunu göstermektedir. Serolojik testlerden sadece bir tanesi ile tanı yapmak imkânsız olduğu için, en az iki testin yapılması zorunludur. Bakteriyolojik tanıda etken izolasyonunun uzun sürmesi ve kronik olgularda genellikle olumsuz sonuçlar alınmasından dolayı serolojik testler daha çok tercih edilmektedir. Bu testlerin duyarlılık oranları % 65-95 civarındadır (Disarno A, 1992; Heck FC ve ark, 1980).

Serolojik testler;

1.6.1. Serum Aglütinasyon Testi (SAT) yani (Standart Tüp Aglütinasyon Testi veya Wright Aglütinasyon Testi)

Brucellozun serolojik olarak tanısında eskiden beri kullanılan testlerden biridir. Günümüzde de halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Testin uygulanması oldukça basittir. Bu testte; seruma fizyolojik su ile iki katlı dilüsyon yapılır ve standart *Brucella* aglütinasyon antijeni eklenir. 37 °C' de 48 saat inkübasyona bırakılır. Aglütinasyonun tüpün dibinde toplanması ve tüpteki sıvının berrak olması testin pozitif olduğunu gösterir. Bu teste kullanılan antijenler *B.abortus 119*, *B.suis'* in S formu ve *B.melitensis'* in S formudur. Serum Aglütinasyon Testi ile bakterinin yüzeyinde bulunan antijenlerle ya da

yüzeyine yakın bulunan antijenlerle reaksiyona giren antikorların total miktarını ölçer. SAT'da; Ig M' lerin, Ig A ve Ig G₁ ve Ig G₂ 'lerden daha yüksek reaksiyon verdiği, bu yüzden akut olguların teşhisinde kronik olgulara göre daha başarılı olduğu yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. SAT'da şüpheli titre görülen serumlar diğer serolojik testlerle de incelenmelidir (Bilgehan H, 1995; Young EJ, 1995; Sutra L ve ark, 1986).

1.6.2. Coombs Testi

Aglütinasyon blokajının ortaya çıkmasında kullanılan en iyi testtir. Agglütinasyon blokajı; antikorlar antijenlere bağlandıkları halde agglütinasyon reaksiyonu oluşturmasını engelleyen bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Bu teste; SAT' da agglütinasyon görülmeyen tüpler; tuzlu su ile üç kez yıkanıp yeniden süspansiyon yapıldıktan sonra her tüpe birer damla Coombs serumu damlatılır. 37 °C' de 24 saat bekletilir. Sonra sonuçlar değerlendirilir. Coombs testi; özellikle negatif sonuç alınan ve düşük titrede antikor içeren kronik olguların belirlenmesinde önemlidir (Arnow ve ark, 1984; Bilgehan H, 1995; Young EJ, 1995; WHO, 1986; Sutra L ve ark, 1986; Elberg SS, 1948; Sözen TH, 1996; Heizmann W, 1985).

1.6.3. Merkaptotanol (ME) veya Rivanol Testleri

Kronik bir infeksiyonun akut alevlenmesinden şüphe duyuluyorsa bu test uygulanır. Bu hastalığın aktif olarak sürdüğünü gösteren Ig G antikorların varlığını belirlemek gerekir. Bu amaçla total titrenin Ig M' ye ait kısmı için Merkaptotanol veya Rivanol kullanarak Ig M' deki disülfit bağları koparılır ve parçalanır sonrasında yüksek titrede Ig G saptanırsa alevlenme tanısı konabilir. Test bir hafta sonra uygulandığında titre artmış ise tanı kesinleşir (Bilgehan H, 1995; Sutra L ve ark, 1986; Young EJ, 1995).

1.6.4. Mikroagglütinasyon Testi

Wright agglütinasyon testinin alternatifidir. Daha az antijen gerektiren ve daha kısa inkübasyon zamanına ihtiyaç olan testidir (Young EJ, 1995; Heizmann W, 1985).

1.6.5. Rose Bengal Plate Testi (RBPT)

Ekonomik olması ve kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle hem laboratuarda ve hem de tarama testi olarak sahada sıklıkla kullanılmaktadır. *B.abortus* S99 suşundan hazırlanan ve Rose Bengal boyası ile boyanan, yoğun Brucella antijeni kullanılarak yapılan, tek sulandırılmalı bir lam agglütinasyon testidir. Antijenin asidik pH derecesi 3,65 olup bu pH

serumdaki Ig M aktivitesini engelleyerek Ig G' lerin reaksiyona katılmalarına yardımcı olur ve nonspesifik aglutininlerin etkinliğine engel olur. Lam üzerine 0,03 ml antijen ve üzerine aynı miktar serum damlatılır ve 4 dakika karıştırılır ve aglütinasyon olup olmadığı gözlenir (Davies G, 1971; Ünel S, 1972).

1.6.6. Lam Aglütinasyon Testi

Cam üzerinde serumla yapılan çabuk aglütinasyon testidir. Bu testin özgüllüğü ve duyarlılığı çevresel faktörlerden etkilenmesi nedeniyle pek tercih edilmez (Özsan K, 1990; Arda M ve ark, 1992; Young EJ, 1995; Moyer NP ve ark, 1987).

1.6.7. Spot testi

Bu testte tam kan kullanılır. Bir damla kan üzerine Brucella bakteri süspansiyonu damlatılır ve aglütinasyon gözlenir (Young EJ, 1995; Moyer NP ve ark, 1987).

1.6.8. Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR)

Süt ve ürünlerinde Brucella türlerinin saptanması için geliştirilmiştir. Klinik rolü henüz tam olarak ortaya çıkmamıştır. Brucelloz tanısında nüks olguların değerlendirilmesi ve tedavi sonrası gözlem açısından önemlidir (Özsan K, 1990; Elberg SS ve ark, 1948; Corbel MJ, 1988; Morgan BWJ, 1966; Özbal Y, 1994).

1.6.9. Radioimmunoassay (RIA) Testi

Çok duyarlı bir testtir. Kronik ve akut olguları ayırt eder. Immünoglobulin gruplarını belirleyebilme özelliğine sahiptir (Parrat D ve ark, 1977; Serpe L ve ark, 2000).

1.6.10. Komplement Fiksasyon Testi

Coombs testi kadar duyarlı bir testtir. Ig G ve Ig M antikorları görev alır. CFT 60 °C' de inaktivasyon esasına dayanır. Ig M' ler 60° C' de kısmen inaktif olur. Bu yüzden Ig G' leri daha iyi ölçer (WHO 1998).

1.6.11. Milk Ring Testi (MRT)

Sütte Brucelloz teşhisinde önemli bir testtir. Genellikle hayvancılıkla uğraşan bölgelerde bakteriyel kültür metotlarıyla birlikte uzun yıllar kullanılmıştır. MRT 'de diğer serolojik testlerde kullanılan antikorlar kullanılmaz. Ig A antikorları MRT oluşumunda daha aktiftir (Sutra L ve ark, 1986).

1.6.12. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Antijen ve antikor belirlenmesini sağlayan bir yöntemdir. Bu testin ana prensibi; antijen- antikor kompleksine, enzim ile işaretli konjugat bağlanmasına ve substratın eklenmesine ve renk oluşumuna sebep olur (Özbal Y, 1994).

Bu amaçla; genellikle 96 çukurlu Polyesteryn mikropleytlere antijen pasif biçimde adsorbe olur (Moyer NP, 1991; Martin-Mazuelos E, 1994; Thoen CO ve ark, 1980). Ayrıca nitroselüloz pleytler, naylon boncuklar ve polyethylene pleytlerde kullanılabilir (Yardımcı H, 1989).

Antijen olarak Brucella'nın tüm hücreleri, dış membran proteinleri, smooth LPS, nativ hapten polisakkariti ve sitoplazmik proteinleri kullanılmıştır (Young EJ, 1991; Gilbert GL ve ark, 1981; Goldbaum FA ve ark, 1993; Sippel JE, 1982).

Mikropleytlere adsorbe olan antijenlerin üzerine antikor ilave edilir. Antikor antijenlerle birleşir. Yıkama işlemi yapıldığı halde antijen ile birleşen antikor ortamdaki ayrılmaz. Serum komponentlerinden antijenlerle birleşmeyenler yıkama ile uzaklaşırlar. Ortamda antikorun varlığı konjugat kullanılmasıyla anlaşılır. Eğer antikor ortamda varsa, konjugat antijen antikor kompleksi ile birleşir. Konjugat olarak alkalın fosfataz, horse redish peroksidaz ve galaktosidaz enzimleri ile işaretlenmiş olanlar kullanılır (Sutherland SS,1984; Thoen CO ve ark, 1980).

Oluşan antikor, antijen ve konjugat kompleksine substrat eklenir. Substrat olarak ortofenil-diamin (OPD), 2,2-azino-3-etil bentiozalin 6-sülfonat (ABTS), 5-aminosalisalik asit, P-nitrofenil kullanılmaktadır [2, 38, 70, 86-88, 102]. Substratın enzim ile yapacağı reaksiyon sonucunda meydana gelen renk gözle ya da mikropate okuyucunda okunarak değerlendirme yapılır (Byrd JW ve ark, 1979; Cargill C, 1985; Hall M, 1983; Thoen CO ve ark, 1980).

1.7. Alerji Testleri

Bakteri nükleoproteinlerinden hazırlanan "Brucellagen" kültür filtratlarından hazırlanan Abortin ve Mellitin de cilt testinde antijen olarak kullanılır. Bugün kullanılan iki alerjen vardır. Bunlar lipopolisakkarid' siz protein (Brucellin- INRA) ve F fraksiyonudur. Ama güvenilir bir test değildir. Brucelloz hastalığının tedavisi destek ve özgül olmak üzere iki şekildedir. Destek tedavide; hasta her türlü gıda ile beslenebilmektedir. Ancak hastalığın ilk yedi gününde yatak istirahatı yapılması gerekir.

Özgül tedavide ise; antimikrobik tedaviye başvurulur. Antimikrobik tedavi semptomları hafifletir ve hastalığın seyrini kısaltır (Akova M ve ark, 1993).

Brucella bakterilerine in-vitro etkili antibiyotikler beta-laktamlar, tetrasiklinler, eritromisin, aminoglukozidler, trimetoprim, sulfametoksazol, kloromfenikol, rifampin ve bazı fluorokinolonlar' dır. Brucelloz tedavisinde kullanılan antibiyotikler mutlaka makrofajların içine girebilmeli ve bakterisid etkili olmalıdır. Brucelloz hastalığının tedavisinde kombine antimikrobiyal kullanımı gereklidir. Kombinasyon tedavisi her zaman daha üstündür. Monoterapide relaps oranları çok yüksektir. Dünya Sağlık Örgütü 1981 yılında Brucelloz tedavisi için streptomisin ve tetrasiklin kombinasyonunu tedavi protokolü olarak belirlemişlerdir. Buna göre; streptomisin 1g/gün intramusküler tek doz 21 gün ve tetrasiklin 2g/gün oral (günde 4 kez 500mg) olacak şekilde planlamıştır (Akova M ve ark, 1993).

Dünya Sağlık Örgütü 1986 yılında tedavi protokolünde değişiklik yapmıştır. Rifampisin ve doksisisiklin kombinasyonunu önermişlerdir. Rifampisin yerine streptomisin de kullanılabilir. Bu tedavi protokolüne göre ise; rifampisin sabah aç olarak 600-900 mg/gün ve doksisisiklin ise 200mg/gün tok karnına kombine olarak 6 hafta süreyle kullanılır (Akova M ve ark, 1993).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç ve Saha Örnekleri

Bu çalışmada Marmara Bölgesi'nde büyükbaş ve küçükbaş hayvancılık yapan işletmelerde atık yapan 68 adet koyun, 10 adet keçi, 2 adet manda ve 20 adet sığırdan elde edilen toplam 100 adet aborte fetus materyali ile bunlara ait plasental kotiledonlar, fetal akciğer ve karaciğer, börek, dalak ve kalp ile abomasum içeriği *Brucella* spp. izolasyonu amacı ile kullanıldı. Aborte fetus materyallerinin geldiği il-ilçe isimlerini, tarihlerini ve materyel isimlerini çizelge 3'de göstermektedir.

