

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KIRŞEHİR İLİNDE AÇIKTA SATILAN SÜTLERİN
***Brucella sp.* PREVELANSININ SAPTANMASI**

DENİZ ŞANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KIRŞEHİR 2017

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KIRŞEHİR İLİNDE AÇIKTA SATILAN SÜTLERİN
***Brucella sp.* PREVELANSININ SAPTANMASI**

DENİZ ŞANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ

KIRŞEHİR

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Akademik Ünvanı, Adı-Soyadı

Üye

Akademik Ünvanı, Adı-Soyadı

Üye

Akademik Ünvanı, Adı-Soyad

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

... / ... /
2017

Prof. Dr. Levent KULA

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek yazıldığını, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DENİZ ŞANLI

KIRŞEHİR İLİNDE AÇIKTA SATILAN SÜTLERİN *Brucella* sp. PREVELANSININ SAPTANMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Deniz ŞANLI

Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

MAYIS 2017

ÖZET

Bruselloz, insan ve hayvanlarda görülen *Brucella* cinsine ait bakterilerin neden olduğu kronik, bulaşıcı ve subakut olan zoonotik hastalıklardan birisidir. Hastalık ayrıca hayvanlarda (sığır, manda, koyun, keçi, domuz vs.) ve memeli hayvanların dişilerinde genital organlarına yerleşerek yavru atma, infertilite, mastitis, erken doğum, plasenta retensiyonu ve metritise, erkeklerde orşite (erbezi iltihabı) neden olur.

Bu çalışmada; 2016 yılı Mart ile Eylül ayları arasında Kırşehir il merkezi ile il merkezine bağlı merkez dışındaki 3 mahalle ve merkeze bağlı 14 farklı köyden toplanan 202 adet kaynatılmamış inek sütünde *Brucella* cinsi bakteri olan *Brucella abortus* araştırılmıştır. Bu amaçla Milk Ring testi (MRT), Rose Bengal testi (RBT), Standart Tüp Aglütinasyon testi (STA) ve direkt ekim yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmada Milk Ring testi (MRT) uygulanmış 202 inek sütü örneğinin 69 (%34.15) adedinin sonucu pozitif olarak bulunmuştur. Rose Bengal testi ve Standart Tüp Aglütinasyon testi sonucunda ise; 202 inek süt örneğinin 35 adedi (% 17.32) şüpheli olarak belirlenmiştir.

Araştırmamızda şüpheli çıkan örneklerin *Brucella* Agara ekimi yapılmıştır. Ekim sonucunda 202 inek süt örneğinin 35 adedinden (%17.32) *B. abortus* etkeni izole edilmiştir.

Çalışmamızın sonucuna göre; Kırşehir ili ve köylerinde *Brucella* etkeninin var olduğu tespit edilmiş buradan yola çıkarak da süt ve süt ürünlerinin bruselloz bakımından risk oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler Kırşehir, *Brucella* sp., Süt, MRT, RBT, STA

Sayfa Adedi:146

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ

KIRŞEHİR BUTTERFLY FRUITS FROM *Brucella* sp. DETECTION OF PREVALENCE

(Master of Science Thesis)

Deniz ŞANLI

Ahi Evran University

Institute Of Science

MAY 2017

ABSTRACT

Brucellosis is one of the chronic, contagious and subacute zoonotic diseases caused by bacteria of the genus *Brucella* seen in humans and animals. The disease causes abortion, infertility, mastitis, premature birth, placenta retention and metritis in female animal and orchitis in males, by placing in the genital organs of animals (cattle, buffalo, sheep, goats, pigs, etc.) and in females of mammals.

Brucella abortus, which is a *Brucella* bacterium, was investigated in 202 raw cow milk collected from Kırşehir province center and 3 districts connected to province center and 14 different villages connected to the province center between March and September of 2016 in this study. Milk Ring Test (MRT), Rose Bengal Test (RBT), Standard Tube Agglutination Test (STA) and direct sowing method were used for this purpose.

The results of 69 (34.15%) of the 202 cow milk carried out the Milk Ring test (MRT) were found positive in the study, 35 (17.32%) of 202 cow milk samples were

identified as suspicious as a result of the Rose Bengal test Standard and Tube Agglutination Test.

Brucella Agar was planted in the samples which were suspicious in our research. *B.abortus* factor was isolated from 35 (17.32%) of the 202 cow milk samples as a result of sowing.

It has been determined that the *Brucella* factor exists in the Kırşehir provinces and villages, also milk and dairy products may pose a risk in terms of brucellosis according to the results of our study .

Key Words: Kırşehir, *Brucella* sp., Milk, MRT, RBT, STA

Number of Pages: 146

Thesis Advisor: : Hatice ÖĞÜTCÜ, Assoc. Prof

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım esnasında her türlü desteği sağlayan ve yardımını hiçbir zaman esirgemeye değerli danışman hocam Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ'ye, çok teşekkür ederim.

Kıymetli bilgilerini ve örnekleri toplamamda bana yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ülken Tunga BABAOĞLU ve eşine çok teşekkür ederim.

Yüksek Lisans tezim de bana yardımcı olan arkadaşlarım; Caner KARARTI, Ali Turan SUNULU, Sinan KAYA, Ebuzer AKBAŞ, Hidayet ERDOĞAN, Mesut ARSLAN'a çok teşekkür ederim. Tabi ki de iyi günümde ve kötü günümde de yanımda olan hayatımda ki değerli insan Gamze BORZAN ve Kırşehir de ki ablam Sevil MERTOĞLU TOPARSLAN Kırşehirde ki evim olan Güvenç ELEKTRONİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan Arş. Gör. Esin KIRAY'a ve manevi desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım M. Yunus Emre KARAMAN'a ve Hülya AVŞAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Beni her zaman destekleyen ve hiçbir zaman yalnız bırakmayan Aileme ve Hatime ŞANLI OHAN, Ramazan ŞANLI, Sedanur ŞANLI, Ferhunde ERGİN'e sonsuz sevgilerimi ve saygılarımı sunarım. Saygılarımla.

Bu çalışma Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi desteklenen PYO-TIP. 4001.15.008. kapsamında desteklenmiştir.

DENİZ ŞANLI

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
TABLolar DİZİNİ.....	IX
RESİMLER DİZİNİ.....	XI
SİMGE VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2. <i>Brucella</i> Cinsine Ait Bakterilerin Genel Özellikleri.....	5
2.2.1. Morfolojik ve Boyanma Özellikleri.....	5
2.2.2. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri.....	6
2.2.3. Antijenik Yapısı.....	8
2.2.4. Genetik Yapısı.....	9
2.2.5. Antibiyotik ve Boyalara Duyarlılığı.....	9
2.2.6. Faj Duyarlılığı.....	10
2.2.7. Besiyerinde Üreme	11
2.3. <i>Brucella</i> Cinsi Bakterilerin Tiplendirilmesi.....	12
2.4. Bulaşma Yolları	17
2.4.1. Hayvanlardan Bulaşma Yolları.....	17
2.4.2. İnsanlardan Bulaşma Yolları.....	18
2.5. İmmünite.....	19
2.6. Patogenez ve Patoloji.....	21
2.7. Dirençlilik	25
2.8. Süt ve Süt Ürünlerinde <i>Brucella</i> Cinsi Bakterilerin Varlığı.....	26
2.9. Diğer Gıdalarda <i>Brucella</i> Türlerinin Bulunuşu.....	32
2.10. Klinik Belirti ve Bulgular.....	33
2.11. Komplikasyonlar.....	36
2.12. Tanı ve Teşhis.....	39
2.12.1. Rutin Laboratuvar Araştırmaları.....	41
2.12.2. Özgül Laboratuvar Araştırmaları.....	41
2.12.2.1. Direkt Tanı Yöntemleri	41
2.12.2.2. İndirekt Tanı Yöntemleri.....	46
2.13. Hayvan Deneyi.....	54
2.14. Etiyoloji.....	54

2.15.Tedavi.....	57
2.16. Epidemiyoloji.....	59
2.17.Koruma ve Kontrol.....	64
2.18. Hastalığın Halk Sağlığı ve Ekonomi Yönünden Önemi.....	68
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	69
3.1. Süt ve Süt Ürünleri.....	69
3.2. Hayvanların Sekresyonları, plesanta, mide içeriği, iç organlarında ve kan serumları.....	78
3.3. İnsan Kan Serumları.....	82
4. MATERYAL VE METOD.....	84
4.1. Materyal.....	84
4.1.1. Materyal Örnekleri.....	84
4.1.2. Kullanılan Araç Gereçler.....	87
4.1.3. Kullanılan Kimyasal Antijenler.....	88
4.1.3.1. Milk Ring Test Antijeni.....	88
4.1.3.2. Rose Bengal Pleyt Test Antijeni.....	89
4.1.3.3. Standart Tüp Aglütinasyon Test Antijeni.....	89
4.1.3.4. Brucella Agar.....	90
4.1.3.5. Serum Fizyolojik Tuz Çözeltilisi.....	91
4.1.3.6. Peynir Mayası.....	92
4.2. METOD.....	92
4.2.1. Milk Ring Testinin (MRT) Yapılması.....	92
4.2.2. Süt Serumlarının Çıkarılması.....	93
4.2.3. Rose Bengal Pleyt Testinin (RBT) Yapılması	94
4.2.4. Standart Brucella Tüp Aglütinasyon Testinin (STA) Yapılması.....	95
4.2.5. Brucella Agara Besiyeri Ekiminin Yapılması.....	97
5. BULGULAR.....	102
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	111
6.1. Sınırlılık.....	119
KAYNAKLAR.....	120
ÖZGEÇMİŞ.....	146

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Gram (-) Bakterilerden <i>Brucella</i> Türlerini Ayıran Karakteristik Özellikler (Garrido-Abellan 2001).....	7
Tablo 2.2. <i>Brucella</i> Türlerinin Boya Varlığında Üreme Özellikleri (Aktaş, 2009)...	10
Tablo 2.3. <i>Brucella</i> Türlerinin Tanımlanması ve İdentifikasyonu (Gülbaz, 2011)....	15
Tablo 2.4. <i>Brucella</i> Türlerinin ve Biyotiplerinin Ayırıcı Karakterleri (Taşkın, 2012)	16
Tablo 2.5. Mikroorganizmanın Farklı Ortam ve Koşullarda Canlı Kalma Süresi (Abdelkareem, 2008).....	26
Tablo 2.6. Fiziko-Kimyasal Özellikler Açısından İnek Sütünün Bileşenleri (Sertaş, 2006).....	29
Tablo 2.7. Süt Ürünlerinde <i>Brucella</i> spp. Yaşam Süreleri (Abdelkareem, 2008).....	31
Tablo2.8. Bruselloz - Vaka ve Ölüm Sayıları, Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye, 2006-2015 (T.C. Sağlık Bakanlığı).....	62
Tablo 4.1. Süt Örneklerinin Toplandığı Yerlerin İsimleri ve Sayıları.....	85
Tablo 5.1 Süt Örneklerinin Milk Ring Testi (MRT) Sonuçları	102
Tablo 5.2. Standart <i>Brucella</i> Tüp Aglütinasyon Testi Titre Sonuçları	103
Tablo 5.3. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyesine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları.....	104
Tablo 5.4. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyesine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı).....	105
Tablo 5.5. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyesine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı).....	106

Tablo 5.6. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı).....	107
Tablo 5.7. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı).....	108
Tablo 5.8. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı).....	109
Tablo 5.9. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı).....	110
Tablo 6.1. İl Bazında Sığır Brucelloz Prevelansı (http://www.tarim.gov.tr)	118

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. İneklerden sütleri toplama işlemi.....	86
Resim 4.2. Süt örneklerinin laboratuvara soğuk zincirde getirilmesi.....	86
Resim 4.3. Süt örneklerinin uygulanacak testlere hazırlanması....	87
Resim 4.4. Milk Ring test antijeni.....	88
Resim 4.5. Rose Bengal Pleyt test antijeni.....	89
Resim 4.6. Standart tüp aglütinasyon test antijeni.....	89
Resim 4.7. Brucella agar besiyerinin laboratuvar ortamında hazırlanışı.....	90
Resim 4.8. Serum fizyolojik tuzlu suyun hazırlanışı (NaCL).....	91
Resim 4.9. Peynir mayası.....	92
Resim 4.10. Milk Ring test sonuçları.....	94
Resim 4.11. Süt serumunun çıkarılma işlemi.....	93
Resim 4.12. Santrifüj işlem sonuçları.....	94
Resim 4.13. Rose Bengal Pleyt test sonuçları.....	95
Resim 4.14. Standart tüp aglütinasyon test sonuçları.....	96
Resim 4.15. Standart tüp aglütinasyon test titre değerlendirme sonuçları.....	97
Resim 4.16. Brucella agar ile yapılan besiyeri ekim sonuçları.....	98

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açıklama
°C	Santigrat derece
CO ₂	Karbondioksit
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
H ₂ O ₂	Hidrojenperoksit
KOH	Potasyum Hidroksit
NaCl	Sodyum Klorür
gr.veya g.	Gram
v/v	Hacim/Hacim
L veya l	Litre
µm	Mikrometre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
pH	Asitlik-Bazlık Birimi
<i>B.</i>	<i>Brucella</i>
spp.	Subspecies
%	Yüzde
sn	Saniye
Ig	İmmünoglobülin
Kob	Koloni Oluşturan Birim
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
S-LPS	Somatik- Lipopolisakkarit
CAT	Katalaz
RTD	Rutin Test Dilüsyonu

RES	Retikulo Endoteliyal Sistem
PCR	Polimerize Zincir Reaksiyonu
SAT	Serum Tüp Aglütinasyon Testi
RBT	Rose Bengal Plate Testi
KFT	Kompleman Fiksasyon Testi
WAT	Wright Aglütinasyon Testi
2-ME	2- Merkapto-Etanol
IFA	İndirekt Floresan Antikor Testi
IFT	İmmünfloresan Testi
IHT	İndirekt Hemaglütinasyon Testi
RIA	Radioimmunoassay
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Gıda ve Tarım Teşkilatı
OIE	Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı
EU	European Union
ark.	Arkadaşları

1.GİRİŞ

Brusellozis dünyada yaygın olarak görülen insan, evcil ve yabani hayvan sağlığı açısından önemli olan ve yakından ilgilendiren ve hayvansal üretimde önemli verim kayıplarına yol açan *Brucella* cinsine ait türler tarafından oluşturulan bulaşıcı, akut, subakut veya kronik seyirli zoonoz ve enfeksiyonel bir hastalıktır (Gülbaz, 2011).

Brucella spp.'nin neden olduğu brusellozis; sığır, manda, deve, at, koyun, keçi, koç, domuz, köpek, ağaç ratlarında, deniz memelilerinde vb. gibi hayvanlarda özellikle testis, meme, uterus gibi genital organlara yerleşerek yavru atmalara ve infertiliteye neden olan kronik, bulaşıcı ve nekrotik, yangısal enfeksiyonlarla ortaya çıkan zoonotik bir hastalıktır. *Brucella* cinsindeki etkenler evcil hayvanlarda önemli ekonomik kayıplara neden olduğu gibi enfekte hayvanların sütleri, süt ürünleri ile insanlara bulaşarak, insanlarda Malta Humması, Dalgalı Ateş, Kayalık Ateşi, Kıbrıs Ateşi ve Bang hastalığı olarak bilinen ve halk sağlığı açısından önem arz eden hastalığa neden olmaktadır (Arda ve ark., 1997; Taşkın, 2007).

Brucella cinsi mikroorganizmalar; küçük, gram negatif, kısa çubuk veya kokobasil şekle sahip, hareketsiz, kirpiksiz spor oluşturmeyen bakteriler olup, *Parvobacteriaceae* familyasında yer almaktadırlar. Bu cinse mensup mikroorganizmaların boyutları 0,5-0,7x 0,6-1,5 µm civarında olup, flagella taşımazlar ve hücre içi parazittirler. Genellikle kapsül oluşturmazlar. Ancak hastalıklı canlıdan yeni izole edilen düzgün (S) karakterdeki kolonilerde, ince bir kapsülün bulunduğu ortaya konulmuştur (Arda ve ark.,1992; Güllüce, 1993; Holt ve ark.,1994; Urçar, 2011).

Brucella cinsine ait mikroorganizmalar; aerofilik, karboksifilik ve oksidatifler. Uygun şartlar olduğunda, karbonhidratlı ortamda çok az fermentatif reaksiyon gösterirler. Aside dirençli değillerdir ve ekzotoksin oluşturmazlar. Besiyerlerine karaciğer ekstresi, kan, glikoz, serum veya protein katılması, üremeleri üzerine olumlu etki yapar (Özgür, 2000).

Brucella cinsine ait türler genellikle 20-40° C arasında üremektedirler. Optimum üreme sıcaklıkları 37°C civarındadır, 20°C' de çok yavaş üreme gösterirler. Bu cinse mensup yedi tür bulunmakla birlikte (*Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella*

Brucella canis, *Brucella ovis*, *Brucella neotomae* ve *Brucella inopinata*), 1994 yılında deniz memelilerinden de patojen olan yeni 3 adet *Brucella* türü (*B.delphini*, *B.pinnipediae*, *B.catagiae*) saptanmıştır (Güllüce, 1993; Özgür, 2000; Akcankale, 2009).

Brucella spp'nin üremesi için optimum pH değeri 6,6-7,4 olup, bu değer maksimum 8,7 minimum ise 5,8'dir. *B. abortus*'un, sterilize süt ve laktik asit kullanılarak pH'sı 5,0-5,8'e ayarlanmış sütte; 34 gün canlılığını koruduğu, ancak pH'nın 3,9'a indirilmesi ile sadece 2 gün hayatta kaldığı bildirilmiştir (Kara, 2011).

Brucella spp. zorunlu aerobik mikroorganizmalar olmakla birlikte, CO₂ ile üremeleri artmaktadır. *B. abortus* ise ilk izolasyonda mikroaerofilik olup, %5-10 oranlarında CO₂'li ortama ihtiyaç duymaktadır (Kara, 2011).

Brucella spp.'nin gelişimi üzerine NaCl'nin önemli etkisi bulunmaktadır. Nitekim bu mikroorganizmaların >%4 NaCl içeren karaciğer agarda gelişemediği, >%6 NaCl içeren karaciğer agarda öldüğü, %10 ve %20 NaCl içeren sıvı besiyerlerinde ise sırasıyla 10 ve 5 gün canlı kalabildiği bildirilmektedir. Ancak *B. melitensis*'in % 25 oranında NaCl içeren salamurada 10-15 C'de 45 gün canlılığını koruduğu bildirilmektedir. Ayrıca ortamda bulunan NaCl oranı artsa bile, *Brucella* spp.'nin hayatta kalması üzerinde sıcaklığın etkisinin daha önemli olduğu vurgulanmaktadır. Örneğin %7,60 - %7,66 konsantrasyonlarda NaCl içeren ve 17-20°C'de depolanan peynirde *Brucella* spp.'nin 13 gün hayatta kaldığı; %7,60 - %8,99 oranında NaCl içeren ve 2-4°C'de depolanan peynirlerde ise hayatta kalma süresinin iki kat arttığı belirlenmiştir (Robinson ve ark., 2000; Kara, 2011).

B. abortus temelde sığırdan ve mandadan enfekte edilmesine rağmen bufalo, deve, geyik, köpek, at, koyun ve insanlarda da enfeksiyona neden olmaktadır. Ağır gelişen bu mikroorganizma yavaşça yayılım gösterir ve yumuşak huylu enfeksiyonlara neden olur (Serttaş, 2006).

Brusellozis antropozoonozis (hayvanlardan insanlara bulaşan) bir hastalıktır. Bu nedenle, insanlardaki brusellozis'in kaynağı hayvanlardır. Çalışma alanı hayvansal endüstri kolları dışında olan insanlarda, hastalığın ortaya çıkışı çoğunlukla enfekte hayvanların sütleri ve bu sütlerden hazırlanmış ürünlerin tüketilmesi ile olmaktadır.

Türkiye’de beyaz peynir, tereyağı, krema (kaymak) ve dondurma gibi süt ve süt ürünleri sevilerek çok fazla tüketilmektedir. Özellikle krema, taze peynir ve tereyağı gibi ürünlerin pastörize edilmemiş sütün üretildiği bölgelerde, bu durum önemli bir bulaşma yoludur. Yine ülkemizde özellikle kaynatılmamış sütün yapılan peynir ve krema tüketiminin bir alışkanlık halinde devam ettiği bir gerçektir ve bundan dolayı brusellozis olma riski çok fazladır (Akcan Kale, 2009).

Bruselloz; Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonoz olarak kabul edilmiştir. Dünyada birçok ülkede bruselloz ile mücadele kampanyaları başlatılmış ve birkaç ülke sığır brusellozunu büyük ölçüde mücadele etmeyi başarmış olmasına karşın, koyun ve keçi brusellozu ise başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir şekilde devam etmektedir. Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ülkeleri, Avustralya ve Yeni Zelanda’da yıllar süren yoğun çabalarla bruselloz hastalığına karşı büyük ölçüde özen gösterilmiştir. Buna karşın bazı Güney Avrupa ülkelerinde, özellikle Akdeniz Bölgesi, Orta Doğu, Batı Asya’nın gelişmekte olan ülkelerinde, Hint Yarımadası, Afrika, Orta ve Güney Amerika’nın bir kısmında insan ve hayvanlarda yaygınlığını sürdürmektedir. Akdeniz ülkelerinde ise bu enfeksiyon bir çok hastalık arasında ön sırada yer almaktadır. Türkiye’de ise hayvan bruselloz prevalansı sığır popülasyonunda %1.43, koyun popülasyonunda %1.97 olarak tespit edilmiştir (Abdelkareem, 2008).

Türkiye’de 1984 yılından beri sürdürülmekte olan kontrol ve aşılama programlarına rağmen bazı illerde enfeksiyon oranının oldukça yüksek olduğu, hastalığın yeterince kontrol altına alınamadığı ve yaygın olduğu görülmektedir. Kesin tanı için; laboratuvar testlerine ihtiyaç duyulması, bildirim sistemi yetersizliği ve bildirimdeki duyarsızlık nedeniyle, Türkiye’de brusellozis prevalansını kesin olarak saptamak mümkün olmamakla birlikte son yıllarda bildirimlerde ve yapılan çalışmaların daha düzenli ve kontrollü olarak yapılması daha çok önem taşımaktadır. Gerek hastalığın sağlık açısından çok riskli olması ve gerekse günlük hayatta ciddi anlamda sorun olması çalışmaların önemini arttırmıştır (Abdelkareem, 2008).

Bruselloz daha çok kırsal kesimde, hayvancılıkla uğraşanlarda, mezbaha işçilerin de, kasaplarda, veterinerlerde ve laboratuvar çalışanlarında görülmektedir. Ayrıca kaynatılmamış süt içme ve kaynatılmamış süttten yapılan taze peyniri yeme alışkanlıkları olanlarda da görülmektedir (Peker ve ark., 2010; Rüstemoğlu, 2011).

Hastalık, halkın ve üreticilerin hastalık hakkında yeterli bilgiye sahip olmaması ya da bilgisi olsa bile çok dikkate almamasından kaynaklanmaktadır. Kırsal bölgelerde süt ürünlerinde pastörizasyon işleminin yeterince yapılmaması sorunun nedenini açıkça ortaya koymaktadır (Urçar, 2011).

Brucella türleri ile enfekte hayvanların süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile de her yıl binlerce insan hastalığa yakalanmaktadır. İnsanlar da meydana gelen fiziki yetersizlik ve iş gücü kaybı ile tedavi için yapılan masraflar ülke ekonomisi açısından büyük maddi kayba sebep olmaktadır. İnsanlarda; ortalama olarak iki-üç hafta süren kuluçka döneminden sonra, dalgalı seyir gösteren bir ateş, özellikle geceleri olan terleme, eklem ağrıları iştahsızlık, bitkinlik, kırgınlık, halsizlik, kilo kaybı, baş ağrısı gibi özgül olmayan belirtilerle ortaya çıkar bir enfeksiyonel hastalıktır (Urçar, 2011).