2.1.1. *Brucella* Antiserumları

A ve M monospesifik antiserumları ile A+M *Brucella* antiserumu Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü *Brucella* Aşıları ve Biyolojik Madde Üretim Laboratuvarı'ndan temin edildi.

2.1.2. *Brucella* Selektif Besiyerleri

2.1.2.1. Farrell's Medium

Kontamine kaynaklardan *B.abortusun* izolasyonu için geliştirilmiş yeni bir seçici besiyeridir.

Temel Bileşenleri (1 lt. için)

- *Brucella* Temel Besiyeri 45 gr.
- Yeni doğan buzağı serumu* 50 ml
- Antibiyotik ilavesi** 2 şişe (*Brucella* Selective Supplement; Oxoid SR0083 A)

Prosedür

2 lt 'lik kutularda bulunan *Brucella* Temel Besiyeri 1 lt distile su ile sulandırılır. Tamamen çözünene kadar karıştırılarak ısıtılır. Bir litrelik besiyeri her bir şişede 500 ml olmak üzere iki ayrı şişeye paylaştırılır ve sterilize edilir.(120 C, 1 atmosfer basınç, 20 dak) Bundan sonraki karışırmalarda şişeler magnetik parça (balık) koyulabilir. (Besiyerinin soğutulması açısından daima yarım litre olarak hazırlanması tavsiye edilir. Ayrıca ticari olarak satılan seçective supplement 500 ml'lik besiyeri için hazırlanmıştır)

Otoklav işleminden sonra besiyeri su banyosu içinde 45 °C 'ye kadar soğutulmalıdır.(15-20 dakika kadar) . Bu soğuma işlemi sırasında selective supplement 1:1 oranında absolute metanol eklenmiş steril distile su ile sulandırılır. Sulandırılmış

supplement oda ısısında 5-10 dakika bekletilmelidir. Besiyerinin ısı 45 °C 'ye geldiğinde aseptik şartlarda her bir şişeye 25 ml olmak üzere steril yeni doğan buzağı serumu (önceden sıcak su banyosunda ısı 45 °C ye getirilmiş) ve selektif supplement ilave edilir. Magnetik karıştırıcıda iyice karıştırıldıktan sonra (köpük oluşumundan kaçınılmalıdır) petrilere dökülür.(Her litre besiyerinden 35-39 petri çıkar)

* Komplementin uzaklaştırılması için serum inaktivasyonu önerilmez.

**En fazla tavsiye edilen alternatif; ticari olarak satılan (Oxoid SR0209), Cycloheximide yerine Natamycin (50 mg/lt) içeren modifiye antibiyoti supplementtir. Ancak Bu supplement kullanıldığında aynı inkübasyon süresinde oluşan brucella kolonileri daha küçük olmaktadır.

Bir diğer alternatif olarak aşağıda formülü bulunan antibiyotik supplementi hazırlanabilir.

Nalidixic Acid	5 mg
Bacitracin	25.000 IU
Cycloheximide	100 mg

(veya Natamycin 50 mg)

Nystatin 100.000 IU.

Polymyxin B 5.000 IU.

Vancomycin 20 mg.

Bu formüle göre 10,2 mg polymyxin B tartılır ve 17 ml steril distile suda eritilir. Bu hazırlanan solüsyondan bir litre selektif besiyeri için 1 ml kullanılır.Geri kalan stok solüsyon +4 °C 'de birkaç gün saklanabilir ancak dondurularak saklanması tavsiye edilir. Diğer antibiyotikler (Nalidixic Acid, Bacitracin, Nystatin Vancomycin ve Natamycin veya Cycloheximide) birlikte steril bir kapta tartılır ve 1:1 oranında methanoli, steril distile su karışımında çözülür.10 dakika oda ısısında tutulan karışım hafifçe çalkalanır ve daha önce hazırlanan 1 ml Polymyxin B süspansiyonu ile bir litre besiyerine ilave edilir (Farrell ID, 1974).

2.1.2.2. CITA Medium

Bu şeffaf medium, opak modifiye Thayer-Martin medium için en iyi alternatiftir (arkadan ışık vererek Brucella kolonilerinin tanısına imkan vermeyen). Hem de tüm Brucella türleri için uygundur. *B.ovis* izolasyonu için de iyi bir seçenektir.

Temel Bileşenleri (1 lt. için)

- Kanlı agar No: 2 39,5 gr (BAB; Biolife code 3911562)
- Yeni doğmuş buzağı serumu (Steril) 50 ml (Seromed N° SOI25; or Gibco 16170-078; or PAN Biotech Cat n°: 0392P281701)
- Antikor İlavesi
 - Vancomisin 20 mg
 - Kolistin 7,5 mg
 - Nistatin 100.000 I.U.
 - Nitrofurantoin 10 mg.
 - Anfoterasin B 4 mg

Prosedür

BAB 2 litre tartılır ve distile su ile birebir oranında sulandırılır. Kaynayana kadar karıştırılarak kaynatılır ve tamamen çözdürülür. 120 °C' de 1 atmosfer basınçta 20 dakikada sterilize edilir. Daha sonraki karışımlar için içine manyetik parça koyulabilir. Besiyeri; otoklav işleminden sonra su banyosu içinde 45 °C' ye kadar soğutulur (Bu soğutma işlemi için minimum 15-20 dakika gereklidir). Bu işlemler sırasında antibiyotik karışımı aşağıda açıklandığı gibi hazırlanır.

- Vancomycin, Colistin ve Nystatin 50 ml' lik steril kapta tartılır. Bu antibiyotik karışımı birebir oranında hazırlanmış 10 ml steril distile su ve absolute methanol ile sulandırılır.
- Nitrofurantoin steril tüpte tartılır ve 1 ml M NaOH solüsyonu 0,22 µm filtreden geçirilerek sterilize edilip çözdürülür.
- 10 mg Amphoterisin B 20 ml' lik steril kapta tartılır ve 1 ml DMS (Dymetil sulfoxide) ile çözdürülür (tamamen çözünme için 5-10 dakika gereklidir). 9 ml 10 mM steril Phosphate Saline (pH=7,2) eklenir. Amphoterisin B'nin son konsantrasyonu 1 mg/ml olmalıdır. Bu solüsyondan 4 ml birebir oranında besiyeri için gereklidir. Arta kalan Amphoterisin B süspansiyonu diğer kullanımlar için 4 °C' de birkaç gün saklanabilir (M. J. De Miguel ve ark, 2011).

2.1.2.3. Modifiye Thayer-Martin Medium

GC temel besiyeri 1 litre tartılır ve 500 ml distile su ile çözdürülür. Thermostatik manyetik karıştırıcı kullanılarak dikkatli bir biçimde kaynayana kadar ısıtılır. Daha sonra otoklavda sterilize edilir (120 °C, 1 atmosfer basınç, 20 dakika). 10 g hemoglobin tartılır ve

500 ml distile su ile sulandırılır. Dikkatli bir şekilde parçalamadan homojenize edilir. Bu hemoglobin solüsyonu tamamen çözüldükten sonra 1 litrelik faska aktarılır ve otoklavda sterilize edilir (120 °C, 1 atmosfer basınç, 20 dakika) daha sonraki karışımlar için manyetik parça eklenebilir. Otoklav işleminden sonra flasklar zaman zaman kopuk oluşturmada karıştırılarak ısı 45 °C 'ye düşene kadar (bu ısıya düşmesi için 15-20 dakika gereklidir) su banyosunda bekletilir. Bu sırada antibiyotik supplement hazırlanır.

- Nitrofurantoin steril tüpte tartılır ve 1 ml de 0,1 M NaOH solüsyonunda (daha önce 0.22 µm filtreden geçirilerek sterilize edilmiş) çözdürülür.
- Vancomycin, Colistin ve Nystatin 50 ml' lik steril kapta tartılır. Bu karışım 10 ml birebir oranında karıştırılmış steril distile su ve absolute methanol ile sulandırılır.
- 10 mg Amphotericin B 20 ml' lik kapta tartılır ve 1 ml DMS ile çözdürülür. Tamamen çözüldükten sonra (bu işlem için 5-10 dakika gereklidir) 9 ml 10 mM steril phosphate buffer saline (pH=7,2) eklenir.
- Amphotericin B' nin son konsantrasyonu 1 mg/ml olmalıdır. Bu solüsyondan 4 ml birebir oranında besiyerin için gereklidir. Amphotericin B daha sonraki kullanımlar için 4 °C' de birkaç gün saklanabilir.
- İsi sabitlendikten sonra flastaki içerikler karıştırılır (Besiyerinin bulunduğu flastın hemoglobin içeren flaska eklenmesi önerilir) ve antibiyotik supplement eklenir. Köpük oluşturmada dikkatlice homojenize edilir ve petrilere dökülür.(Ortalama olarak 1 litre besiyerinden 35-39 petri elde edilir)

Önemli Notlar

Besiyeri Biolife GC temel besiyeri ile hazırlanır ve ağarın son konsantrasyonu %1,2 olmalıdır. Kontaminasyon problemleri oluştuğunda (En fazla görülen ve özellikle önemli olan *Proteus spp.dir*) agarın son konsantrasyonu Bacto agar eklenerek %2 ye çıkartılır. Bu durumda besiyeri çok yoğun olacağından ve ısıtma işlemi sırasında kolaylıkla yanabileceğinden çözünme işlemine özellikle dikkat etmek gerekir.

- Hemoglobin kullanmak ilginç ve pratik bir alternatiftir ancak homojenize etmek çok zordur. Hemoglobin %10 oranında steril koyun kanından aseptik olarak elde edilmektedir.(İçinde Na citrate ve EDTA gibi antikoagulanlar içeren kan ekstraksiyon tüpleri de ticari olarak mevcuttur) GC besiyeri otoklavlanır ve bu işlemden sonra 50 °C üzerinde bir sıcaklığa sahiptir. Bu durumda GC temel besiyeri

900 ml distile su ile çözdürülür. Steril kuzu kani (100 ml) ilave edilir ve besiyerini ısı 80 °C dereceye yükseltilmelidir. Bu ısı kan hücrelerinin lizis olmasına neden olur. Besiyeri bu kırmızı hücreler tamamen parçalanana kadar zaman zaman karıştırılmalıdır.(besiyerinin rengi çikolata rengi olur) Bu işlemden sonra besiyeri su banyosu içinde 45 °C' ye kadar soğutulur ve kopuk oluşturmada zaman zaman karıştırılır. Besiyeri ısı 45-50 °C' ye geldiğinde antibiyotikler steril şartlarda eklenir ve petrilere dökülür. Eğer besiyeri petrilere dökülürken çok sıcak olursa hemoglobin çöker ve petrideki besiyeri iki kat sekinde görülür ve eşit miktarda içerik petride bulunmaz.

- Vancomycin, Colistin ve Nystatin içeren antibiyotik solüsyonları ticari olarak VCN supplement olarak piyasada bulunmaktadır. Ancak bu supplement düşük konsantrasyonda Nystatin içerir ayrıca Nitrofurantoin ve Amphotericin B içermez.

(Marin CM ve ark, 1996; OIE Manual, 2004).