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Bruselloz Millattan önce 450 yıllarında Hipokrat tarafından ateşle karakterize olan bir hastalık olarak tarif edilmiş ve humma olarak tanımlanmıştır. Ancak insan brusellozuna ait ilk tanımlama bir cerrah olan Marston tarafından 1860 yılında yapılmıştır (Ataş, 2006; Aydın, 2007).

Hastalık etkeni ilk kez İngiliz ordusunda doktor olarak çalışan Sir David Bruce tarafından 1887 yılında, Malta’da hastalıktan ölen İngiliz askerin dalak dokusundan izole edilmiş ve *Micrococcus melitensis* olarak adlandırılmıştır (Serttaş,2006; Aydın, 2007).

1895 yılında Veteriner Hekim Bernard Bang Danimarka’da düşük etkeni olarak *Bacillus (Brucella) abortus*’u izole etmeyi başarmıştır (Ataş, 2006). Hastalığın bir zoonoz olduğuna dair ilk bilgiler 1897 yılında Wright ve Smith’in insan ve hayvan

serumlarından aglütinasyon testi ile *Brucella melitensis*'e (*B. melitensis*) ait spesifik antikorların tespitine dayanmaktadır. Zammit 1905 yılında *B. melitensis*'i keçi sütü ve idrarından izole ederek rezervuarın keçi ve koyun olduğunu ve hastalığın insanlara bulaşmasında kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin sorumlu olduğunu saptamıştır (Gültekin, 2012).

Amerikalı bir bakteriyolog olan Alive Evans 1918 yılında, Malta Ateşi ve Bang hastalığının etkenlerinin birbiriyle yüksek oranda benzer olduğunu göstermiştir. Daha sonra bu iki türün kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri kıyaslanarak gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda bunların aynı cins içinde oldukları saptanmış ve Sir David Bruce'nın anısına ithaf ederek bu cins bakteriler *Brucella* olarak adlandırılmıştır (Kara, 2011).

Ülkemizde ilk defa 1915 yılında Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi gören bir askerde *B. melitensis* izole edilmiştir. Hastalık ilk olarak Malta adasında tespit edildiğinden "Malta Humması" veya "Akdeniz Humması" olarak adlandırılmış, klinik gidişteki tipik ateş trasesi nedeni ile "dalgalı humma" da denilmiştir. Ülkemizde etkenin hayvanlardan insanlara bulaşması nedeniyle bu hastalık "koyun hastalığı" ya da "mal hastalığı" gibi isimlerle de anılmaktadır (Kara, 2011; Gültekin, 2012).

1931 yılında sığırlarda bruselloz ilk kez Zühtü Berke tarafından tespit edilmiştir. Koyun ve keçilerden 1943 yılında Golem, 1944 yılında da Köylüoğlu ve Aktan *Brucella* cinsi bakterileri tespit etmişlerdir (Bilgehan, 2000). Ülkemizde insanlarda *B. canis*'in neden olduğu enfeksiyon ise ilk kez 1984 yılında köpeklerden yapılan izolasyon çalışması ile belirlenerek bildirilmiştir (Taşkın, 2007).

2.2.Brucella Cinsine Ait Bakterilerin Genel Özellikleri

2.2.1. Morfolojik ve Boyanma Özellikleri

Brucella türleri *Proteobacteria* aleminde, *Rhodospirilli* sınıfının, *Rhizobiales* takımında ve *Brucellaceae* ailesinde yer almaktadır. *Brucella* cinsi mikroorganizmalar 0.5-0.7 nm çapında, 0.6-1.5 nm uzunluğunda küçük, gram negatif ve daha çok ikiye ikiye uç uca durma alışkanlığında olan kok, basil veya kısa

çomakçıklar şeklindedir. Küçük oldukları için moleküler hareketlerle yerlerinde titrerler ki buna Braunien Hareketi denir. Kapsül ya da spor oluşturmazlar, flagellaları yoktur. Hastalıklı canlıdan yeni izole edilen S tipi kolonilerde ince bir kapsülün bulunduğu, pasajlarda ve R tipi kolonilerde bu kapsüllerin kaybolduğu da saptanır. Bakteriyolojik boyalarla kolayca boyanırlar. Jelözdeki 2-3 günlük kolonileri küçük, yuvarlak, kabarık, saydam, kaygan, S (smooth) şeklindedir. Eski kültürlerdeki kolonileri yassı, daha büyük çapta, mat, granüllü bir yüzeye sahip, R formundadır. Bu iki ana S ve R (rough) formundan başka, intermedier (i) ve mukoid (M) özellik gösteren koloni varyasyonları da bulunmaktadır. Ayrıca *Brucella* türlerinin antibiyotik ve kimyasal maddelerden etkilenmeleriyle L formlarında meydana geldiği saptanmıştır (Ataş, 2006; Taşkın, 2007; Parın, 2008; Arasoğlu, 2010).

2.2.2. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

Brucella türleri hücre içi parazitidirler. 20-40°C'de üreyebilir, optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. Üremeleri için optimum pH değeri ise 6.6-7.4 aralığıdır. İnkübasyondan 2-3 gün sonra koloniler görülebilir, 4-5 gün sonra 2-3 mm büyüklüğe ulaşır. Hemoliz yapmazlar ve pigment oluşturmazlar. Şeffaf besiyerlerinde çok açık bal sarısı, konveks, düzgün kenarlı, şeffaf, küçük, su damlası gibi, parlak koloniler oluştururlar. *Brucella* türlerinde katalaz, oksidaz ve üreaz pozitifdir. *Brucella* türleri aerobiktir, ancak *B. abortus* ve *B. ovis* ilk izolasyonlarında % 5-10 CO₂ 'li ortama gereksinim duyar. *Brucella* bakterileri aside dirençli değildir ve ekzotoksin oluşturmazlar. Organik kükürtlü bileşikleri parçalamaları sonucunda H₂S oluştururlar. *B. suis* 3-5 gün (uzun süre) ve en fazla miktarda oluştururken, *B. abortus* 2 gün (ortalama süre) ve normal miktarda, *B. melitensis* ise 1 gün (az süre) ve en az miktarda H₂S oluşturduğu ya da bazen hiç oluşturmadığı belirlenmiştir (Özgür, 2006; Taşkın, 2007; Parın, 2008).

Tablo 2.1. Gram (-) Bakterilerden *Brucella* Türlerini Ayıran Karakteristik Özellikler
(Garrido-Abellan, 2001)

Testler	<i>Brucella</i> sp.	<i>Bordetella</i> <i>brochiseptica</i>	<i>Campylobacter</i> <i>fetus</i>	<i>Moracella</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Yersinea</i> <i>enterocolitica</i>
Morfoloji	Küçük Kokobasil	Küçük kokobasil	Virgül	Diplokok	Diplokok	Çubuk
37°C hareket	-	+	+	-	-	-
20°C hareket	-	-	-	-	-	+
Mac Conkey agarda Laktoz fermantasyonu	-	-	-	Değişken	Değişken	-
Glukozlu agarda asit üretimi	-	-	-	-	Değişken	+
Kanlı agarda hemoliz	-	+	-	Değişken	Değişken	-
Katalaz	+	+	+	Değişken	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	-	-
Üreaz	+	+	-	Değişken	Değişken	+
Nitrat üretimi	+	+	+	Değişken	-	+
Sitrat kullanımı	-	+	-	-	Değişken	-
S- <i>Brucella</i> antiserum ile agglütinasyon	+	-	-	-	-	+
R- <i>Brucella</i> antiserum ile agglütinasyon	+	-	-	-	-	-

2.2.3 Antijenik Yapısı

Somatik-lipopolisakkarit (S-LPS) antijenleri ve dış membran proteinleri hariç *Brucella* antijenleri tüm suşlarda ortak komponentlere sahiptirler *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis*' in lipopolisakkaritlerinin A (*abortus*) ve M (*mellitensis*) olarak adlandırılan 2 farklı antijenik determinantı vardır. Bu determinantlar etkenlerin identifikasyonunda kullanıldığı gibi aynı zamanda *Brucella* bakterilerinin virulansından da sorumludurlar (Shapiro ve ark., 1999; Bilgehan, 2004; Abdelkareem, 2008).

Lam aglütinasyon ve Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemleriyle A ve M epitoplarına spesifik monoklonal veya poliklonal antikorlar saptanarak serovarlar arası farklılık ve A/M antijenik fonksiyon oranı belirlenmektedir. *B. abortus*, *B.melitensis* ve *B. suis*'de A antijeni, M antijeni veya hem A hem de M antijeni bulunabilmektedir. Fakat *B. canis* ve *B. ovis*'de A ve M antijenik determinantları bulunmaz. Somatik A ve M antijenleri *Brucella* bakterilerinde ayrı oranlarda bulunurlar. *B.melitensis*' te M antijeni A antijeninden fazlayken ($A/M = 1/20$), *B.abortus* ve *B.suis*' de ise oran tam tersidir ($A/M= 20/1$). Bu nedenle aglütinin absorpsiyon testleri kullanılarak *B.melitensis*'i diğerlerinden serolojik olarak ayırmak mümkün olduğu halde *B.abortus* ile *B.suis*'i birbirinden ayırmak daha zor olmaktadır (Shapiro ve ark.,1999; Bilgehan, 2004; Abdelkareem, 2008).

Brucella cinsi bakterilerin ayrıca yüzey katmanları diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi; en içte sitoplazma membranı, bunu çevreleyen sert peptidoglikan tabakası ve fosfolipid-LPS-proteinleri (OMP) içeren dış membrandan (OM) meydana gelir. Bazı suşlarda ayrıca yüzeyel L zarf antijeni varlığı ortaya konmuştur. Daha çok *B.abortus* kökenlerinde bulunan bu L antijeni, onların immün serumlarla aglütinasyonuna engel olmakta ancak serumlar 100°C'de yarım saat ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadır. Bu özelliği ile *Salmonella*'lardaki Vi antijenine benzemektedirler (Badur ve ark., 1990; Shapiro ve ark.,1999; Bilgehan, 2004; Abdelkareem, 2008).

2.2.4.Genetik Yapısı

Brucella türlerinin büyük çoğunluğu iki sirküler kromozoma sahiptir. *B. suis*'in dört biyotipinin genomlarının karşılaştırılması göstermiştir ki; biyotip 1'in 2.1 ve 1.15 Mb hacimli ve plazmitsiz iki sirküler kromozoma sahipken biyotip 3 hacmi 3.1 Mb olan bir sirküler kromozoma sahiptir. Biyotip 1'in durumu diğer *Brucella* tiplerine benzemektedir. Biyotip 2 ve 4'ün genomları da iki sirküler genom içerir, ancak bunlar 1.85 ve 1.35 Mb hacminde. Bu farklı yapılar üç lokulusun arasındaki olası iki rekombinasyon ürünlerine bağlı olabilir (Young ve ark.,1991; Boschirolu ve ark.,2001; Aktaş, 2009).

Brucella genusunda plazmite rastlanmaz ancak konjugatif transferden sonra konağın plazmitlerinden etkilenirler. DNA'larının G+C içeriği %55-58 mol'dür. DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarında %95'in üzerinde homoloji olduğu belirlenerek gösterilmiştir. Yedi tane kara türü ve 3 tane deniz türü olduğu bilinen *Brucella* genusunun DNA-DNA hibridizasyon yöntemi ile monospesifik bir genus olduğu yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (Young ve ark.,1991; Corbel ve ark.,1997; Baschirolu ve ark., 2001; Aktaş, 2009).

Verger ve ark. yaptıkları DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarında *B. melitensis*'in tek tür olarak kabul edilmesi ve diğer türlerin ise bu türün biyotipleri olarak sınıflandırılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Yine bilim insanları; tek kromozomlu *B. suis* biyotip 3'ün evrim geçirmesi ile iki kromozomlu *Brucella* tür ve biyotiplerinin oluştuğunu ileri sürmektedirler. *B. neotomae* ve *B. ovis*'in outer membrane protein 2 (OMP2) geninin nükleotid sekanslarına göre diğer *Brucella* türlerinden en farklı iki tür olduklarını ve OMP2 lokusunun DNA analizinin tür identifikasyonunda kullanılabilecek nükleotid farklılıklarını ortaya koyduklarını ileri sürmüşlerdir (Verger ve ark.,1985; Cloeckeaert ve ark.,2003; Aktaş, 2009).

2.2.5. Antibiyotik ve Boyalara Duyarlılığı

Brucella türlerinin bazı boyalar ile olan ilişkilerinde de ayrılık görülmektedir. Boya duyarlılığı *Brucella* bakterilerinin rutin tiplendirme testlerinden biridir. 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 olurken *B. suis* bazik fuksin, kristal viyole, pironin tarafından inhibe edildiği halde, thioninden etkilenmez (Güllüce 1993; Oğuzkaya 1995; Garrido-Abellan, 2001; Arasoğlu, 2010).

In-vitro ortamda primer izolasyon da *Brucella* türleri, gentamisin, tetrasiklin ve rifamisin antibiyotiklerine karşı duyarlıdır. İlave olarak ampisilin, kloramfenikol, kotrimakzol, eritromisin, kanamin, novobiyosin, spektinomisin ve streptomisin antibiyotiklerine de duyarlılık gösterirler Ancak bunun şiddeti türler arasında, biovarlar ve suşlar da değişkenlik gösterir. β -laktamin, sefalosporin, polimiksin, nalidiksik asit, amfoterisin B, basitrasin, sikloheksimit, klindamisin, linkomisin, nistatin ve vankomisin antibiotiklerine ise tedavi edici konsantrasyonlarda dirençlidirler (Garrido- Abellan, 2001; Arasoğlu, 2010).

Tablo 2.2. *Brucella* Türlerinin Boya Varlığında Üreme Özellikleri (Aktaş, 2009)

TÜR	Thionin (1/50000)	Bazik Fuksin (1/25000)	Metilviyole (1/50000)	Pironin (1/100000)
<i>B. abortus</i>	Üremez	Ürer	Ürer	Ürer
<i>B.melitensis</i>	Ürer	Ürer	Ürer	Ürer
<i>B.suis</i>	Ürer	Üremez	Üremez	Üremez

2.2.6. Faj Duyarlılığı

Brucella fajları tarafından yapılan lizis, *Brucella* türlerinin tanımlanması ve doğrulanması için kullanılan yararlı bir testtir. Kırkın üzerinde *Brucella* fajının *Brucella* üyeleri için litik olduğu rapor edilerek bildirilmiştir. Bütün fajlar *bu* cins için spesifiktir ve test edilen diğer bakterilere karşı aktivitelerinin olmadığı onlara özel olduğu bilinmektedir. *Brucella* tiplendirme için kullanılan *Brucella* fajları: Tbilisi (Tb), Weybridge (Wb), Izatnagar1 (Iz1) ve R/C dir. Tbilisi (Tb), Weybridge (Wb), Izatnagar1 (Iz1) fajları smooth *Brucella* türleri için R/C ise *B.ovis* ve *B.canis* için litiktir (Güllüce, 1993; Garrido-Abellan, 2001; Taşçı 2004; Arasoğlu, 2010).

2.2.7. Besiyerinde Üreme

Brucella grubu bakterilerin üremeleri yavaş olup, zenginleştirilmiş katı besiyerlerindeki üremesi ancak ikinci günden sonra fark edilir. 2-3 günlük koloniler yuvarlak, konveks, düzgün kenarlı ve 0,5-1 µm uzunluğunda 0,5-0,7 µm eninde kısa çomak, kok ya da koko-basillerdir. İlk izolasyonlarda koloni üremesi genellikle ikinci günden sonra başlar ve maksimal gelişme 3-5 günde tamamlanır (Arda ve ark.,1997; Aydın, 2006).

Brucella türleri mikroaerofilik özelliğinden dolayı % 5-10 CO₂ ye ihtiyaç gösterir, 20-40°C'de de üreyebilirler. Fakat optimum üreme ısıları 37°C ve pH 6.6-7.4 tür. Genel besiyerlerinde üremeleri güç olduğundan üremeleri için özel besiyerlerine ihtiyaç duyarlar. Besiyerlerine glukoz, ascites, karaciğer ekstresi, kan, serum veya protein katılması üremeleri üzerine olumlu etkide bulunur. Yine çoğalmasını artırıcı bir faktör olarak eritrolde kullanılmaktadır (Gülbaz, 2011).

Brucella etkenlerinin kültürleri için, çoğunlukla katı besiyerleri kullanılır. Bunun sebebi ise katı besiyerleri koloni oluşmasını sağlamanın yanı sıra ayrılmasını da sınırlarlar. Kan, periton ve pleura boşluklarındaki sıvı materyalin kültürü için sıvı besiyerlerinden yararlanılabilir (Arda ve ark.,1997; Corbel ve ark.,1997; Attaş ve ark.,2000; Gülbaz, 2011).

Bazı suşlar (*B. abortus* biyotip-II) zorunlu serum gereksiniminde olup hemolitik değildirler. Basit boyalarla kolayca boyanırlar. Kültürlerden yapılan yayma işleminde tek tek rastlanmalarına karşılık, enfekte dokulardan ya da eksudatlardan yapılan yayma işleminde kümeler halinde görülürler. Pürüzsüz suşlar düzgün, parlak yüzeyli olup, mat sarı renkte görünürler ve yansıyan ışıpta hafif mavimsi yeşil renkte verirler. Koloniler 6-7 günlük bir inkübasyon sonunda matlaşır ve ayrılmaya başlarlar. R koloni formundakiler ise daha büyük çapta, yassı, mat ve granüllü bir yüzeye sahiptirler. Bundan dolayı S tipi kolonilere sahip *Brucella* kültürleri R tipi koloniye sahip formlardan ayrılırlar. Belirtilen bu iki ana koloni formundan başka, intermedier (I) ve mucoid (M) özellik gösteren koloni varyasyonlarına ve bunların da alt formlarına rastlanabilir. Bu grup bakterilerde bahsedilen bu iki ana koloni formundan başka intermedier (I) ve mukoid (M) özellik gösteren kolonileri ve

bunların alt formlarının bulunduğu da bildirilmektedir. Sıvı besiyerinde üreme hem zor olur hemde yavaş olur. Bu yüzden sıvı besiyeri çok tercih edilmez üreme olsa bile homojen bir bulanıklık yaparak dipte yumurta akı benzeri tortu oluştururlar (Arda ve ark.,1997; Monis ve ark.,2006; Gülbaz, 2011).

2.3. *Brucella* Cinsi Bakterilerin Tiplendirilmesi

Brucella cinsi bakterilerin identifikasyonu ve tiplendirilmesi için geleneksel yöntemler olan, üremeleri için CO₂'ye gereksinimi, üreaz testi, H₂S yapma, boyalara karşı duyarlılıkları ve spesifik antiserumların kullanılması gerekmektedir. *Brucella*'lar aerop bakteriler olmalarına karşın *B. abortus* ve *B. ovis* ilk izolasyonlarında mikroaerofil olup, üremek için % 10' luk CO₂'e ihtiyaç duyar. Birkaç pasaj işleminden sonra normal aerob koşullarda da üremeye başlarlar. Besiyerleri içerisine eklenen belirli konsantrasyonlardaki thionin, bazik fuksin, kristal viole ve pironin gibi maddeler karşısında *B. melitensis* inhibisyona uğramadan üremektedir. *B. abortus* sadece thionin tarafından, *B. suis* ise thionin dışındaki bazik fuksin, kristal viole ve pironin tarafından inhibe olmaktadır. *B. suis* Thionin'den ise etkilenmeyerek üremesini devam ettirmektedir. *Brucella* cinslerinin ayırt edici olduğu ve bu yöntemlerle *Brucella* cinslerini birbirinden bu şekilde ayırt edilebilir (Ataş, 2006; Rüstemoğlu, 2011).

Aynı zamanda bu etkenlerin bakteriyofaj duyarlılıkları da tiplendirmede önemli bir husustur. Günümüzde 5 tip faj yapısından yararlanılır. Bu fajlar Tibilisi, Weybridge, Berkeley, Firenze ve Izatnagar olarak bilinmektedir (Serttaş, 2006; Parın, 2008; Rüstemoğlu, 2011).

Rutin test dilüsyonunda Tibilisi fajı *B. abortus*'un S kolonilerini tamamen lizise uğratar, *B. melitensis* ve *B. suis* kültürlerinde herhangi bir değişiklik oluşturmaz. Tibilisi fajı *B. abortus*, Weybridge fajı *B. abortus* ve *B. suis*, Berkeley fajı ise *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis* üzerinde etkilidir. (Ataş,2006; Rüstemoğlu, 2011).

Yukarıda bahsedilen metodlarla *B. abortus* için 9 biyotip, *B. melitensis* için 3 biyotip, ve *B. suis* için 5 biyotip tanımlanmıştır. *Brucella* fajlarının *Brucella* türlerinde böyle farklılık göstermesi tiplendirmede büyük avantaj sağlamaktadır (Özgür, 2006; Parın, 2008).

***Brucella* spp. türleri ve bu türlerin özellikleri**

Brucella türleri 7 adet kara 3 adet deniz memelileri olarak sınıflandırılmaktadır.

B. abortus; *B. abortus* öncelikle sığırları enfekte etmekle beraber bufalolar, develer, geyikler, köpekler, atlar, koyun, keçi ve insanları da enfekte eder. Fakat ayırt edici olarak daha çok büyükbaşlarda (inek, sığır, manda, bufalo) görülmektedir. Sığırlarda yavru atma hastalığının etkeni olup koyun, keçi, domuz ve insanda da enfeksiyon oluşturabilir. Hastalık bir veya daha fazla belirtilerle karakterizedir: yavru atma, plasentanın atılmaması, orşitis, epididimitis, bununla birlikte nadir olarak sütle ve uterus akıntılarıyla organizmanın atılımı soncu arthritis görülür (Gülbaş, 2011)

Bazı biyotipler ilk İzolasyonlarda % 10 CO₂'e ihtiyaç duyarlar. Katalaz ve oksidazları pozitifdir. Genellikle H₂S üretirler. Üreyi hidrolize edebilirler, ancak bazı suşları üreyi hidroliz etmeyebilir. Thionin varlığında üremez iken bazik fuksin, metil viyole, pyronin, safranin varlığında ürerler. 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, DLornithine 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. *B. abortus*'un 9 farklı biyotipi bulunmaktadır (Aydın, 2007; Rüstemoğlu, 2011; Taşkın, 2012).

B.melitensis; Genel olarak koyun ve keçilerde hastalık oluşturur fakat sığırları da enfekte edebilir. İnsanlarda da Malta Humması adlı hastalığın etkeni olup aynı zamanda insanlar için en tehlikeli ve eradike etmesi en zor olan *Brucella* türüdür. Üremeleri için CO₂ 'ye ihtiyaç duymazlar. Katalaz ve oksidaz pozitifdir. H₂S testleri ya negatiftir ya da çok zayıftır. *B. melitensis*'in 3 farklı biyotipi bulunmaktadır (Abdelkareem, 2008; Rüstemoğlu, 2011).

B. suis; Diğer türlerle karşılaştırıldığında konaklarda bulunma açısından geniş bir yelpazesi olan türdür. Beş farklı biyotipi vardır. İlk 3 biyotipi en çok karakterize olarak domuzlarda bulunur ve domuzları enfekte ederken *B. suis* biyotipi 4 ren

geyiklerini *B. suis* biyotipi 5 ise kemiricileri enfekte eder. Keçi, Koyun ve insanlarda enfeksiyona neden olan bu etkenin izolasyonunda %10 CO₂'ye ihtiyaç yoktur. H₂S reaksiyonu ise suşlara göre değişkenlik göstermektedir. Oksidaz ve katalaz pozitifdir (Aydın, 2007; Rüstemoğlu, 2011).

B. ovis; Tipik olarak koçların orşitis etkenidir. Koyunlarda da bazen hastalığa neden olmaktadır. Bu türün insanlarda enfeksiyon oluşturduğu saptanmamıştır. İlk izolasyonlarında CO₂'e gereksinim duyarlar. H₂S reaksiyonu negatiftir. Katalaz pozitif, oksidaz ise negatiftir (Abdelkareem, 2008). Diğer türlerin tersine üreyi hidrolize etmezler. Metil viyole ile inhibe olurlar. Tiyonin ve bazik fuksin varlığında üremektedirler. Ayrıca nitratı nitrite indirgemezler (Taşkın, 2012).