2.1.3. Boya İçeren Besiyerleri

2.1.3.1. Tiyonin'li Besiyeri

Tiyonin (Sigma T- 3387)'in distile suda % 0.2' lik stok solüsyonu koyu renkli şişelerde hazırlandı ve kapakları sıkıca kapatılarak sterilizasyon amacıyla kaynayan suda 1 saat bekletildi. SDA, 500 ml olacak şekilde hazırlanarak otoklavda sterilize edildi ve 56 °C'ye kadar soğutuldu. İçine son konsantrasyonu % 5-10 olacak şekilde steril buzağı serumu (Biochrom) katıldı. Besiyeri içine tiyoninin stok solüsyonundan 5 ml (% 0.5) eklenerek 1/50.000 konsantrasyonunda hazırlandı. Elde edilen homojen karışımlar petri kutularına döküldü.

2.1.3.2. Bazik Fuksin'li Besiyeri

Bazik Fuksin (Sigma / Aldrich B-0904) 'in distile suda % 0.2'lik stok solüsyonu koyu renkli şişelerde hazırlandı ve kapakları sıkıca kapatılarak sterilizasyon amacıyla kaynayan suda 1 saat boyunca bekletildi. SDA, 500 ml olacak şekilde hazırlanarak otoklavda sterilize edildi ve 56 °C' ye kadar soğutuldu ve içine son konsantrasyonu % 5-10 olacak şekilde steril buzağı serumu (Biochrom) katıldı. Besiyeri içine bazik fuksinin stok solüsyonundan 5 ml (% 0.5) ilave edilerek 1/50.000 konsantrasyonunda hazırlandı. Elde edilen homojen karışımlar petri kutularına döküldü.

2.1.3.3. Safranin-O'lu Besiyeri

Safranin O (Sigma S 2255)' nun distile suda % 0.5'lik stok solüsyonu koyu renkli şişelerde hazırlandı ve kapakları sıkıca kapatılarak sterilizasyon amacıyla kaynayan suda 1 saat bekletildi. SDA, 500 ml olacak şekilde hazırlanarak otoklavda sterilize edildi ve 56 °C' ye kadar soğutuldu ardından içine son konsantrasyonu % 5-10 olacak şekilde steril buzağı serumu (Biochrom) katıldı. SDA besiyerine Safranin-O stok solüsyonundan 10 ml (% 0.5) ilave edilerek 1/10.000 konsantrasyonunda hazırlandı. Elde edilen homojen karışımlar petri kutularına döküldü.

2.1.4. Antibiyotik İçeren Besiyerleri

2.1.4.1. Streptomisinli Besiyeri

SDA'ya son konsantrasyonu 2.5 µg/ml olacak şekilde streptomisin (Sigma S 6501) katılarak hazırlandı.

2.1.4.2. Penisilinli Besiyeri

SDA'ya son konsantrasyonu 5 IÜ/ml olacak şekilde Penisilin (Benzylpenicillin 1.000.000, PEN-B, Sigma) katılarak hazırlandı.

2.1.4.3. İ-eritritol'lü Besiyeri

İ-eritritol (Sigma E-7500, meso-eritritol, 25 gr,) ün distile suda % 1'lik stok solüsyonu koyu renkli şişelerde hazırlandı ve kapakları sıkıca kapatılarak sterilizasyon amacıyla kaynayan suda 1 saat bekletildi. SDA, 500 ml olacak şekilde hazırlanarak otoklavda sterilize edildi ve 56 °C' ye kadar soğutuldu ve ardından içine son konsantrasyonu % 5- 10 olacak şekilde steril buzağı serumu (Biochrom) katıldı. SDA besiyerine İ-eritritol stok solüsyonundan 50 ml (% 1) ilave edilerek son konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Elde edilen homojen karışımlar petri kutularına döküldü.

2.1.5. Biyokimyasal Testler

2.1.5.1. Katalaz Testi

% 35'lik Hidrojen peroksit, katalaz testi için kullanıldı.

2.1.5.2. Üreaz Testi (Christensen's Metodu)

%39'luk Üre (Oxoid-SR020K) solusyonu, etkenin üreaz aktivitesinin ölçülmesinde kullanıldı.

2.1.5.3. Oksidaz Testi (Kovak's Modifikasyonu)

Etkenin oksidaz aktivitesinin belirlenmesinde Identification Sticks Oxidase (Oxoid BR64A) kullanıldı.

2.2. Cihazlar

- **Karbondioksitli Etüv:** Shel-Lab Model 2300, USA.
- **Stereomikroskop:** Olympus SZ61, Binoküler, USA.
- **Vorteks:** IKA Vortex Tube Shaker, Model 312 12 24, GERMANY.

2.3. YÖNTEM

2.3.1. Direkt Mikroskopik Muayene

Pendik Veteriner Kontrol Enstitü Müdürlüğü'ne getirilen, Marmara Bölgesi'ndeki il ve ilçelerdeki sığır, manda, koyun ve keçi atık vakalarından elde edilen Brucellosis yönünden şüpheli 68 adet koyun, 10 adet keçi, 2 adet manda ve 20 adet sığıra ait toplam 100 adet aborte fetusun laboratuvarında aseptik şartlarda otopsileri yapıldı. Fötal akciğer, karaciğer, kalp, böbrek, dalak ve mide içeriğinden sürme preparat hazırlanarak Modifiye Ziehl-Neelsen tekniğiyle boyandı ve mavi zemin üzerinde kırmızı kokobasiller arandı (Alton GG ve ark, 1988; Timoney JF ve ark, 1988).

2.3.2. *Brucella* İzolasyon Yöntemi

2.3.2.1. Organ Homojenatlarının Hazırlanması

Kontaminasyonları engellemek amacıyla fötal karaciğer, dalak, akciğer, kalp ve böbrek etanole batırılıp ateşten geçirildi. Dokular steril makas ve pens yardımıyla 50 ml'lik steril santrifüj şişelerine küçük parçalar halinde aktarıldı ve üzerine 10 katlı steril FTS ilave edilerek ultratüraks yardımıyla homojenize edildi ve suspansiyon şeklinde organ homojenatı hazırlandı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.2.2. İzolasyon

Organ homojenatlarının içine steril öze daldırılarak *Brucella* Selektif Agar ve Kanlı Agar yüzeyine ekimler yapıldı. Mide içeriğinden yapılan ekimler için abomasum duvarı kızgın spatülle dağıldı ve içerik steril enjektör yardımıyla çekilerek *Brucella* Selektif Agarların yüzeylerine birkaç damla bırakılmak suretiyle steril öze ile yayılması sağlandı. Her üç grup da 37°C'lik CO₂'li etüvde, 3-8 gün inkube edildiler. Söz konusu izolatların tür tayinleri standart yöntemlere göre yapıldı (Alton GG ve ark, 1988; Timoney JF ve ark, 1988).

2.3.3. Cins Düzeyinde İdentifikasyon

2.3.3.1. Bireysel Morfoloji

İnkübasyon süresi sonunda yüzeyinde gelişen kolonilerden Modifiye Ziehl-Neelsen boyama metoduyla bakterilerin bireysel morfolojileri incelendi. Gram negatif,

kokobasil görünümünde olanlar *Brucella* spp. açısından değerlendirmeye alındı (Alton GG ve ark, 1988; Timoney JF ve ark, 1988).

2.3.3.2. Koloni Morfolojisi

Şüpheli koloniler, koloni morfolojilerinin belirlenmesi amacıyla 45°'lik oblik ışıktaki stereomikroskopta incelendi (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.3.3. Polivalan *Brucella* Antiserumu ile Aglütinasyon

Şüpheli kolonilere polivalan (A+M) anti-*Brucella* serumu ile lam aglütinasyon testi uygulandı. Polivalan antiserum ile aglütinasyon vermeyen Rough formundaki *Brucella canis*, kontrol olarak kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.4. Biyokimyasal Testler

2.3.4.1. Katalaz Testi

Temiz bir lam üzerine % 35'lik Hidrojen Peroksit'ten 25 ml. konularak, taze katı kültürden alınan *Brucella* spp. kolonileri ile tahta çubuk yardımıyla karıştırıldı. Testte kontrol olarak kullanılan katalaz negatif özellikte olan *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.4.2. Üreaz Testi (Christensen's Metodu)

Besiyeri hazırlanması amacıyla % 39'luk Üre (Oxoid-SR020K) solusyonu kullanıldı. Steril tüplere paylaştırılan yarı-katı besiyeri içine şüpheli izolatların öze yardımıyla ekimleri yapıldı. Besiyerinin sarı olan renginin pembeye dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi. Testte kontrol olarak üreaz aktivitesi açısından negatif özellik gösteren *B. ovis* suşu kullanıldı (Quinn PJ ve ark, 2000).

2.3.4.3. Oksidaz Testi (Kovak's Modifikasyonu)

Etkenin oksidaz aktivitesinin belirlenmesinde Identification Sticks Oxidase (Oxoid - BR64A) kullanıldı. Taze hazırlanmış *Brucella* spp. kültüründen bir öze dolusu alınarak, 22 °C 'deki oksidaz çubuğuna değdirildi. Reaksiyonun oluşması için 2 dakika beklendi ve oksidaz çubuğunun ucundaki eflatun bölgenin mor renge dönüşmesi, pozitif olarak değerlendirildi. Testte kontrol olarak oksidaz negatif özellikteki *B. ovis* suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.4.4. Hidrojen Sülfür (H₂S) Üretimi

İzolatların H₂S üretim özellikleri kurşun asetat strip metodu ile incelendi. Selektif besiyerlerinde üretilmiş olan her bir *Brucella* spp. izolatından iğne uçlu öze yardımıyla tek bir koloni alınarak yatık SDA tüplerine ekimi yapıldı. Şerit şeklinde kesilen ve kurşun asetat emdirilen kağıtlar sterilize edilerek test için kullanıldı. Kağıtlar, besiyerine temas etmeyecek şekilde, tüp kenarı ile vidalı kapak arasına sıkıştırılarak yerleştirildi. Tüpler %5-10 CO₂ içeren ortamda inkübe edildi. İnkübasyon süresi boyunca kurşun asetatlı kağıtlar her gün değiştirildi. Süre sonunda kağıtlarda siyahlaşma olması H₂S üretimi açısından pozitif kabul edildi. Testte kontrol suşu olarak H₂S pozitif olan *B.abortus* 544 suşu ve H₂S negatif olan *B. melitensis* 16M suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.5. Antibiyotikli Besiyerlerinde Üreme Durumu

2.3.5.1. Penisilinli Besiyerinde Üreme

Çalışmada incelenen Sığır orijinli izolatların, aşı suşu olan *B. abortus* S19'dan ayırımı amacıyla, tüm izolatlar 5 IU/ml penisilin içeren SDA besiyerine inoküle edildi. Ekim işlemi sıvı gliserinli besiyerinden steril svaplar yardımıyla ve her petride birbirine paralel yatay şeritler halinde dört izolat olacak şekilde yapıldı. Petriler 37 °C'de, %5-10 CO₂'li ortamda inkübe edildi. Sığır orijinli izolatlar, 5-6 günlük inkübasyon süresini takiben penisilinli besiyerinde üreme durumuna göre değerlendirildi. Kontrol olarak penisilinli besiyerinde üremeyen *B. abortus* S19 suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.5.2. Streptomisinli Besiyerinde Üreme

Çalışmada incelenen koyun orijinli izolatların aşı suşu olan *B. melitensis* Rev 1'den ayırımı amacıyla streptomisin (2,5 µg/ml) içeren besiyerine ekimleri yapıldı. Ekim işlemi sıvı gliserinli besiyerinden steril svaplar yardımıyla ve her petride birbirine paralel yatay şeritler halinde dört izolat olacak şekilde yapıldı. Petriler 37 °C'de, %5-10 CO₂' li ortamda inkübe edildi. izolatlar, 5-6 günlük inkübasyon süresini takiben streptomisinli besiyerinde üreme durumuna göre değerlendirildi. Kontrol olarak streptomycin içeren besiyerinde üremeyen *B. melitensis* 16M suşu ile üreme özelliği gösteren *B. melitensis* Rev 1 kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.5.3. İ-Eritritol İçeren Besiyerinde Üreme

Çalışmada incelenen sığır orijinli izolatların *B. abortus* S19 suşundan ayrımı amacıyla i-eritritol (1 µg/ml) içeren SDA besiyerlerine ekimleri yapıldı. Ekim işlemi sıvı gliserinli besiyerinden steril svaplar yardımıyla ve her petride birbirine paralel yatay şeritler halinde dört izolat olacak şekilde yapıldı. Petriler 37 °C'de, %5-10 CO₂' li ortamda inkübe edildi. İzolatlar, 5-6 günlük inkübasyon süresini takiben i-eritritol içeren besiyerinde üreme durumuna göre değerlendirildi. Kontrol olarak i-eritritol içeren besiyerinde üremeyen *B.abortus* S19 suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.6. Boyalı Besiyerlerinde Üreme Durumu

2.3.6.1. Tiyonin Varlığında Üreme

İzolatlar tiyonin (1/50.000) içeren SDA besiyerlerine birbirine paralel yatay şeritler halinde inoküle edildi. Ekim işlemi sıvı gliserinli besiyerinden steril svaplar yardımıyla, her petriye dört adet izolat inoküle edilecek şekilde yapıldı. Petriler 37 °C'de, %5-10 CO₂' li ortamda inkübe edildi. İzolatlar, 5-6 günlük inkübasyon süresini takiben tiyoninli besiyerinde üreme durumuna göre değerlendirildi. Kontrol olarak tiyoninli besiyerinde üreme göstermeyen *B. abortus* 544 suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.6.2. Bazik Fuksin Varlığında Üreme

İzolatlar bazik fuksin (1/50.000) içeren SDA besiyerlerine birbirine paralel yatay şeritler halinde inoküle edildi. Ekim işlemi sıvı gliserinli besiyerinden steril svaplar yardımıyla ve her petriye dört adet izolat olacak şekilde yapıldı. Petriler 37 °C'de, %5-10 CO₂' li ortamda inkübe edildi. İzolatlar, 5-6 günlük inkübasyon süresini takiben bazik fuksinli besiyerinde üreme durumuna göre değerlendirildi. Kontrol olarak bazik fuksinli besiyerinde üremeyen *B. abortus* 86/8/59 suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

2.3.6.3. Safranin–O Varlığında Üreme

İzolatlar safranin-O (1/10.000) içeren SDA besiyerlerine birbirine paralel yatay şeritler halinde inoküle edildi. Ekim işlemi sıvı gliserinli besiyerinden steril svaplar yardımıyla ve her petriye dört adet izolat olacak şekilde yapıldı. Petriler 37 °C'de, %5-10 CO₂' li ortamda inkübe edildi. İzolatlar, 5-6 günlük inkübasyon süresini takiben safranin-O içeren besiyerinde üreme durumuna göre değerlendirildi. Kontrol olarak safranin–O içeren besiyerinde üremeyen *B. suis* 1330 suşu kullanıldı (Alton GG ve ark, 1988).

Sıra No	Numune Kodu	Türü	Bulunan Materyaller	İl - İlçesi	Numunenin Geliş Tarihi	Numunenin Sonuç Tarihi	Besi Yeri Sonuçları			Brucella'nın cinsi
							Farrell's Medium	Modified Thayer Martin Medium	CFTA Medium	
1	4982	Kuzu	KC - AC - B	Kocaeli / İzmit	01.10.2012	01.10.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
2	5011	Buzoğlu	KC - AC - B	Balıkesir / Dursunbey	02.10.2012	03.10.2012	+	+	+	B.abortus bt3
3	4393	Kuzu	KC - AC - B	Çanakkale / Ezine	10.09.2012	11.09.2012	-	-	-	-
4	2022	Kuzu	AC-KC-CMS	Çanakkale / Ayvacık	25.05.2012	28.05.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
5	4056	Kuzu	KC - AC - B	Edirne	22.08.2012	27.08.2012	-	-	-	-
6	2093	Kuzu	AC-KC-CMS	Balıkesir	30.05.2012	06.06.2012	+	+	+	-
7	2054	Kuzu	KC - AC - B	Balıkesir	26.11.2012	02.12.2012	+	+	+	B.melitensis Rev1
8	1289	Kuzu	KC - AC - B	İstanbul / Şile	16.04.2012	31.04.2012	-	-	-	-
9	2023	Kuzu	KC - AC - B	Balıkesir	25.05.2012	28.05.2012	+	+	+	B.melitensis Rev1
10	4048	Kuzu	KC - AC - D	Balıkesir / Keles	22.08.2012	28.08.2012	-	-	-	-
11	2026	Buzoğlu	KC - AC - B	Kocaeli / Kandıra	26.05.2012	30.05.2012	-	-	-	-
12	2018	Buzoğlu	KC - AC - B	Hayrabolu / Tekirdağ	25.05.2012	29.05.2012	-	-	-	-
13	5024	Buzoğlu	AC - KC - CMS	Kocaeli / Kandıra	26.05.2012	29.05.2012	-	-	-	-
14	2095	Kuzu	AC - KC - CMS	Çanakkale / Gelibolu	29.05.2012	03.06.2012	-	-	-	-
15	2431	Buzoğlu	KC - AC - B	Kocaeli / Kandıra	26.05.2012	29.05.2012	-	-	-	-
16	5634	Buzoğlu	KC - AC - B - CMS	Kocaeli / Kandıra	05.11.2012	09.11.2012	-	-	-	-
17	5938	Buzoğlu	KC - AC - B - CMS	Kocaeli / Kandıra	26.05.2012	29.05.2012	-	-	-	-
18	5942	Kuzu	KC - AC - B	Balıkesir / Balya	19.11.2012	22.11.2012	-	-	-	-
19	5952	Oğlak	KC - AC - B	Bilecik / Bozüyük	19.11.2012	22.11.2012	-	-	-	-
20	5610	Kuzu	KC - AC - CMS	Balıkesir	01.11.2012	05.11.2012	-	-	-	-
21	1329	Kuzu	KC - AC - B	Kırklareli	18.04.2012	22.04.2012	-	-	-	-
22	1289	Kuzu	KC - AC - B - CMS	İstanbul / Şile	16.04.2012	20.04.2012	-	-	-	-
23	1238	Kuzu	KC - AC - B - CMS	Balıkesir	10.04.2012	14.04.2012	-	-	-	-
24	1212	Kuzu	KC - AC - B	Bursa / Osmangazi	05.04.2012	09.04.2012	-	-	-	-
25	1217	Kuzu	KC - AC - B - CMS	Balıkesir	06.04.2012	10.04.2012	-	-	-	-
26	2022	Kuzu	KC - AC - B	Balıkesir / Ayvalık	25.05.2012	28.05.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
27*	1308	Kuzu	KC - AC - B	Balıkesir	16.04.2012	18.04.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
28*	1866	Manda	KC - AC - B	Düzce / Gölyaka	18.05.2012	20.05.2012	+	+	+	B.abortus bt3
29	843	Kuzu	KC - AC - B - CMS	Kocaeli / Dilovası	12.03.2012	16.03.2012	-	-	-	-
30	1143	Kuzu	KC - AC - B	Edirne	02.04.2012	06.04.2012	-	-	-	-
31	5119	Buzoğlu	KC - AC - B - CMS	Balıkesir / Dursunbey	08.10.2012	14.10.2012	-	-	-	-
32	1506	Buzoğlu	KC - AC - B - CMS	Düzce / Cumayeri	30.04.2012	02.05.2012	-	-	-	-
33	1006	Oğlak	KC - AC - B	Bursa / Yenişehir	22.03.2012	26.03.2012	-	-	-	-
34	877	Kuzu	KC - AC - B - CMS	Edirne / İpsala	12.03.2012	16.03.2012	-	-	-	-
35	879	Kuzu	KC - AC - B	Kırklareli	13.03.2012	16.03.2012	-	-	-	-
36	904	Kuzu	KC - AC - B - CMS	Kocaeli / Karamürsel	15.03.2012	19.03.2012	-	-	-	-
37	863	Kuzu	KC - AC - B	Kocaeli / Gebze	13.03.2012	16.03.2012	-	-	-	-
38	3029	Buzoğlu	KC - AC - B - CMS	İstanbul / Amasra	05.07.2012	07.07.2012	+	+	+	B.abortus bt3
39	3061	Buzoğlu	KC - AC - B	Sakarya / Adapazarı	06.07.2012	11.07.2012	-	-	-	-
40	951	Oğlak	KC - AC - B	İstanbul / Maltepe	20.03.2012	24.03.2012	-	-	-	-
41	898	Kuzu	KC - AC - B	Kırklareli	15.03.2012	19.03.2012	-	-	-	-
42	1171	Kuzu	KC - AC - B	Balıkesir	03.04.2012	07.04.2012	-	-	-	-
43	926	Oğlak	KC - AC - B	İstanbul / Maltepe	17.03.2012	21.03.2012	-	-	-	-
44	1736	Manda	KC - AC - B	Kırklareli	11.05.2012	14.05.2012	+	+	+	B.abortus bt3
45	1237	Oğlak	AC - KC - CMS	Sakarya / Taraklı	10.04.2012	14.04.2012	-	-	-	-
46	1088	Kuzu	KC - AC - B	Çanakkale / Biga	28.03.2012	02.04.2012	-	-	-	-
47	2590	Kuzu	AC - KC - CMS	Kırklareli	18.06.2012	22.06.2012	-	-	-	-
48	1110	Kuzu	AC - KC - CMS	Balıkesir / Balya	29.03.2012	02.04.2012	-	-	-	-
49*	6264	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Çanakkale / Gelibolu	28.11.2012	30.11.2012	+	-	-	Brucella melitensis biyotip 3+Rev1 aşısı
50	6055	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Bursa / Osmangazi	22.11.2012	26.11.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
51	6290	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Düzce / Yeşilca	30.11.2012	05.12.2012	-	-	-	-
52	6236	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Kırklareli	27.11.2012	03.12.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
53*	6234	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Sakarya / Karapürçek	27.11.2012	03.12.2012	+	-	-	Brucella melitensis biyotip 3+Rev1 aşısı
54	6253	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Balıkesir	28.11.2012	04.12.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
55	6033	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kocaeli / Gebze	23.11.2012	28.11.2012	-	-	-	-
56	6298	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Bilecik / Bozüyük	29.11.2012	02.12.2012	-	-	-	-
57	6252	Oğlak	AC - KC - B - CMS	Balıkesir / Durhaniye	27.11.2012	01.12.2012	-	-	-	-
58	6297	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Düzce / Gölyaka	30.11.2012	03.12.2012	-	-	-	-
59	6296	Kuzu	AC - KC - B - CMS	İstanbul / Tuzla	30.11.2012	03.12.2012	-	-	-	-
60	6074	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kocaeli / Gebze	26.11.2012	30.11.2012	-	-	-	-
61*	6075	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Balıkesir	22.11.2012	26.11.2012	+	-	+	B.melitensis bt3
62	6072	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Edirne / Enez	22.11.2012	26.11.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
63	6277	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Edirne / Lalapaşa	29.11.2012	04.12.2012	-	-	-	-
64	6335	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Düzce / Gölyaka	03.12.2012	08.12.2012	-	-	-	-
65	6330	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kocaeli / Körfez	03.12.2012	05.12.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
66	6328	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Kırklareli	30.11.2012	03.12.2012	+	+	+	B.melitensis bt3
67	6344	Buzoğlu	AC - KC - CMS	Kırklareli	04.12.2012	12.12.2012	-	-	-	-
68	8	Kuzu	AC - KC - CMS	Kırklareli	31.12.2012	03.01.2013	-	-	-	-
69	34/1	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Bursa / Osmangazi	04.01.2013	15.01.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
70	34	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Bursa / Osmangazi	04.01.2013	09.01.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
71	33	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kırklareli	04.01.2013	10.01.2013	-	-	-	-
72	26	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Balıkesir / Balya	04.01.2013	15.01.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
73	27	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Balıkesir / Balya	04.01.2013	10.01.2013	-	-	-	-
74	42	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Düzce / Kaynaşlı	07.01.2013	25.01.2013	+	+	+	B.melitensis Rev1
75	57	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Balıkesir	08.01.2013	11.01.2013	-	-	-	-
76	58	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kırklareli	08.01.2013	15.01.2013	-	-	-	-
77	59	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Çanakkale / Ezine	08.01.2013	11.01.2013	-	-	-	-
78	71	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Çanakkale / Biga	09.01.2013	16.01.2013	-	-	-	-
79	73	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Düzce	09.01.2013	25.01.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
80	75	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Düzce / Kaynaşlı	09.01.2013	25.01.2013	+	+	+	B.melitensis Rev1
81	52	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kırklareli / Kofçeçiz	10.01.2013	16.01.2013	-	-	-	-
82	85	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Edirne / Lalapaşa	10.01.2013	16.01.2013	-	-	-	-
83	86	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Balıkesir / Gönen	10.01.2013	16.01.2013	-	-	-	-
84	98	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Kırklareli / Pehlivanözü	11.01.2013	18.01.2013	-	-	-	-
85	103	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Edirne / Söğüt	11.01.2013	18.01.2013	-	-	-	-
86	107	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Bursa / Osmangazi	11.01.2013	05.02.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
87	109	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Düzce / Kaynaşlı	14.01.2013	05.02.2013	+	+	+	B.melitensis Rev1
88	112	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Bursa / Osmangazi	14.01.2013	05.02.2013	+	+	+	B.melitensis Rev1
89	123	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kocaeli / Gölcük	15.01.2013	21.01.2013	-	-	-	-
90	124	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Edirne	15.01.2013	05.02.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
91	128	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Edirne / İpsala	15.01.2013	05.02.2013	+	+	+	B.melitensis Rev1
92	132	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Çanakkale / Gelibolu	15.01.2013	05.02.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
93	137	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Kırklareli / Pehlivanözü	15.01.2013	18.01.2013	-	-	-	-
94	146	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Bursa / Osmangazi	16.01.2013	05.02.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
95	149	Oğlak	AC - KC - B - CMS	Kocaeli / Gebze	16.01.2013	21.01.2013	-	-	-	-
96	158	Buzoğlu	AC - KC - B - CMS	Bursa / Osmangazi	17.01.2013	24.01.2013	-	-	-	-
97	186	Oğlak	AC - KC - B - CMS	Düzce	21.01.2013	06.02.2013	+	+	+	B.melitensis bt3
98	205	Oğlak	AC - KC - B - CMS	Kırklareli	22.01.2013	28.01.2013	-	-	-	-
99	221	Kuzu	AC - KC - B - CMS	Edirne / İpsala	23.01.2013	28.01.2013	-	-	-	-
100	231	Oğlak	AC - KC - B - CMS	Balıkesir	24.01.2013	03.01.2013	+	+	+	B.melitensis bt3