B. canis; Karakterize olarak köpeklerde enfeksiyon oluşturan bu etken, insanlarda da hastalık meydana getirebilmektedir. Üremeleri için CO₂'e ihtiyaç duymazlar ve H₂S testi ise negatiftir. Katalaz ve oksidaz da pozitifdir. Üreyi çok çabuk hidrolize etme özelliğindedirler (Abdelkareem, 2008; Taşkın, 2012).

B. neotomae; Karakterize olarak Ratlarda (çöl faresi) bulunan ve Ratlardan enfekte edilen bu etkenin insan ve hayvanlarda hastalık meydana getirdiği henüz bildirilmemiştir. Üremeleri için CO₂'e ihtiyaç duymayan etken H₂S oluşturmaktadır. Yine katalaz pozitif, oksidaz ise negatiftir. Üreyi çok çabuk hidrolize ettikleri tespit edilmiştir (Aydın, 2007; Taşkın, 2012).

B.inopinata; Bu türün karakterize olarak konakçısı şu denilememektedir. Yapılan son çalışmalarda diğer *Brucella* cinslerinden farklı olduğu gerek faj duyarlılığı gerek besiyerlerinde üremesinden *B. inopinata* olarak bildirilmiştir (Foster ve ark., 2007; Whatmore, 2009; Taşkın, 2012).

Deniz memelileri orijinli türler; Son yıllarda balina, fok, yunus ve su samuru gibi deniz memelilerinden izole edilen *B. delphini*, *B. pinnipediae* ve *B.cetaceae* türleridir. Son yapılan araştırmalara göre bu hayvanlardan izole edilen türlerin, omp2a ve omp2b genlerindeki DNA polimorfizmine göre kara memelilerinden izole edilen türlerden farklı oldukları ortaya konularak bu şekilde deniz memelileri *Brucella* türleri sınıflandırılması yapılmıştır. Bu çalışmaya göre 7 adet kara, 3 adet deniz memelisi olarak *Brucella* sınıflandırılması yapılmıştır (Aslan, 2014).

Tablo 2.3. *Brucella* Türlerinin Tanımlanması ve İdentifikasyonu (Gülbaz, 2011)

Tür	Biyotip	Konakçı	Tanımlayan	Tür identifikasyonu
<i>B.melitensis</i>	1-3	Koyun Keçi Deve	Bruce,1887	Fuksin(+) Thionin(+) Safranin inhibisyonu (-) H ₂ S üretimi (-) Üreaz 24 saatte (+) CO ₂ üretimi (-) Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (-)
<i>B.abortus</i>	1-9	Siğır Deve Manda Bufola	Bang,1897	Fuksin(+) (Biyotip 2 hariç) Thionin- (Biyotip 1,2)Safranin inhibisyonu (-) H ₂ S üretimi (+),(Biyotip 5 hariç) 24 saatte üreaz(+), CO ₂ üretimi (+)(Biyotip 1-4) Tibilis faj lizis (+) Weybridge faj lizis (+)
<i>B.suis</i>	1-5	Domuz Yabanıtavşan Ren geyiği Karibu kemiriciler	Traum,1914	Fuksin(-)(biyotip-3 hariç)Thionin(+) Safranin inhibisyonu (+) H ₂ S üretimi (+)(biyotip-1) Üreaz 15 dakikada (+) CO ₂ üretimi (-)Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (+)
<i>B.canis</i>	--	Köpekgiller	Carmichael, Bruner,1968	Fuksin(+,-) Thionin(+) Safranin inhibisyonu (-) H ₂ S üretimi (-) Üreaz 15 dakikada (+) CO ₂ üretimi (-)Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (-)
<i>B.ovis</i>	--	Koyunlarda	Van Drimmelen,1953	Fuksin(-) bazı türler için Safranin inhibisyonu (-) H ₂ S üretimi (-) üreaz (-) CO ₂ üretimi (+) Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (-)
<i>B.neotomae</i>	--	Kemirgenler	Stoenner, Lackman, 1957	Fuksin(-) Safranin inhibisyonu (-) H ₂ S üretimi (+) Üreaz15 dakikada (+) CO ₂ üretimi (-) Tibilis faj lizis (+,-) Weybridge faj lizis (+) B
<i>B.delphini</i> <i>B.pinnepediae</i> <i>B.cataceae</i>	--	Balina Yunus Domuz balığı Fok	Ewalt, Ross,1994	Fuksin(+) Thionin(+) Safranin inhibisyonu (-) H ₂ S üretimi (-) üreaz (+) CO ₂ üretimi (-)Pinnipediae CO ₂ üretimi (+)cetaceae Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (+)pinnipediae Weybridge faj lizis (-)cetaceae

Tablo 2.4. *Brucella* Türlerinin ve Biyotiplerinin Ayırıcı Karakterleri (Taşkın, 2012)

Biyotip	Biyotip	CO ₂	H ₂ S	Üreaz	Boyalarda üreme					Aglütinasyon			Tb-RTD, Faj, Duyahlık	Konakçı
					B.Fuksin		Thionin							
					b	C	a	B	C	Anti A	Anti M	Anti R		
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	D	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Koyun, Keçi, İnsan
	2	-	-	D	+	+	-	+	+	+	-	-	-	
	3	-	-	D	+	+	-	+	+	+	+	-	-	
<i>B.abortus</i>	1	+	+	1-2h	+	+	-	-	-	+	-	-	-	Sığır
	2	+	+	1-2h	-	-	+	-	-	+	-	-	+	
	3	+	+	1-2h	+	+	-	+	+	+	-	-	+	
	4	+	+	1-2h	+	+	-	-	-	-	+	-	+	Manda
	5	-	-	1-2h	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
	6	-	-	1-2h	+	+	-	+	+	+	-	-	+	
	7	-	+	1-2h	+	+	-	+	+	+	+	-	+	İnsan
	8	+	-	1-2h	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
	9	-	+	1-2h	+	+		+	+	-	+	-	+	
<i>B.suis</i>	1	-	+	0-30dk	-	-	+	+	+	+	-	-	-	Domuz, insan, Ren geyiği, Kemiriciler
	2	-	-	0-30dk	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
	3	-	-	0-30dk	+	+	+	++	+	+	-	-	-	
	4	-	-	0-30dk	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	5	-	+	0-30dk	-	-	+		+	-	+	-	-	
<i>B. neotomae</i>	1	-	+	0-30dk	-	-	+	-	+	+	-	+	-	Neotomaelepida
<i>B. ovis</i>	1	+	-	0	+	+	-	-	+	-	-	+	-	Koç
<i>B. canis</i>	1	-	-	0-30dk	-	+	+	-	+	-	-	+	-	Köpek,, İnsan

2.4. Bulaşma Yolları

2.4.1. Hayvandan bulaşma yolları

Hayvanlar arasında bulaşma genellikle fetus, fetal membranlar, yavru atan hayvanların vajinal akıntıları, plasenta artıkları ve amniyon sıvılarıyla olmaktadır. İnfekte gebe hayvanlar yavru atarken veya doğum yaparken, özellikle fetus, fetüse ait sıvılar, amnion ve plasenta aracılığı ile hastalık etkeninin çevreye yaymasıyla bulaşmaya neden olurlar. İnfekte uterus akıntıları ve idrarla bulaşık olan kuyruk, diğer hayvanların deri ve konjunktivalarına etkeni bulaştırabilmektedir. Brusellozisli ineklerin çoğu yavru attıktan haftalarca ve hatta aylarca sonrasında hastalık etkenini sütleri ile çıkarırlar. Testisleri iltahaplı olan infekte boğalarda, infekte sperma aracılığı ile sağlam dişilere etkeni dölenme yoluyla bulaştırabilirler. Hastalığın naklinde sinek, sivrisinek, tahtakurusu, kene, pire gibi böcek grubu ve bunun yanı sıra yabani tavşan, sıçan gibi hayvanlarında rolünün olduğu bildirilmektedir (Serttaş, 2006; Taşkın, 2007; Parın, 2008; Rüstemoğlu, 2011).

Enfekte gebe sığırların uterus içeriği ile fötüs ve fötal zarlarda yoğun bir şekilde bulunan etken (genellikle *B. abortus*), doğum sırasında plasenta, fötal sıvılar ve süt aracılığı ile çevreye yayılır. *B. abortus* gebe sığırlarda enfeksiyondan sonra yaklaşık 11. günden itibaren çevreye yayılmaya başlayarak, doğumun veya düşüğün ardından 15. güne kadar yayılmaya devam eder (Philippen ve ark., 1970; Aslan, 2014).

Sığırlarda bulaşma ise genelde deri, konjunktiva, solunum sistemi mukozası ve gastrointestinal sistemin kontaminasyonu ile gerçekleşmektedir (Neta ve ark. 2010). *Brucella* ile enfekte ratların, sığırlara ve insanlara bulaşmada önemli bir kaynak olduğu rapor edilerek bildirilmiştir (Baek ve ark., 2005; Aslan, 2014).

Araştırmacılar ratlar arasında bulaşmanın özellikle enfekte erkek ratlardan, enfekte olmayan dişi ratlara çiftleşme yolu ile gerçekleştiğini saptamışlardır (Islam ve ark., 2013; Aslan, 2014).

2.4.2. İnsanlarda bulaşma yolları

İnsanlarda ise etmen; pastörize edilmemiş yani kaynatılmamış süt tüketimi veya bu süt ürünlerinden yapılan peynir, tereyağı, kaymak vs. tüketimi ile hayvanların yün ve kıllarıyla olan temasıyla da bulaşabilir. Bu nedenle hayvan sahipleri, çobanlar ve veteriner hekimler yüksek oranda enfeksiyona yakalanma riski taşırlar. İnsanlar *Brucella* etmenlerini etlerden de almaktadır. Fakat bu yolla bulaşma ihtimali zayıf olup ancak yeterince pişmemiş et ve et ürünlerini tüketenler her zaman bulaşma riski taşıyan gruptadırlar. Laboratuvar çalışanları arasında görülen en yaygın bulaşma yolu ise enfekte aerosollerin solunum yoluyla alınmasıyla olmaktadır. Ayrıca hayvan bakıcıları, çiftçiler, çobanlar, kasaplar ve veteriner hekimlerde de solunum yoluyla bulaşma tehlikesi vardır. Canlı aşının kazayla konjüktivaya sıçramasıyla da *Brucella* bulaşması gerçekleşebilir (Sertaş, 2006; Taşkın, 2007; Parın, 2008).

İnsandan insana hastalığın geçişi kolay olmamasına rağmen organ ve kemik iliği nakli veya kan transfüzyonu ile de geçişinin mümkün olabileceği rapor edilmiştir (WHO, 2006; Rüstemoğlu, 2011).

Buna benzer şekilde insanlar arasında *Brucella*'nın, enfekte erkek bireylerden kadın partnerine cinsel yol ile bulaştığı bildirilmiştir. Zoonoz bir enfeksiyon olan brusellozis; insanlara sindirim, konjunktiva, deri ve nozokomiyal yollar ile bulaşır. Ayrıca bulaşma, enfekte hayvanların karkasları ve vaginal ile fütal akıntılarına temas sonucu gerçekleşir. Bu tarz bulaşma yolları göz önüne alındığında, şehirde yaşayan insanlar pastörizasyon uygulamalarından dolayı *Brucella* etkenlerine karşı korunabilme, iken ve hastalığa yakalanma riski daha az iken kırsal bölgelerde yaşayan ve sığır yetiştiriciliği yapan halkın enfekte hayvanlar ile direkt temas etmelerinden dolayı enfeksiyona yakalanma riski daha yüksek olmaktadır (Corbel, 1997; Mesner ve ark., 2007; Kato ve ark., 2007; Kara, 2011).

2.5. İmmünite

Brucella enfeksiyonlarına karşı gelişen doğal bağışıklıkta Toll benzeri reseptörler (Toll-like Receptors/TLRs) lipit, protein, lipoprotein, glikan ve nükleik asitler gibi patojen ilişkili molekül desenleri (Pathogen-Associated Molecular Patterns/PAMPs) tanıyarak, proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesi ve kostimülatör moleküllerin açıklanmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Takeuchi ve Akira, 2010; Aslan, 2014).