Çizelge 3. Numune bilgileri ve sonuçları

3.BULGULAR

Bu çalışmada Ekim 2012 – Ocak 2013 tarihleri arasında Marmara Bölgesi'nden Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne gelen toplam 100 ruminant abort materyali *Brucella* cinsi bakterilerin varlığı açısından araştırıldı.

Organlardan ve mide içeriğinden hazırlanan hazırlanan homojenatlar Farrell's Medium, Modified Thayer Martin Medium ve CITA Medium besiyerlerine ekimlerinin ardından %5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda oluşan kolonilerin morfolojileri incelendi. Mikroskop altında yapılan incelemeler sonrasında smooth, şeffaf, şebnem tanesi görünümünde morfoloji gösteren şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı ve bunların gram negatif küçük kokobasiller şeklinde olduğu gözlemlendi. İncelenen 100 abort örneğinin Farrell's Medium'da 34 (%34) tanesinin, Modified Thayer Martin Medium'da 29 (%29) tanesinin ve CITA Medium'da 32 (%32) tanesinin *Brucella spp.* yönünden şüpheli koloniler olduğu gözlenmiştir.

Şüpheli kolonilere katalaz testinde tümünde köpüklenmenin şekillendiği, üreaz testinde tümünde pembe rengin oluştuğu, oksidaz testinde tümünde oksidaz çubuğunun ucundaki eflatun bölgenin mor renge dönüştüğü, hidrojen sülfür (H₂S) üretimi testinde ise izolatlara ait kurşun asetatlı kağıtların siyahlaştığı gözlenmiş ve biyokimyasal testlerin pozitif olduğu gözlemlendi.

Polivalan (A+M) anti-*Brucella* serumu ile lam aglütinasyon testi sonucunda *Brucella spp.* yönünden şüpheli izolatlara ait kolonilerin tümünün aglütinasyon gösterdikleri belirlendi.

Şüpheli koloniler doğrulama ve tiplendirme amacıyla Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Serolojik Teşhis ve *Brucella* Referans Laboratuvarı'nda boyalı besiyerlerinde üremeleri için ekimler yapıldı. İnkübasyon sonucunda 2, 28, 38 ve 44 sıra numaralı atık örneklerinin *B.abortus* biyotip 3 oldukları; 1, 4, 26, 27, 50, 52, 54, 61, 62, 65, 66, 69, 70, 72, 79, 86, 90, 92, 94, 97 ve 100 sıra numaralı atık örneklerinin *B.melitensis* biyotip 3 oldukları; 7, 9, 74, 80, 87, 88 ve 91 sıra numaralı atık örneklerinin *B.melitensis* Rev-1 yani aşı suşu oldukları; 49 ve 53 sıra numaralı atık örneklerinin *B.melitensis* biyotip 3 ve Rev-1 yani MİX enfeksiyon oldukları gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre Farrell's Medium'da incelenen 34 adet abort örneğinin 4 (%11,7) tanesinin *B.abortus* biyotip 3; 21 (%61,7) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3; 7 (%20,6) tanesinin *B.melitensis* Rev-1 yani aşı suşu; 2 (%5,9) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3 ve Rev-1 yani MİX enfeksiyon oldukları

gözlenmiştir. Aynı şekilde Modified Thayer Martin Medium'da incelenen 29 adet abort örneğinin 3 (%10,3) tanesinin *B.abortus* biyotip 3; 19 (%65,5) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3; 7 (%24,1) tanesinin *B.melitensis* Rev-1 yani aşı suşu oldukları gözlenmiştir. Yine aynı şekilde CITA Medium'da incelenen 32 adet abort örneğinin 4 (%12,5) tanesinin *B.abortus* biyotip 3; 21 (%61,8) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3; 7 (%21,9) tanesinin *B.melitensis* Rev-1 yani aşı suşu oldukları gözlenmiştir.

Yapılan ekimlerde, inkübasyon sonrasında Farrell's Medium'da 66 adet negatif gözlenmiş yani üreme görülememiştir. Bu durum Modified Thayer Martin Medium'da 65 adet negatif ve 6 adet kontamine sonuç gözlenmiştir. CITA Medium'da ise 62 adet negatif ve 2 adet kontamine sonuç gözlenmiştir. 10, 13, 15, 17, 89, 99 sıra numaralı abort örnekleri Modified Thayer Martin Mediumda; 17 ve 99 sıra numaralı abort örnekleri CITA Medium'larda kontamine üreme yaparken aynı örneklerde Farrell's Medium'da herhangi bir üreme gözlenmemiştir.

Bununla birlikte 51 ve 55 sıra numaralı örneklerde Modified Thayer Martin Medium'da ve CITA Medium'da üreme gözlenmezken Farrell's Medium'da *Brucella* spp. üremesi gözlenmiştir. Aynı şekilde 29, 30 ve 63 sıra numaralı örneklerde Farrell's Medium'da ve CITA Medium'da *Brucella* spp. üremesi gözlenirken Modified Thayer Martin Medium'da üreme gözlenmemiştir. Tüm sonuçlar aşağıdaki tabloda yer almaktadır.

4.TARTIŞMA

Brucellosis, hem dünyada hem de ülkemizde bir enfeksiyöz hastalık olarak önemini sürdürmektedir. Sığırlarda yavru atması, kısırlık ve süt veriminde azalmaya sebep olması nedeniyle büyük ekonomik kayıplara yol açan bu hastalığın insanlara da bulaşarak halk sağlığı açısından tehlike oluşturduğu bilinmektedir (Cengiz, 2000; Fazlı, 2000; Sümer., 2000; İyisan., 2001).

Dünyanın birçok ülkesinde brucellosis ile mücadele kampanyaları başlatılmış ve başta ABD, İngiltere, Hollanda gibi birkaç ülke sığır brucellosisini yok denecek kadar azaltmayı başarmış olmasına karşın, insan brucellosisinde en önemli rolü oynayan koyun ve keçi brucellosisi ise başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın bir çok yerinde halen yaygın bir şekilde devam etmektedir. Hastalık Afrika, Orta Doğu, Orta ve Güney Amerika'da ve gelişmekte olan ülkelerde önemli tehlike oluşturmaktadır. Akdeniz ülkelerinde ise bu enfeksiyon birçok hastalık arasında ön sıralarda yer almaktadır (Alvarez ve ark 2010).

Türkiye'de, ulusal brucellosis kontrol ve eradikasyon programını 1984 yılında başlatmıştır. Program uygulama ve başarı 26 yıl üzerinden planlanmıştır. Gerçekleştirilecek planın stratejisi, 4-8 aylık yaştaki tüm dişi buzağuların S-19, kuzu ve oğlakların Rev-1 ile aşılması üzerine kurulmuştur. Tazminatlı test ve kesim planlanmamıştır. 1989 yılında brucellosisi prevalansı sığırlarda ve koyun-keçilerde sırası ile %3,56 ve %1,26 iken, 1990'da, %1,2 ve %2.02, 1991 de %1.01, %1,83 bulunmuştur. 1998'de sığırlar için %1.43, koyunlar için % 1.97 dir. Brucellosis'in sürü prevalansı sığırlarda % 11.4, koyun-keçilerde ise % 15'tir (İyisan 2006, WHO 1999).

Türkiye'de tüm ülke genelinde Haziran 2011 yılında Türkiye-Hollanda Ortak Projesi "Türkiye'de Brucelloz ve Tüberkülozun Kontrol Stratejisinin Belirlenmesi Projesi"nde yapılan Brusella sero-surveyine göre sığırlarda sürü prevalansı %7.8 (fert prevalansı %2,7) ve koyunlarda sürü prevalansı %22.5 (fert prevalansı %3.4) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen son verilerin ışığı altında Brucella hastalığı ile mücadelede kitle aşılması etkili tek yöntem olarak önerilmiştir.

Brucelloz hastalığının hayvanlardan hayvanlara en sık bulaşma yolu atık fötüs ve atık materyalleri olması ve bu etkeni izole etmenin önemi büyük olması nedeniyle Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne gönderilen atık materyallerinden Farrelll's Medium, Modified Thayer Martin Medium ve CITA Medium olmak üzere bu üç selektif besi

yerlerine ekimler yapılmış ve ilk izolasyon oranlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Farrell's medium, *B.abortus* ve *B.melitensis* türleriyle enfekte hayvanların kontamine atık materyallerinden ilk izolasyon için tercih edilmesi gereken bir besi yeridir. Bununla birlikte yeni selektif besiyeri olan CITA medium'un içindeki amphoteresin B antibiyotiğinin litreye 4 mg. katılması mantar kontaminanları modified Thayer Martin medium'a oranla daha çok inhibe etmiş ve *Brucella* türlerinin üremesine engel olmamıştır. Ayrıca temel bileşen olarak içerdiği BAB-CS ile de besiyerinin şeffaf olması stereo mikroskopla bakıldığında kolonilerin morfolojilerini belirlemede de kolaylık sağlamaktadır. Buradan da CITA medium'un *Brucella* cinsi etkenlerin izolasyonda kullanılmasının uygun olduğu sonucu çıkmaktadır. Selektif besiyerlerinin bileşiklerinde serum olması da önemli bir etkidir. Bu sayede tüm *Brucella* türleri en hızlı biçimde üremektedir.

Ülkemizde ve dünyada hayvansal gıdalarda *Brucella* varlığının saptanmasına yönelik çeşitli araştırmalar ve çalışmalar yapılmıştır;

Yıldırıncı ve Nazlı (1991), tarafından İstanbul bölgesinde 50 adet değişik tulum peyniri numunesi *B.melitensis* 'in varlığı yönünde araştırma yapılmışlar ve *B.melitensis* ilave edilen koyun ve inek sütleri ile deneysel tulum peyniri numuneleri hazırlanmıştır. *Brucella* grubu mikroorganizmaların izolasyonu için temel besi yeri olarak Trypticase Soy Agar kullanılmıştır ve besi yerine selektivite kazandırmak için antibiyotik ayrıca %5 serum dekstrose ve at serumu ilave edilmiştir. Çalışma enfekte edilmiş sütlerle yapılan peynir örneklerinde olgunlaşmanın 30. gününe kadar *B.melitensis* izole etmişlerdir.

Tunçbilek (1992), tarafından Ankara'da tüketime sunulan 100 adet Beyaz peynir örneğinin 4'ünden (%4) *Brucella* etkenini Farrell's Medium izole etmiş, bu etkenlerinin 1'i *B.abortus*, 3'ü *B.melitensis* olduğu saptanmıştır. 100 örneğin 76'sı çiğ sütlerden, 24'ü pastörize sütlerden hazırlanmıştır. *Brucella* izolasyonlarının tümünün çiğ sütlerden yapılan peynirlerde olduğu saptanmıştır.

Sancak ve ark.(1993), tarafından Van ili 1992 yılı Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında 39 adet taze otlu peynir numunesi Brucelloz riski yönünden incelenmiştir. Peynir örnekleri Farrell buyyon'lu besi yerine ekim yapılarak %10 CO₂ ortamda 37 ° C 'de 5 gün inkübe edilmiştir. Sonra Farrell agarda %10 CO₂'li ortamda 37 °C' de 3 - 5 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerden 7 tanesinde *Brucella* türleri izole edilmiştir ve 6'sı *B.melitensis*, 1'i ise *B.abortus* olarak tanımlanmıştır.

Kalender ve ark (2001), tarafından Elazığ, Erzincan ve Tunceli illerinden örnek olarak 78 tane taze tulum peyniri numunesi toplamışlardır. Bu çalışmada; besi yeri olarak Brucella Selektif Agar, Serum Dekstrose Agar ve karaciğer infüzyon buyyon kullanarak %10 CO₂'li ve aerop ortamda 7 - 10 gün inkübasyona bırakmışlardır. Örneklerin 16'sında *Brucella spp.* suşu izole etmişlerdir. Bunların 13 tanesini *B.meliensis* ve 3 tanesini *B.abortus* olarak identifiye etmişlerdir.

Acedo ve ark.(1997), tarafından Meksika'da 289 çiğ süt örneğinde ve 335 adet Meksika Beyaz yumuşak peynirlerinden *Brucella* türlerini izole etmek için yaptıkları çalışmada numuneleri ön zenginleştirmeye bıraktıktan sonra; glyserol ve dextrose ilavesiyle zenginleştirdikleri katı besi yerlerinde *Brucella* türlerini izole etmişlerdir. Çiğ süt örneklerinin 7 tanesi, peynir örneklerinin 25 tanesini pozitif olarak tespit etmişlerdir. Pozitif örneklerinin 21 adedi *B.abortus*, 7 adedi *B.melitensis* olarak belirlemişlerdir.

Kuzdas ve Morse (1953), Madison'daki Wisconsin Üniversitesi'nde yaptığı kontamine materyalden *Brucella* etkeni izolasyonu çalışmalarında 1:1000000 oranında kristal viole ekledikleri Albimini Brucella Medium kullanmışlardır. Bu agara antibiyotik ilavesi olarak 6000 ünite polimiksin B sülfat, 100 mg. Aktidiyon, 25000 ünite bakitrasin ve 15000 ünite sirculin eklemişler ve *B.suis*, *B.abortus* ve *B.melitensis* izole etmeyi başarmışlardır (Kuzdas CD ve Morse EV, 1953).

Martin ve ark. (1996), doğal enfekte toplamda 280 adet koyun ve 60 adet keçinin atıklarından ve sütlerini Farrell's medium ve modified ThayerMartin's medium'a ekim yaptıkları çalışmalarında 142 adet koyunun *B.melitensis* olduğunu bulmuşlardır. 142 adet örnekte Farrell's mediumda 132 adet pozitif bulurlarken modified ThayerMartin's medium'da ise 141 adet pozitif bulmuşlardır. Aynı şekilde 39 adet keçiden *B.melitensis* izole etmişler ve bu 39 adet örnekte Farrell's medium da 39 adet pozitif bulurlarken modified ThayerMartin's medium'da ise 39 adet pozitif bulmuşlardır. Çalışma sonucunda her iki besiyerinin de aynı anda kullanılmasının *B.melitensis*'in izolasyonunda duyarlılığı artıracağını belirtmişlerdir (Marín, C. M., M. P. Jime'nez-de-Bagu'e's, M. Barbera'n, and J. M. Blasco, 1996).

Farrell's medium, *B.abortus* ve *B.melitensis* türleriyle enfekte hayvanların kontamine atık materyallerinden ilk izolasyon için tercih edilmesi gereken bir besi yeri olduğu anlaşılmaktadır. Bunun sebebi de bu besi yerinde kullanılan buzağı serumudur. Besiyeri içinde yer alan sikloheksamid antikor desteğinin atık veteriner örnekleri içindeki

başlıca kontaminant olan mantarların üremesini engellemek açısından son derece etkilidir. Bu ajan ribozomlardan mRNA translasyonun oluşumunu engeller ve mantarların protein sentezini engeller (Farrell ID, 1974).

Her ve ark. (2010), Kore'de yaptıkları çalışmada Farrell's medium ile antibiyotiklerle geliştirdikleri Brucella selektif MBS medium'u karşılaştırmışlar ve çalıştıkları 108 ö adet örnekte 100 adedi (%93) MBS mediumda üreme olurken, 92 adedi (%85) Farrell's mediumda üreme göstermiştir. Sonuç olarak da kontamine örneklerle çalışmada her iki besiyerinin de kullanılması gerekliliğine vurgu yapmışlardır.(Her M ve ark, 2010).

5.SONUÇ

Bakteri kültürlerinin izolasyonunda başarı için selektif besiyerlerinin kullanımı büyük öneme sahiptir. Ayrıca *Brucella*'nın rutin teşhisi için de gereklidir. Şimdiye kadar çeşitli besiyerleri kullanılarak değişik izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu araştırmamızda kullanıldığımız selektif besiyerlerinin rutinde de birlikte kullanılması birbirlerine yakın bağlantılı *Brucella* türlerinin yüksek sevide duyarlılıktaki izolasyonları bakımından önemli olduğunu açıklar. Farrell's medium *Brucella* türlerinin izolasyonunda çok yaygın olarak kullanılan bir besiyeridir. Sahadan gelen hayvan örneklerindeki birçok kontaminantın üremesini engellediğini göstermiştir.

Bu çalışmada incelenen 100 abort örneğinin Farrell's Medium'da 34 (%34) tanesinin, Modified Thayer Martin Medium'da 29 (%29) tanesinin ve CITA Medium'da 32 (%32) tanesinin *Brucella spp.* yönünden şüpheli koloniler olduğu gözlemlendi. Farrell's Medium'da incelenen 34 adet abort örneğinin 4 (%11,7) tanesinin *B.abortus* biyotip 3; 21 (%61,7) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3; 7 (%20,6) tanesinin *B.melitensis* Rev-1 yani aşı suşu; 2 (%5,9) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3 ve Rev-1 yani MİX enfeksiyon oldukları gözlemlenmiştir. Aynı şekilde Modified Thayer Martin Medium'da incelenen 29 adet abort örneğinin 3 (%10,3) tanesinin *B.abortus* biyotip 3; 19 (%65,5) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3; 7 (%24,1) tanesinin *B.melitensis* Rev-1 yani aşı suşu oldukları gözlemlenmiştir. Yine aynı şekilde CITA Medium'da incelenen 32 adet abort örneğinin 4 (%12,5) tanesinin *B.abortus* biyotip 3; 21 (%61,8) tanesinin *B.melitensis* biyotip 3; 7 (%21,9) tanesinin *B.melitensis* Rev-1 yani aşı suşu oldukları gözlemlendi. İnkübasyon sonrasında Farrell's Medium'da 66 adet üreme olmadı, bu durum Modified Thayer Martin Medium'da 65 adet negatif ve 6 adet kontamine, CITA Medium'da ise 62 adet negatif ve 2 adet kontamine sonuç gözlemlendi.

Sonuç olarak CITA medium veteriner saha örneklerinden *Brucella* türlerinin izolasyonunda faydalı bir araç olarak göz önünde bulundurulmadır. Bununla birlikte atık materyallarının ilk izolasyonlarında eş zamanlı olarak Farrell's medium ya da modified Thayer Martin medium kullanılması teşhis performansının en iyi olmasını sağlar.

ÖZET

Sığır ve Koyun Abortlarından *Brucella spp.* İzolasyonunda Selektif Besiyerlerinin Karşılaştırılması

Bu çalışmada, Ekim 2012 ile Ocak 2013 tarihleri arasında Marmara Bölgesi'nden Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne gönderilen 20 adet sığır atık materyali, 68 adet koyun atık materyali, 10 adet keçi atık materyali ve 2 adet manda atık materyali olmak üzere toplamda 100 adet atık örneği *Brucella* cinsi bakterilerin varlığı açısından araştırıldı. İzolasyon amacıyla Farrell's medium, modifiye Thayer Martin medium ve CITA medium'a aborte fetüslerin abomasum içeriklerinden ve iç organlarından hazırlanan homojenatlar inokule edildi.

İnokulasyon sonrası incelenen 100 adet abort örneğinin Farrell's Medium'da 34 (%34) tanesinin, Modified Thayer Martin Medium'da 29 (%29) tanesinin ve CITA Medium'da 32 (%32) tanesinin *Brucella spp.* yönünden şüpheli koloniler olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak CITA medium veteriner saha örneklerinden *Brucella* türlerinin izolasyonunda faydalı bir araç olarak göz önünde bulundurulmadır. Bununla birlikte atık materyallerinin ilk izolasyonlarında CITA medium, Farrell's medium ve modified Thayer Martin medium'un eş zamanlı olarak kullanılması teşhis performansının en iyi olmasını sağlar.