Fare peritoneal makrofajları üzerindeki TLR-2'nin, bakterinin Omp19 dış membran lipoproteini ile uyarılmasına bağlı olarak tümör nekrosis faktör alfa (TNF- α) ve interleukin (IL)-6 salgılanır. (Giambartolomei ve ark., 2004; Ferrero ve ark., 2014; Aslan, 2014).

B.abortus TLR2 geni silinmiş (knock out) farelerde, TLR-2 ile immün sistemin uyarılması by-pass edildiği için TLR-4 ile Omp16 dış membran proteini etkileşerek immün sistemi uyarır. TLR-6'nın in-vivo olarak immün yanıtın tetiklenmesinde, dentritik hücrelerin aktivasyonunda ve TNF- α ile IL-12 sitokinlerinin salınmasında gerekli olduğu rapor edilmiştir (Aslan, 2014).

Yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarında, TLR-9'un *Brucella* DNA'sı ile aktive olarak farelerde *Brucella* enfeksiyonlarına karşı konak savunmasında enfeksiyonun erken dönemlerinde (ilk 2 hafta) etkin rol alan ve interferon alfa (IFN α) ile IL-12 sitokinlerinin salınımını uyaran reseptörlerden biri olduğu belirlenmiştir. NOD (Nükleotid-Bağlama Oligomerizasyon Domaini) benzeri reseptörler (NOD1, NOD2) *B.abortus*'un mikrobiyal yapılarının tanınmasında görevli sitolitik hücre içi reseptörlerdir Yapılan çalışmalarda NOD1 ve NOD2 gen bölgeleri silinmiş farelerin dalaklarında bulunan bakteriyel yükün, normal fareler ile aynı olduğu saptanmıştır. Bu durumu araştırmacılar NOD benzeri reseptörlerin *Brucella* enfeksiyonlarına karşı immün cevapta sinyal oluşturduğunu fakat in-vivo olarak enfeksiyona karşı gelişen konakçı savunmasında esansiyel rol oynamadıkları şeklinde yorumlayarak rapor etmişlerdir (Shaw ve ark. 2008; Oliveira ve ark., 2012; Gomes ve ark., 2012 ; Aslan, 2014).

B. abortus, antijen sunan hücrelerden (ASH) IL-12 salınmasını tetikledikten sonra, doğal öldürücü (Natural Killer/NK) hücreleri aktive olurlar ve IFN- γ

salgılamaya başlarlar. NK hücreleri immün yanıtta önemli olan IFN- γ salgılama ve enfekte hedef hücrelerin öldürülmesi özelliklerine rağmen, farelerde yapılan deneysel *B.abortus* enfeksiyonlarının erken safhasında NK hücrelerinin önemli bir rol oynamadığı bildirilmiştir (Fernandes ve ark., 1995; Biron, 1999; Aslan, 2014).

Brucella enfeksiyonlarında NK hücrelerinin poliklonal antikor oluşumuna katkı sağladığı fakat bu katkının direkt B hücrelerini etkileyerek mi yoksa indirekt bir etki ile mi şekillendiği tartışılmaktadır. Takip eden yıllarda yaptıkları çalışmalarında NK hücrelerinin direkt olarak B hücreleri ile etkileşime girdiğini ve poliklonal IgG uyarımını sağladığını belirlemişlerdir. *B. abortus*'un ASH fonksiyonları üzerine etkilerinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda bakterinin in-vitro olarak insan monositlerinden TNF- α , IL- β ve IL-6 salgılanmasını tetikleyerek uyardığı saptanmıştır (Huang ve ark., 1999; Gao ve ark., 2008; Gao ve ark., 2011; Aslan, 2014).

B.abortus ile enfekte edilen farede, dentritik hücreler dalağın T hücrelerden zengin kırmızı pulpasına göç eder. Bu bölgede IL-12 salgısına enfeksiyonun ardından yaklaşık 2 saat sonra rastlanırken, en yüksek seviyeye 8. saatte ulaştığı ve 24. saatte ise tespit edilemediği rapor edilerek bildirilmiştir (Golding ve ark., 2001; Aslan, 2014).

Brucella etkenlerinin vücutta persiste (virüsün yaşam boyu elemine edilememesi) kalarak kronik enfeksiyona yol açma mekanizmaları pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir. In-vitro çalışmalarda insan hücrelerinde *Brucella* etkenlerinin ASH hücrelerin fonksiyonlarını değiştirerek immün sistemden kaçtığı saptanmıştır. Akut *Brucella* hastalarında makrofaj hücrelerinin antijene cevap amaçlı kemotaksisinin azaldığı, fagolizozom füzyonun baskılanarak *Brucella* içeren vakoullerin oluşumunun arttığı ve fagositozun engellendiği belirlenmiştir. Bunun yanında T hücrelerine antijen sunumu ile TNF- α ve IL-12 üretimi baskılanmaktadır (Oliveira ve ark., 2012; Gomes ve ark., 2012; Aslan, 2014).

Brucella enfeksiyonlarında gelişen Th1 immün cevabında antijen spesifik CD4+/CD8+ T lenfositlerinden salgılanan IFN- γ ve IL-2 miktarı kronik enfeksiyonlarda azaldığı gözlemlenmiştir (Oliveira ve ark., 2012; Aslan, 2014).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla immün sistemin yeni hücre alt tipleri keşfedilmiştir. Tanımlanan hücre hatlarından biride CD4+CD25+ regülatör T (Treg) hücreleridir (Suvas ve ark. 2004, Palomares ve ark. 2010). *B. abortus* enfeksiyonlarında akut dönemde in-vivo olarak erken immün yanıtın şekillenmesinde Treg hücrelerin önemli bir yeri olduğu belirlenmiştir. Treg, IL-10'un *Brucella* ile enfekte makrofajların proenflamatuar sitokin salınımını azaltarak *B.abortus*'un hücre içinde çoğalmasını, persiste kalmasını ve kronik enfeksiyon oluşturmalarını sağladığı yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Xavier ve ark., 2013; Aslan, 2014).

Brucella enfeksiyonlarında patojen-konakçı etkileşimi üzerine yapılan çalışmalarda, microRNA (miRNA) olarak adlandırılan küçük endojen (ribonükleik asit) RNA moleküllerinin post-transkripsiyonel safha ile apoptozis ve otofaji gibi programlı hücre ölüm mekanizmalarında etkin rol oynadığı belirlenerek bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2012; Aslan, 2014).

2.6. Patogenez ve Patoloji

Brucella cinsi üyeleri hedef aldıkları konak hücrelere iyi adapte olabilen, insan ve hayvanlar için patojen olan mikroorganizmalardır. Fakültatif hücre içi parazitler olarak tanımlanan *Brucella* etkenleri, makrofajlar içerisinde canlı kalarak akut veya kronik enfeksiyonlara yol açabilirler (Baldwin ve Winter, 1994; Gorvel ve Moreno, 2002; Aslan, 2014).

Brucella cinsi bakteriler *Mycobacterium* ve *Listeria* gibi fakültatif intrasellüler patojenler olup, konağın fagositik hücreleri içerisinde çoğalabilirler. Etkenin fagositik hücreler içinde yaşayıp çoğalmasında etkili olduğu ileri sürülen savunma mekanizmaları arasında fagolizozom füzyonunun engellenmesi (hücre duvarında bulunan LPS'lerin oluşturduğu adenin ve guanin monofosfat gibi maddeler aracılığıyla) lizozomal enzimlere direnç göstermeleri, konaktan hidrojen peroksit (H₂O₂) üretiminin önlenmesi ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitesine sahip olmaları ile reaktif oksijen metabolitlerini uzaklaştırarak oksidatif yıkımlara karşı koymaları etkileri arasında sayılabilir. Hücre içerisinde üremekte olan bakteri, aynı zamanda antikor tehdidinden ve kullanılan antimikrobiyal ajanlarda uzun süre korunmuş olur. Bu nedenle brucelloz tedavisinin uzun sürmesi

gerekmektedir (Heck ve ark.1980; Alton ve ark.,1998; Gross ve ark., 2000; Chugh,2001; Young ve ark., 2006; Taşkın, 2012).

Brucella bakterileri enfekte ettiği konakta hem hücresel hem de humoral immün yanıt meydana getirir. Humoral immünite enfeksiyona karşı korunmada etkili iken, bakterisidal fazda, hücresel immünite daha önemli bir görev almaktadır. Enfeksiyonun kontrolü ve yok edilmesi, T lenfositlerden salgılanan lenfokinlerin makrofajları aktive etmesi ile sağlanır. Hastalığın 7-10. günlerinden itibaren duyarlı lenfositlerden salınmaya başlanan lenfokinler makrofajları uyarmakta, intrasellüler mikroorganizma öldürme işlemi hızlanmakta ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılığın da gelişimi ile organ granülomlarında meydana gelmektedir (Taşkın, 2012).

B. ovis dışındaki *Brucella* türleri oral yol ile alınması ardından *Helicobacter pylori* ve *Yersinia enterocolitica*'ya benzer şekilde üreaz aktivitesi sayesinde midenin asidik koşullarından korunarak, sindirilmeden mideyi direkt geçebilmektedir (Sangari ve ark., 2007; Aslan, 2014).

Mide asidini nötralize edici ilaç veya diyetler ile midenin pH'sı değiştiği durumlarda, mikroorganizma geçişi benzer şekilde gerçekleşir. *B.ovis*'in üreaz negatif olduğu, bu nedenle hayvanlar arasında bulaşmanın genellikle cinsel temas ile gerçekleştiği bildirilmektedir (Corbel ve Hendry, 1985; Aslan, 2014).

Mide'yi geçen *B. abortus*, bağırsak mukoza epitelinde bulunan ve transepitelyal membran transportunda aktif role sahip M-hücrelerine (Microfold Cells) affinite duyar. Bir araştırmada *B. abortus*'un, BALB/c ve C57BL/6 farelerinde M-hücreleri apikal yüzeyinde bulunan hücresel prion proteini (PrPC) bir reseptör olarak kullandığı ve konak hücreye bu yolla girebildiği yaptığı çalışmayla tespit ederek bildirmiştir. İntra-epitelyal fagositler *B. abortus*'un lamina propria ve submukozasına trans-epitelyal göçünü ve taşınmasını sağlar. Oponize olan *B. abortus* komplemant veya Fc reseptörleri ile, oponize olmayan *Brucella* ise lektin ve fibronektin reseptörleri aracılığı ile etkileşime girerek penetre olurlar (Carvalho ve ark., 2010; Nakato ve ark., 2012; Aslan, 2014).

Brucella için önemli virülens faktörlerinden biri olan LPS'in O-zinciri ile makrofajın yüzeyinde bulunan lipid-sal (lipid raft) etkileşimi sonucu bakteri konak

hücre içine girerek, erken fagozomu oluşturur. Oponize bakterilerde, aktif makrofaj içerisinde erken fagozomlar, lizozomlar ile birleşerek fagolizozomları oluştururlar. Fagolizozomların asidik yapısı oponize bakterilerin ölümüne yol açtığı bilinmektedir (Starr ve ark., 2008; Aslan, 2014).

Yapılan deneysel enfeksiyon çalışmasında BHK-21 (Baby Hamster Kidney/Yavru hamster böbrek) hücreleri kullanıldığında, attenüe *Brucella* strain 19 (S19) suşunun hücreleri enfekte edebilmesine rağmen, etken enfeksiyonun geç aşamalarında *Brucella* içeren kompartmanların lizozom ile birleşmesi sonucu oluşan otofagozomlar içerisinde yıkımlanır. Oponize olmayan *Brucella*, LPS'in O zinciri ile makrofaj yüzeyinde bulunan lipid sala (lipid raft) tutunarak hücre içine girer. Enfeksiyondan yaklaşık 1 saat sonra *Brucella* içeren vakuol endoplazmik retikulum ile etkileşime girmektedir. Bakteri enfeksiyondan 11-12 saat sonra endoplazmik retikulumda replike olmaya başlar. Enfeksiyonun ardından yaklaşık 48 saat sonra, hücre içinin tamamen bakteri ile dolması veya besin maddelerinin tükenmesini takiben bakteri hücreyi lize ederek dışarı yayılır ve diğer hücrelerin enfeksiyonu şekillenmeye başlamasına neden olmaktadır (Celli, 2006; Carvalho ve ark., 2010; Aslan, 2014).

Brucella patogenezinde rol oynayan bir diğer virülens faktör, virB operonu tarafından kodlanan “Tip IV sekresyon sistemi” (T4SS)’dir (De Jong ve Tsois, 2012). T4SS yapısı, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella spp.*, *H. pylori*, *Bordetella pertussis* ve *Rickettsia prowazekii* gibi birçok Gram negatif bakteride, efektör proteinlerin konak hücre içerisinde transloke edilmesinden sorumludur. *Brucella*’da ise bakterinin fagosite edilmesi ile oluşan fagolizozomun asit ortamı T4SS’yi uyarır. Uyarılan T4SS ile konak hücre sitoplazmasında tanımlanan 11 *Brucella* proteininin 5’i {BAB1_0678 (BspA), BAB1_0712 (BspB), BAB1_0847 (BspC), BAB1_1671 (BspE) ve BAB1_1948 (BspF)} hücre içine aktarılır. Enfeksiyon sırasında bu proteinlerin hücre salgı yolunu etkileyerek konakçı protein sentezini engellediği ve protein salgısını bu şekilde baskıladığı saptanmıştır. Bu etkiler ile *Brucella* interferensi sağlanırken, hücre içi çoğalma ve in-vivo persistenliğin desteklendiği rapor edilmiştir. Bu aşamada *Brucella* içeren vakuol

oluşur ve endoplazmik retikulum ile etkileşime girer (Celli, 2006; (Llosa ve ark.,2009; Myeni ve ark., 2013; Aslan, 2014).

Oluşan endoplazmik retikuluma bağlı kompartmanlar, *Brucella*'nın makrofaj, epitel hücre hatları ve plasental trofoblastlarda hücre içi replikasyonu için uygun alanlar oluşturur. *Brucella* bu mekanizma ile retiküloendotelial sistemin fagositik hücreleri ile fagositik hücre özelliği göstermeyen trofoblastlarda çoğalabilirken, kompartmanlar sayesinde persiste kalarak kronik enfeksiyon halini aldığı yapılan çalışmalar sonunda rapor edilmiştir (Xavier ve ark., 2010; Aslan, 2014).

B. abortus için önemli bir diğer virülens faktörün betain aldehid dehidrojenaz (BetB) (Gen Bankası ID: 006932) olduğu rapor edilerek bildirilmiştir. Yapılan deneysel enfeksiyon çalışmasında BetB geninin *B. abortus*'un hiperozmotik çevre ve ozmotik stres koşullarına direnç sağlanmasında görevli olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında bakterinin hedef hücreye girişinde, hücre içi trafikte ve hücre içi çoğalmada rol oynadığı tespit edilmiştir. İlaveten araştırmacılar *B. abortus*'un virülens ve patogeneğinde etkili olduğunu tespit ettikleri BetB geni silinmiş mutant *Brucella* suşunun Brusellozisin kontrolünde canlı aşı olarak kullanılabileceğini rapor edilerek bildirmişlerdir (Lee ve ark., 2014; Aslan, 2014).

Brucella etkenleri sığırlarda vücuda deri, konjunktiva, solunum sistemi veya gastrointestinal sistemi aracılığı ile girer. Sonrasında etken bölgesel lenf düğümlerine yerleşir ve lenfatik damarlar ile kan dolaşımına geçer. Etken, bakteriyemi sonucu epitelyal hücre hatlarına ve sığır trofoblastik hücrelere, lenf düğümleri, gebe uterus, testisler, tendo kılıfları, meme dokusu ve seyrek olarak da eklemlere yerleşir. Bu organ ve dokulara lokalize olan bakteriler, makrofajların ve epiteloid hücrelerin infiltrasyonuna neden olarak bu bölgelerde makrofaj yığılmaları şekillenir. Sığırların ve mandaların fetal zar ve plasental trofoblast hücrelerinden gebeliğin son trimesterinde salgılanan ve 4-karbon alkol şekeri yapısındaki eritritol, *Brucella* etkenlerinin (özellikle *B. abortus*) tercih ettiği karbon ve enerji kaynağı olarak bilinmektedir. Eritritol varlığında genital kanalda hızla çoğalan *Brucella*'nın kotiledonlarda yangısal ve nekrotik değişiklikler meydana getirdiği belirlenmiştir. Meydana gelen değişimler sonucu fetusun beslenme ve gelişmesi engellenerek fetal

ölüm ve düşme vakaları gerçekleşir (Carvalho ve ark., 2010; Jain ve ark., 2012; Poester ve ark., 2013; Aslan, 2014).

Etken fetusa ait koriyonik villi epitellerinde üredikten sonra koriyon ve uterus mukozası arasına yayılır. Villilerde oluşan dejenerasyon ve yıkımlanma sonucu meydana gelen fibrinopurulent eksudat fetal ve maternal zarlar arasındaki bağlantının gevşemesine ve fetal membranın ayrılmasına neden olur. Böylece fetusun düşmesi gerçekleşir. İnsan plasentasında eritritol bulunmaz ve bundan dolayı insanlarda, *Brucella* enfeksiyonlarına bağlı düşmelerin meydana gelmediği rapor edilerek bildirilmiştir (Aslan, 2014).

2.7. Dirençlilik

Brucella türleri ısı ve dezenfektanlara karşı dayanıksız olup, 60°C’ de ısıtmakla 10 dakikada, 72°C’de 15 sn. içinde 100°C’de ise hemen ölürlür. İlaveten %2’lik formol, %1’lik lizol eriyiğinde 15 dakikada ölmektedirler. Pastörizasyon esnasında çabuk ölmelerinin epidemiyolojik değeri vardır. Bu yüzden usulüne uygun olarak yapılan pastörize sütlerden hazırlanan peynir, tereyağı, krema gibi süt ürünlerinden bruselloz bulaşma riski en aza indirilmiş hatta bulunmamaktadır. Süt içinde 17 gün, taze beyaz peynirde 2,5-3 ay, % 10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, % 17 tuz içeren salamura peynirde 1 ay, soğutulmuş etlerde 14 gün yaşadığı, tereyağında 142 gün canlı kaldığı bilinmektedir. Kokuşmayla canlılıklarını kısa sürede kaybederler. Tuzlanmış domuz etinde 3 hafta, çeşme suyunda 8°C’de 57 gün, 25°C’de ise 10 gün canlılığını koruduğu, insan idrarında en az 7 gün, hayvan dışkısında açıkta 100 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay canlı kaldığı bildirilmiştir. Güneş görmeyen toprakta 10 haftadan, gübrede 2 yıldan, 48°C’de saklanan keçi peynirinde ise 6 aydan daha uzun süre yaşadığı bildirilmiştir (Arda, 1997; Taşkın, 2007; Taşkın, 2012).

Brucella kültürleri ise buzlukta 3-6 ay kadar canlı kalabilir. Düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, enfekte kaynatılmamış süttten yapılmış dondurmada 30 gün yaşayabilir. Tulum ve kaşar peyniri uzun süre bekletildiği için, yoğurt ise asiditesi fazla olduğundan hastalığı bulaştırma riski çok düşüktür ya da bulaştırmazlar. 0°C’de 2.5 yıl, dondurulmuş dokularda birkaç yıl, nemli toprakta 60 gün ve 20°C’de % 40 nemli ortamda 144 gün canlı kalabilir. Etlerin normal dinlendirilmesi süresince

oluşan pH değişikliği (asitlik) ette bulunabilecek *Brucella* mikroorganizmalarını yok edilmesinde etkili ve yeterli olduğu bildirilmektedir (Arda,1997; Bilgehan, 2004; Taşkın, 2007; Taşkın, 2012).

Tablo 2.5. Mikroorganizmanın Farklı Koşullarda Canlı Kalma Süresi (Abdelkareem, 2008)

ORTAM	Canlı kalma süresi
Çeşme suyu 8 C PH 6,5	2 ay
Dondurulmuş Doku	Birkaç yıl
Nemli Toprak	2 ay
İdrar	1 ay
Dışkı	40 gün
Kuru toprak	4 gün
Pastörizasyon ısısı	10-15 dk
%2'lik Formalin	15 dk
%1'lik Lizol	15 dk

2.8. Süt ve Süt Ürünlerinde *Brucella* Cinsi Bakterilerin Varlığı

Günümüze kadar yapılan çalışmaların sonuçlarına göre; *Brucella* türlerinin değişik süt ve süt ürünlerinde farklı iç ve dış faktörlere bağlı olarak kalma sürelerinin değiştiği ve uzun süre canlılıklarını devam ettirdiği ve bu yönüyle relatif dirençli bakteriler oldukları bildirilmiştir. *B. melitensis*'in sütte 11–15°C'de 15 gün, kıymıda 3 gün; *B. abortus*'un sütte 0°C'de 18 ay, dondurmada 30 gün, tereyağında 142 gün, kremada 4°C'de 6 hafta, Cheddar türü peynirlerde 6 ay canlı kalabildiği gözlenmiştir. Peynir çökelek halinde bekletildiği zaman *Brucella*'nın yaşam süresi peynire göre daha fazla olduğu 3 aya kadar uzadığı bildirilmiştir. *Brucella* sp.'nin, keçi sütünden yapılan peynirlerde 100 günden fazla canlı kaldığı, 4.4°C'de depolanmış peynirlerde 6 ay ile 1 yıl arasında canlı kaldığı belirlenmiştir. Koyun ve keçi sütlerinde bulunan *Brucella* daha uzun süre yaşadığı ve yok etme işlemi bu yüzden de uzun sürmektedir. *Brucella* spp.'nin, sütte haftalarca, tereyağında 4 ay ve beyaz peynirde 2.5-3 ay canlı kalabildiği belirtilmektedir (Akcan Kale, 2009; Urçar, 2011).

İngiltere’de yapılan bir çalışmada *B. abortus* ile enfekte süte kısa süreli yüksek Isı (High Temperature Short Time) pastörizasyon uygulaması sonucu etkenin canlılığını kaybettiği belirlenmiştir. Ayrıca, oda sıcaklığında bekletilen kaynatılmamış sütlerde *B. abortus* varlığı belirlenmiş ve süt serumunda zaman içinde pH düşmesine bağlı olarak, etkenin 4 gün içinde yıkımlandığı tespit edilmiştir. Ancak, kaynatılmamış sütler 5°C’de saklandıklarında pH düşmesinin yavaş gelişmesine bağlı olarak etkenin yaşam süresinin 6 gün, sitrik asit/fosfat buffer (pH 4.0 ve üzeri) solüsyonunda depolandıklarında etkenin yaşam süresinin 8 günden fazla olduğu saptanmıştır (Davies ve Casey, 1973; El-Daher ve ark.,1990; Akcan Kale, 2009).

Karasoy (1961), *B. melitensis* içeren koyun sütlerinden yapılan ve % 7 oranında tuz içeren salamurada olgunlaştırılan beyaz peynirlerde etkenin 46 gün, ayrıca % 17 tuz içeren salamurada olgunlaştırılan peynirlerde 30 gün canlı kalabildiklerini bildirmiştir. Böylece beyaz peynirlerin en az 60 gün süre olgunlaştırılması ile canlılıklarını yitirdiklerini yapılan çalışmalarda tespit etmişlerdir.

Balıkesir bölgesinde üretilen krema ve beyaz peynirlerde *B. melitensis*’in canlı kalma süresi ile ilgili yapılan bir çalışmada; fermente olmuş peynirlerin *Brucella* içerdiğini ve imalattan 90 gün sonrasına kadar bu peynirler ile kobayların enfekte edilebildiği bildirilmiştir. Kaynatılmamış süttten yapılan peynirlerde *Brucella* etkenlerinin 90 güne kadar canlı kalabildiği tespit edilmiştir. Kaynatılmamış sütle hazırlanan gıdaların en az 120 gün soğuk depolarda bekletildikten yani kaynatılmamış süttten yapılan ürünün dinlendirilmesiyle ve dinlendirildikten sonra tüketime sunulması durumunda insanların bu hastalıktan etkilenme riskinin daha az olduğu ya da hastalıktan korunabileceği de saptanmıştır. Ayrıca çeşitli süt ve süt ürünlerinde bulunan *B.melitensis* türlerine pH’nın etkisini de incelemişlerdir. Çalışmada pH 5.5 ve üzeri broth’larda *B. melitensis*’in 4 haftadan daha fazla sürede yaşadığı, pH 4.0’dan daha düşük broth’larda gelişemediği bildirilmiştir. Özellikle yumuşak peynirlerde 72 saat sonra *B. melitensis* varlığı tespit edilirken, diğer süt ürünlerinde (süt, yoğurt ve yayık ayranı) 96 saat sonra etken gözlenememiştir. Yine Kaynatılmamış süttten yapılan taze peynirlerde *Brucella* etkenlerinin 90 güne kadar canlı kalabildiği belirlenmiştir (Ünel ve ark., 1968; Urçar, 2011).

İnek sütüne oranla kaynatılmamış koyun sütünden yapılan peynirlerin brucellozis yönünden insan sağlığını daha çok tehdit ettiği ve yok edilmesinin daha zor olduğu bildirilmiş ve bu durumun özellikle Akdeniz ülkelerinde hala sorun olduğu saptanmıştır (Urçar, 2011).

İnsanlarda gözlenen *B. abortus* enfeksiyonunun % 60'ının brucellozis'e yakalanmış hayvanlarla temas sonucunda, % 40'ının ise hastalıklı hayvanların sütlerinin içilmesi veya bu sütlerden hazırlanan ürünlerin tüketilerek enfeksiyon oluşturduğu belirlenmiştir (Akcan Kale, 2009).

Tablo 2.6. Fiziko-Kimyasal Özellikler Açısından İnek Sütünün Bileşenleri (Serttaş, 2006)

1.	Emülsiyon Halinde Olanlar	Miktar g/lt
1.1	Trigliseridler	30-45 g
1.2	Fosfolipidler Lesitin, Kefalin, Sifingomyelin	0.3 g
1.3	Steroller Kolesterol, İonosterol, 7-dehidrokolesterol	0.1 g
1.4	Glisridler Monoglisridler, Diglisridler	0.15-0.22 g
1.5	Yağda eriyen vitaminler Vitamin A, Provitamin, Vitamin D, Vitamin E	0.1-0.5 mg
1.6	Serbest yağ asitleri	1 mg
2.	Kolloidal Dispersiyon Halinde Olanlar	
2.1	Kazein α -Kazein, β -Kazein, k-Kazein	28-32g
2.2	Albümin α -Laktalbümin, Serumalbümin Laktoglobulin-A, Laktoglobulin-B	1.3g
2.3	Globulin	0.3g

Euglobulin, Pseudoglobulin

Yağ globulin proteinleri

2.4 Enzimler

Katalaz, Peroksidaz, Ksantinoksidaz, Fosfataz

Aldolaz, Amilaz, Lipaz, Proteaz

3. Gerçek çözelti halinde olanlar
--

3.1 Karbonhidratlar	47-48g
----------------------------	---------------

α -laktoz-hidrat, β -laktoz

Glukoz, Galaktoz, Diğer şekerler

3.2 Katyonlar	0.10-1.25g
----------------------	-------------------

Kalsiyum, Magnezyum

Sodyum, Potasyum

3.3 Anyonlar

Hidrojenfosfat, Dihidrojenfosfatlar

Fosfat, Sitrata, Klor, Hidrojenkarbonat, Sülfat

3.4 Suda çözünen vitaminler	0.4-1.2m
------------------------------------	-----------------

B1 vitamini, B2 vitamini, B6 vitamini

B12 vitamini, C vitamini, Niasin, İnositol

Pantotenik asit, Folik asit, Biotin

Tablo 2.7. Süt ürünlerinde *Brucella* spp. yaşam süreleri (Abdelkareem, 2008)

Ürün	<i>Brucella</i> spp.	Yaşam süresi	Sıcaklık (°C)	pH
Süt	<i>B.abortus</i>	5-15 sn	71.7	-
	<i>B.abortus</i>	<9 saat	38	4.0
	<i>B.abortus</i>	24 saat	25-37	-
	<i>B.abortus</i>	18 ay	0	-
Krema	<i>B.abortus</i>	6 hafta	4	-
	<i>B.melitensis</i>	4 hafta	4	-
Dondurma	<i>B.abortus</i>	30 gün	0	-
Tereyağı	<i>B.abortus</i>	142 gün	8	-
Peynir (çeşitli)	<i>B.abortus</i>	6-57 gün	-	-
Peynir (çeşitli)	<i>B.melitensis</i>	15-100 gün	-	-
Peynir (feta)	<i>B.melitensis</i>	4-16 gün	-	-
Peynir (Pecorino)	<i>B.melitensis</i>	<90 gün	-	-
Peynir (Roguefort)	<i>B.abortus</i>	20-60 gün	-	-
	<i>B.melitensis</i>			
Peynir (Camembert)	<i>B.abortus</i>	<21 gün	-	-
Peynir(Erythrean)	<i>B.melitensis</i>	44 gün	-	-
Peynir (Cheddar)	<i>B.abortus</i>	6 ay	-	-
Beyaz peynir	<i>B.melitensis</i>	1-8 hafta	-	-
Kesilmiş süt serumu	<i>B.abortus</i>	<4 gün	17-24	4.3-
	<i>B.abortus</i>	>6 gün	5	5.9

2.9. Diğer Gıdalarda *Brucella* Türlerinin Bulunuşu

Brusellosis, insanlara çoğunlukla kontamine et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi sonucu sindirim yoluyla veya laboratuvar çalışması yapılırken solunum yoluyla geçmektedir. Türkiye’de özellikle bilgilendirmeden mahrum kalan, özellikle kırsal kesimlerde kaynatılmamış süttten yapılan peynir, krema, tereyağı, dondurma önemli enfeksiyon kaynağıdır. Kaynatılmamış süttten yapılan kremlerin santrifüj işlemi, etkenlerin süt yağında yoğunlaşmasına ve yağın koruyucu fonksiyon göstermesine bağlı olarak’ta büyük risk grubunu oluşturmaktadır. Kasaplık hayvan etleri *Brucella* içerse de, olası az sayıda etkenin uygulanan ısı işlemi ile yıkımlanmasına bağlı olarak *Brucella* enfeksiyon oluşum riskinin az olduğu belirlenmiştir. Yoğurt yapım teknolojisine göre sütlerin pastörize edilmesi ve yoğurt mayasının sütü asitlendirmesi sebebiyle *Brucella* cinsi bakterilerle yoğurt tüketimine bağlı olarak bulaşma görülmemektedir. Enfekte hayvan dışkısının tarlada gübre olarak kullanılmasına bağlı olarak, sebzelerin kontamine olup hastalığın insanlara bulaşma riskini artıracığı bildirilmiştir. Bundan dolayı döngü de hastalığın bulaşma riski artmaktadır (Sözen, 1996; Erol, 1997; Taşçı, 2003).

Kaynatılmamış süttün tereyağ, krema, krem şanti gibi süt ürünlerinin işlemeden önce daha uzun süre saklanabilmesi ve sütteki mikroorganizma sayısını azaltmak amacıyla 57°C ile 68°C arasında en az 15 dakika süre ile ısıtıldığı, bu sütlerin alkali fosfataz testinde pozitif reaksiyon gösterdiği sütteki patojen mikroorganizmaların vejetatif formlarının tamamının, diğer mikroorganizmaların büyük bir kısmının sayıca indirgenmesi amacıyla pastörizasyon işlemi yapılmaktadır.

Tüm mikroorganizmalar ve sporların yok edilmesi amacıyla sterilizasyon işlemlerinin yapılması gerektiğini, Brusellosis tesbit edilmiş hayvanlarla birlikte aynı sürüde bulunan sağlıklı hayvanlardan elde edilen süttün ancak ısı işleminden sonra pastörize edilmesine bağlı olarak süt ve süt ürünleri üretiminde kullanabileceği ifade edilmektedir (Akhan ve Akova, 1996; Taşçı, 2003)

2.10. Klinik Belirti ve Bulgular

Brusellozis bulgularında bakterinin inkübasyon süresi, etkenin giriş yolu, sayısına ve hayvanın duyarlılığına bağlı olarak yaklaşık 15-150 gün arasında değişmektedir. Sığırlarda görülen başlıca klinik bulgular düşürme, döl tutmama, orşitis ve mastitis'dir. Gebelik süresince hayvanlarda klinik belirti görülmez. Düşürme vakaları gebeliğin her döneminde oluşabilse de genellikle gebeliğin son aylarında 5-8. ayları arasında meydana gelir. Daha geç veya erken düşük vakalarıyla da karşılaşmaktadır. Genellikle ilk kez enfekte olan ve aşılammamış ineklerin %30-80'inde düşme gözlenmektedir. Buna rağmen *Brucella* ile enfekte ineklerin takip eden gebeliklerinde tekrar düşük yapma oranları %10-25 arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca ineklerde *Brucella* kaynaklı düşmelerden sonra retensiyo sekundinarum ve metritis (buzağılamayı takiben görülen önemli bir puerperal hastalıktır, ineklerde RS rastlantı sıklığı (% 2-39), işletme ve yöreler arasında farklılıklar göstermekle birlikte diğer hayvanlara göre daha fazladır) olgularına sıklıkla rastlandığı bildirilmiştir (Acha ve Szyfres, 2003; Aslan, 2014).

Brusellozis salgınlarında ineklerde süt veriminde önemli azalma, somatik hücre sayısında artış ile düşük ve metritis vakaları meydana gelmektedir. Düşürme fetusta otoliz şekillenirken abdominal organlar fibrinle kaplıdır. Pnömoni ve peritonit semptomları düşük fetusunda tespit edilen diğer lezyonlardır (Xavier ve ark., 2010; Aslan, 2014).

Enfeksiyonun erkek hayvanlarda oluşturduğu en önemli klinik semptom ise orşitistir. Akut dönemde testislerde adezyon ve fibrozis sonucu meydana gelen atrofinin erkek sığırlarda kısırlık oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir. Erkek sığırlarda testiste meydana gelen orşitis, unilateral şekillenmesine rağmen her iki testisin de enfekte olduğu bilinmektedir. Diğer bir çalışmada erkek sığırlarda *B. abortus* S19 aşılamasından 10 gün ve 7 ay sonra orşitis, epididimitis ve seminal vezikülitis semptomları gözlenmiştir. *Brucella* enfeksiyonlarında artritis olguları da gözlenebilmektedir. *B. abortus* S19 suşu ile deneysel enfeksiyon çalışmasında buzağılarda eklem sıvısında fibrin artışı, kırıkta eklem yüzeylerinde aşınma ve erozyonlar şekillenirken, eklem sıvısının irinli olmamakla birlikte bulanık

görünümde olduğu yapılan çalışmalar sonucu saptanmıştır (Johnson ve ark., 1994; Rhyan ve ark., 1997; Megid ve ark., 2010; Aslan, 2014).

Brusellosis, organizmadaki birçok organı ve sistemi etkilediği için, oldukça büyük bir semptomlar topluluğu ve polimorfizmine sahiptir. Hastalığın şiddeti; sorumlu olan bakterinin türüyle, kişinin duyarlılığı ve kişinin bağışıklık sistemiyle, altta yatan başka bir hastalığın olup olmaması ve hastanın geçmişiyle de ilgilidir. Hastalığın kuluçka süresi, bir haftadan birkaç aya kadar değişmekle birlikte, genelde 7-21 gün kadardır. Hastalığın, asemptomatik enfeksiyon (ambulan tip), akut enfeksiyon, subakut enfeksiyon (ondülan tip), kronik enfeksiyon olmak üzere birbirinden farklı 4 klinik tablosu olduğu bilinmektedir (Özgür, 2006).

Asemptomatik enfeksiyon; ancak yapılan serolojik taramalarla ortaya çıkarılabilen ve belli başlı bir hastalık tablosu ve yakınmaya bağlı olmayan başka bir duruma yol açmamaktadır. Daha çok hayvanlarla sık temasta bulunan çiftlik çalışanı, hayvan sahibi, çoban, veteriner hekimin yüksek risk grubunda olduğu saptanmıştır. Kişi bakteriyi taşır ve ancak bağışıklık sistemi baskılandığında belirgin enfeksiyon tablosu gelişir