Anahtar Sözcükler: *Brucella spp.*, sığır, manda, koyun, keçi, abortus, biyotiplendirme, CITA, Farrell's, modifiye Thayer Martin

SUMMARY

The Comparison of Different Selective Media into Isolation of *Brucella* spp from Cattle and Sheep Abortion

In this study, between the period of October 2012 and January 2013, abort material of 20 cattles, 68 sheeps, 9 goats and 2 buffalos with in totally 100 abort sample which were sent from region of Marmara to Pendik Veterinary Institute were investigated about the presence of *Brucella* bacteria. Abomasum content and homogenates from internal organs of the aborted fetuses were inoculated into Farrell's medium, modified Thayer Martin medium and CITA medium.

Suspicious colonies by *Brucella spp.were* observed in Farrell's Medium 34 (%34) times, in Modified Thayer Martin Medium 29 (%29) times and in CITA Medium 32 (%32) times , after inoculation of 100 abort sample.

Consequently, CITA medium should be evaluated as a beneficial tool for isolation of *Brucella* species which is a veterinary field sample. However, using CITA medium, Farrell's medium and modified Thayer Martin medium simultaneously, guarantee the best determination performance of first isolation of abort material.

Keywords: *Brucella* spp, cattle, buffalo, ship, goat, abortus, biotyping, CITA, Farrell's, modified Thayer Martin

KAYNAKLAR

Acedo, E., Diaz, M. E., Leon, A. B., " Incidencia de Brucella spp.", En Leche Cruda Y Queso Fresco Regional, Alimentaria, 57-60 (1997).

Akan E, " Tıbbi Mikrobiyoloji ", *Oba Kitabevi*, Konya, 173-184 (1986).

Akman, M., Gülmezoğlu, E., "Tıbbi Mikrobiyoloji", *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, Ankara, 480-485 (1976).

Akova, M., Uzun, O., Akalın, H. E., ve ark., "Quinolones in treatment of human brucellosis", Comparative trial ofloxacin- rifampin versus doxycycline- rifampin, *Antimicrob Agents Chemother*, 37: 1831 (1993).

Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Techniques for the brucellosis laboratory, INRA, Paris, page 13- 61, 1988.

Anonim. European Commission Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, SANCO.C.2/ AH/ R23/ 2001, Brucellosis in Sheep and Goats (*Brucella melitensis*), 2001.

Anonymous, "Joint **FAO/WHO** expert committee on *Brucellosis* sixth report", *WHO technical report series*, Geneva, 740 (1986).

Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Akay Ö. Özel Mikrobiyoloji-Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik Enfeksiyonlar. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 741, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, s: 197-223, 1992.

Arda M. Bruselloz'da laboratuvar tanı yöntemleri. XIX Türk Mikrobiyoloji Kongresi Rapor ve Ana Konuları, Ankara, 14-16 Ekim 1980.

Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M., Leloğlu, N., Kahraman, M., Ilgaz, A., Diker, K.S.: Özel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi No: 26, Ankara, 1997; 110-124.

Arnaw, Smaron M, Ormiste V. " Brucellosis in a group of travelers to spain", *JAMA*, 251 (4): 505-507 (1984).

Arslan, A.: Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Yayınları, Elazığ, 2002; 101-103.

Ayaz, Y., "Ankara piyasasında satılan beyaz peynirlerde Brucellosis etkenlerinin araştırılması", *Etlik Vet. Mikrobiyol. Enst. Derg.*, 5: 109-116 (1986).

Aytuğ, C.N., Alaçam, E., Görgül, S.: Sığır Hastalıkları. Tüm Vet. Hayvancılık Hizmetleri Yayını, İstanbul, 1989; 214-221.

Balci, İ., Güngör, S., Berktaş, M., " Mikro ve makrotitrasyon- ELISA plaklarında yapılan Brucella mikroaglutinasyon testi sonuçlarının kalsik Wright aglutinasyon testi ile karşılaştırılması", *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 24: 170-173 (1994).

Banai, M. (2002). Control of small ruminant brucellosis by use of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine: laboratory aspects and field applications. (A special issue on brucellosis, (guest

editors, S.M. Halling and S.M. Boyle), Vet. Microbiol. 90, Issues 1 – 4, pp. 497 – 519.

Baysal B. Brucella. Ed: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; 571-577 .

Bilgehan H. Brucella. Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. 10. basım. İzmir. 2000 ; 199-214 .

Bilgehan, H., "Klinik Mikrobiyoloji Tanı, 2.Basım", Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir, 224-229 (1995).

Bulgaria 2007 , Anonymous

Byrd, J. W., Heck, F. C., Hidalgo, R. J., "Evolution of the Enzym-Linked Immunosorbent Assay for detection *Brucella abortus* antibodies", *J.Vet, Res.*, 40: 896-898 (1979).

Cargill, C., Lee, K., Clarke, I., "Use of an Enzyme- Linked Immunosorbent Assay in bovine *Brucellosis* eradikation program", *Aust. Vet. J.*, 62: 49-52 (1985).

Chu MC, Weyant RS. Francisella and Brucella. Murray PR (Ed). Manuel of Clinical Microbiology, 8th Edition, Volume 1, ASM Pres Washington, D.C., p:797-805, 2003.

Corbel,M.J.," International committee on systematic bacteriology subcommittee on the toxonomy of Brucella", *int. J. Syst. Bacteriol*, 38 (4): 450-452 (1988).

Cyprus Report, 2009 , Anonymous

Davis R, Bickett-Weddle D, Holzbauer S, Gladon J. Iowa State University Centre for Food Security And Public Health. Presentation: Brucellosis.

Deyoe B.L., Dorsey T.A., Meredith K.B. (1979): Effect of reduced dosages of *B. abortus* S19 in cattle vaccinated as yearlings in proceedings 83 rd Annula meeting, *Us Animal Health Assiciation*,

Diker S, istanbulluoğlu E, Ayhan H, Soysal G. Bursa bölgesindeki insanlarda Brucella canis infeksiyonları üzerinde serolojik bir inceleme. Mikrobiyol Bült 18 (4): 203–207, 1984.

Disarno, A., Izzi, R., Sandulli, S., Santagata, N., "*Brucella melitensis* Isolation From Fresh Sheep Cheese-Etiology and Epidemiology Indistrie Alimentary", *J. Clin. Microbiol*, 31:3 (1992).

Dubos JR, Hirsch GJ. Bacterial And Mycotic Infections Of Man. Fourth Edition, JB Lippincott Company, Philadelphia, Toronto. p: 698-723, 1965.)

Elberg, S. S., Henderson, D. W., " Respiratory pathogenicity of *Brucella*", *J. Infect. Dis.*, 82: 302-306 (1948).

Erganiş O, İstanbulluoğlu E, Paşa D, Önder T, Özgen G (2009a) KKTC Sığır Brusellosisi Kontrol ve Eradikasyon Planı. Lefkoşa-KKTC.

Erganiş O, İstanbulluoğlu E, Paşa D, Önder T, Özgen G (2009b) KKTC Koyun-Keçi

Brusellosisi Kontrol ve Eradikasyon Planı. Lefkoşa-KKTC.

EU (2003). "In order to evaluate the progress of the bovine brucellosis eradication programme" Final report of mission carried out in Greece from 23-27 September 2002. . DG(SANCO/8629/2002).

Farrell, I. D. 1974. The development of a new selective medium for the isolation of *Brucella abortus* from contaminated sources. Res. Vet. Sci. 16: 280–286

Gilbert, G.L., Hawes, L.A., " The antibody response to Brucella", Immunglobulin response measured by enzyme- linked immunosorbent assay and conventional tests, Aust. N. Z. J. Med., 11: 40-45 (1981).

Gilbert, G.L., Hawes, L.A., " The antibody response to Brucella", Immunglobulin response measured by enzyme- linked immunosorbent assay and conventional tests, Aust. N. Z. J. Med., 11: 40-45 (1981).

Goldbaum, F.A., Leoni, J., Wallach, J.C., Fossati, C.A., " Characterization of an 18-kilodalton Brucella cytoplasmic protein which appears to be a serological marker of active infection of both human and bovine brucellosis", *J. Clin. Microbiol.*, 31 (8): 2141-2145 (1993).

Golem SB: Memleketimizdeki insan ve ehli hayvanlarda Brucella bakımından serolojik araştırma, *Türk Hıfız Tecr Biol Mec* /;105 (1943).

Gotuzzo E, Carrillo C: Brucella, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*, 2. baskı" kitabında s. 1837, WB Saunders Company, Philadelphia (1998).

Hagan W: The animal reservoirs of brucellosis, *Cornell Veterinarian* 26:14 (1973).

Hall, M., Thone, C. O., " Preparation of biologically active components of *Mycobacterium bovis*, using triton X-100 or Potassium Chloride", *Amer. J. Vet. Res.*, 44 (8): 1602-1604 (1983).

Heck, F.C., Williams, J.D., Prvett, J., Sanders, J., Zink, D.L., "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detecting antibodies to *Brucella abortus* in bovine milk and serum", *Amer. J. Vet. Res.*, 41: 2082-2094 (1980).

Heizmann, W., Botzenhart, K., Döller, G., et. al.," Brucellosis", Serological methods compared, *JHyg Camb.*, 95: 639-653 (1985).

Her, M., et al. 2010. The development of a selective medium for the *Brucella abortus* strains and its comparison with the currently recommended and used medium. *Diagn. Microbiol. Infect.* is. 67:15–21

Hoover D.L, Friedlander A.M. Brucellosis. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare 513-521.

Italy (2007) The Italian Eradication Programme for sheep and goat brucellosis. Ministry of Health.

İmren, H.Y., Şahal, M.: Veteriner İç Hastalıkları. Feryal Matbaacılık, Ankara, 1991; 2: 313-317.

İyisan AS, Akmaz Ö, Düzgün S ve ark: Türkiye'de sığır ve koyunlarda brusellozisin seroepidemi- yolojisi, *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 31:21 (2001).

İyisan S. (2006) hayvanlarda brusellosisinin epidemiyolojisi. I. Ulusal Zoonoz Kongresi, TOOB Konferans Salonu, Ankara.

J.A.Stack, A.P.MacMillan, FAO/WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Brucellosis . Brunet Publications, 2006.

Jelastopulu E, Bikas C, Petropoulos C and Leotsinidis M (2008) Incidence of human brucellosis in a rural area in Western Greece after the implementation of a vaccination programme against animal brucellosi. *BMC Public Health* 8:241.

Joklik KW, Willett PH, Amos BD, Wilfert MC (Eds). Zinsser Microbiology. Nineteenth Edition, Prentice-Hall international inc, p:514-518, 1988.

Kalender, H., Özcan, C., Arslan, N., " Taze tulum peynirlerinden Brusella izolasyonu", Türk Mikrobiyal Cem. Dergisi, 31: 184-186 (2001).

Koneman E , Winn W, Alen S, Janda W, Procop G. Schreckenberger P, Woods G. *Koneman 's Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* 8th Edition. Lippincott Willams & Wilkins. 2006; 482490.

Koneman WE, Allen DS, Janda MW, Schreckenberger CP, Winn CW. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fourth Edition. JB Lippincott Company, Philadelphia. p:334-338, 1992.

Kuzdas, C. D., and E. V. Morse. 1953. A selective medium for the isolation of brucellae from contaminated materials. *J. Bacteriol.* 66:502–504.

Lennette, H.E., Spaulding, H.E., Truant. P.J., " Manuel of Clinical Microbiology 2nd ed." *American Society for Microbiology,* Washington, 250269 (1974).

M. J. De Miguel, C. M. Marín, P. M. Muñoz, L Dieste, M. J. Grillo and J. M. Blasco (2011). Development of a Selective Culture Medium for Primary Isolation of the Main Brucella Species. *J. Clin. Microbiol,* 49, 1458-1463

Marin CM, Alabart JL, Blasco JM. Effect of antibiotics contained in two Brucella selective media on growth of *Brucella abortus* B melitensis and *B. ovis*. *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34, 426-428.

Marín, C. M., M. P. Jime'nez-de-Bagu'e's, M. Barbera'n, and J. M. Blasco. 1996. Comparison of two selective media for the isolation of *Brucella melitensis* from naturally infected sheep and goats. *Vet. Rec.* 138:399–411

Martin-Mazuelos, E., Nogales, M. C., "Outbreak of *Brucella melitensis* among microbiology laboratory workers", *J. Clin. Microbiol,* 32 (8): 2035-2036 (1994).

Martins H, Garin-Bastuji B, Lima F, Flor L, Pina Fonseca A and Boinas F (2009) Eradication of bovine brucellosis in the Azores, Portugal—Outcome of a 5-year programme (2002–2007) based on test-and-slaughter and RB51 vaccination. *Prev. Vet. Med.* 90: 80–89.

Meyer ME: Evolutionary development and taxonomy of the genus *Brucella*, "Adams LG (eds): *Advances in Brucellosis Research*" kitabında s. 12, Texas A&M University Press, Texas (1990).

Mikolich JD, Boyce MJ. Brucella Species. Mandell LG, Douglas GR, Bennett EJ. Principles And Practice Of infectious Diseases. Third Edition, Churchill Livingstone, Newyork, Edinburg, London, Melbourne. p:1735-1741.

Minas A, Minas M, Stournara A, and Tselepidis S. 2004. The "effects" of Rev.1 vaccination of sheep and goats on human brucellosis in Greece. *Preventive Veterinary Medicine* 64: 41–47.

Morgan, B. W. J., "Techniques in the identification and classification of *Brucella*", *Academic Press*, London and New York, 287 (1966).

Moyer, N.P., "Manual Clinical Microbiology, 6.ed.", Murray, P.R, Baron,E.J., Tenofers, F.C., American Society for Microbiology , Washington D.C.,457-462 (1991).

Moyer, N.P., Evins, G.M., Pigott, N.E., et.al., "Comparison of serologic screening tests for brucellosis", *J. Clin. Microbiol.*, 25 (10): 1969-1972 (1987).

Murray RP, Drew LW, Kobayashi SG, Thompson HJ. Medical Microbiology. Wolfe Publishing Limited, international Student Edition. p:155-157, 1990.

Nicoletti P. (2010): Brucellosis: Past, present and future, *Biol. Med. Sci.*,XXX/J, 21-32

Nicoletti, P. (1977): Adult vaccination in Crawford RP, Hidalgo RS (ed): Bovine brucellosis-An International symposium. *College Station, Texas A.M. University Press.*, 201-208.

OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 5th edition, 2004

OIE Manuel: Bovine Brucellosis, Vol II (B/012), 12 rue de Prony-75017, Paris (1990).

Özbal, Y., "Temel İmmünoloji 1.Baskı", *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 285 (1994).

Özsan K., "Brucellosis'in tarihçe ve etiyolojisi", *24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi*, Kayseri, 56-64 (1990).

Parrat, D., Nielsen, K.H., White, R.G., Payne, D.J.H., "Radioimmunoassay of IgM, IgG and IgA *Brucella* antibodies", *The Lancet*, 1: 1075-1078 (1977).

Portugal (2009) Sheep and goat brucellosis eradication programme. Epidemiological situation. SCoFCAH,Brussels,3-4th February 2008.

Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology, Mosby, Edinburgh, page 261- 267, 2000.

Rahaley, R. S., Denis, 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.*, 12: 467-470 (1983).

Renner DE, Hausler JW. Brucella. Balow A, Hausler WJ, Traunt JP, Lennette HE (Eds). Manual Of Clinical Microbiology. Third Edition, American Society For Microbiology, Washington DC, p:325-329, 1980.

Sağlam M. İnsanda brusellozun klinik belirtileri ve laboratuvar bulguları. XIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Rapor ve Ana Konuları, Ankara.14-16 Ekim 1980.

Sancak, Y. C., Boynukara, B., Yardımcı, H., " Van Otlu Peynirlerinde Brucella'ların Varlığı ve Dayanma Süresi Üzerinde Bir Araştırma", *Journal of Konya Animal diseases Research Institute*, 4 (1):1-3 (1993).

Sanz C, Saez JL, Alvarez J, Sanz C, Cortes M, Pereira G, Reyes A Rubio F, Martín J, García N, Domínguez L, Hermoso-de-Mendoza M, Hermoso-de-Mendoza J (2010) Mass vaccination as a complementary tool in the control of a severe outbreak of bovine brucellosis due to *Brucella abortus* in Extremadura, Spain. *Preventive Veterinary Medicine*.

Serpe, L., Battisti, A., Alfano, F., Gallo, P., " PCR Determination of *Brucella* spp. in Milk Products, Made and Commercialized in the Campania Region", *Industrie Alimentary*, 39 (388): 5-7 (2000).

Shapiro DS, Wong JD. Brucella. In: Murrey PR, Baron E, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Eds. Manual of Clinical Microbiology, 7. Edition, American Society for Microbiology, 1999; 625-629 .

Sippel, J.E., El-Masry, N.A., Farid, Z., " Diagnosis of human brucellosis with ELISA", *The Lancet*, 19-21 (1982).

Solmaz, H., Tütüncü, M., Gülhan, T., Ekin, İ.H., Taşal, İ.: Van Yöresi Süt Sığırlarında Brucellozis'in İnsidensi Üzerine İncelemeler.

Sözen TH. Bruselloz.Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Ed). İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s:486-491, 1996.

Sözen, T.H.," Bruselloz. İnfeksiyon Hastalıkları", Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M., *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 486-491 (1996).

Spain (2007) Spanish National Eradication Programme on Sheep and Goat Brucellosis. Result and evolution. Ministerio De Medio Ambiente.

Sutherland, S. S., " Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Complement Fixation Test for the Detection of Specific Antibody in Cattle Vaccinated and Challenge with *Brucella abortus*", *Journal of Clinical Microbiology*, 22 (1): 44-47 (1985).

Sutherland, S.S., " Evolution of the enzyme-linked immunosorbent assay in the detection of cattle with *Brucella abortus*", *Vet. Mikrobiol.*, 10: 23-35 (1984).

Sutra, L., Caffin, J. P., Dupray, G., "Role of Milk immunoglobulins in the *Brucella* milk ring testi", *Vet. Microbiol.*, 12: 359-366 (1986).

Sutra, L., Caffin, J. P., Dupray, G., "Role of Milk immunoglobulins in the *Brucella* milk ring testi", *Vet. Microbiol.*, 12: 359-366 (1986).

Sümerkan B. Brucella Türleri. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Ed). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2.Cilt, Etkenlere Göre İnfeksiyonlar. 2002

T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri, *Sağlık Bakanlığı Matbaası*, Ankara, 10-12 (1995).

T.C. Sağlık Bakanlığı. İstatistikler / Temel Sağlık Hizmetleri Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı. Ankara. Sağlık Bakanlığı, 2004.

T.C.Sağlık Bakanlığı. İstatistikler / Temel Sağlık Hizmetleri Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı. Ankara. Sağlık Bakanlığı, 2005.

Taşçı, F.: Gıda Kaynaklı Brucellosis ve Önemi.Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med., 23(2004), 1-2-3: 137-142.

Thoen, C. O., Armbrust, A. L., Eacret, W. G., Eacret, R., Harrington, J., Brown, G. M., "Use of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Test for Characterizing the A and M antigens of Brucella", *Jour. Clin. Mic.*, 9: 485487 (1980).

Thoen, C. O., Mills, K., Hopkins, P. M., "Enzyme-linked immunosorbent assay reagent for detecting antibodies in tuberculosis exotic animals", *Amer.J. Vet. Res.*, 40 (5): 833-835 (1980).

Thoen, C.O., Hopkins, M. P., Armbrw, A. L., Angus, R.D., Pietz, E.D., " Development of an enzyme- linked immunosorbent assay for detecting antibodies in sera of *Brucella suis* infected swine", *Can. J. Cam. Med.*, 44: 294-298 (1980).

Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals, 8 th edition, Cornell University Press, London, page 135- 152, 1988.

Tunçbilek, M., "Ankara piyasasında satılan taze peynirlerin *Brucellosis* riski yönünden incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 48 (1992).

Türkiye-Hollanda Ortak Projesi "Türkiye’de Brucelloz ve Tüberkülozun Kontrol Stratejisinin Belirlenmesi Projesi” Haziran 2011 Ref:G2609/TR/9/3

Uysal Y. ve Erdenliğ S. (2001) Hayvanlarda Brucellosis’in İzlenmesi, Önlenmesi ve Kontrolü

Ünel, S., "Rose Bengal Plate Test ve Önemi", *Türk Mikrobiol. Cem. Dergisi*, 2: 47-52 (1972).

WHO (1998) The Development of New/Improved Brucellosis Vaccines: Report of WHO Meeting. Geneva, Switzerland. 11-12 December 1997.

WHO (1999) Human And Animal Brucellosis. Epidemiological Surveillance in the MZCP Countries. MZCP/Bruc/98.1. Report of a WHO/MZCP Workshop, Damascus, Syrian Arab Republic, 4 - 5 May 1998.

Yardımcı, H., "Koyunlarda *Brucella melitensis* infeksiyonlarının aglütinasyon, Rose Bengal ELISA testleriyle ortaya konması ve bu testlerin teşhisindeki değerleri üzerinde bir araştırma", Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (1989).

Yıldırırcı G. İstanbul piyasasında satışı sunulan tulum peynirlerinde Brucella etkenlerinin mevcudiyeti üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, 1993.

Young E.J., " Brucella Species", Principles and Practice of Infectious Diseases, Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., Churchill Livingstone Inc.,New York, 2053-2060 (1995).

Young EJ. Brucella species. in Principles and Practice of infectious Diseases. Ed. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. 5th Ed. Churchill Livingstone inc, p: 2368-93, New York, 2000.

Young, E.J., " An overview of human brucellosis", *Clin infect Dis*, 21: 283290 (1995).

Young, E.J., "Serologic diagnosis of human brucellosis", Analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature, *Rev infect Dis.*, 13:359-372 (1991).

Yüce A, Çavuş SA. Türkiye'de Bruselloz: Genel Bakış. *Klinik Dergisi* . 2006; 19 (3) : 87-97 .

ÖZGEÇMİŞ

10.06.1985 tarihinde Aydın'ın Nazilli İlçesi'nde doğdum. İlkokul öğrenimi Sümer İlkokulu ve Beş Eylül İlköğretim Okulu'nda, hazırlık, ortaöğretim ve lise öğrenimimi Nazilli Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2004 yılında kazanıp başladığım Ankara Üniversitesi Veteriner Hekimliği Fakültesi'nden 2009 yılında mezun oldum. 2011 yılında Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne atandım. Halan aynı enstitünün Brucella Referans ve Serolojik Teşhis Laboratuvarı'nda Veteriner Hekim ünvanıyla çalışmaktayım.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm değerli danışmanım Doç.Dr.Serap SAVAŞAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında verdikleri destek ve yardımdan dolayı Yrd.Doç.Dr.Sevil ERDENLİĞ'e ve Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Brucella Aşılı ve Biyolojik Madde Üretim Laboratuvarı çalışanlarına; ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli şefim Dr.A.Selma İYİSAN'a;

Tez çalışmamda yardımcı olan çalışma arkadaşlarım Veteriner Hekim Esra SATIR ve Veteriner Hekim M.Engin MALAL'a;

Öğrenim sürecim boyunca bana verdikleri maddi ve manevi desteklerinden dolayı çok kıymetli ailem Yalçın SAYI ve Vesile SAYI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım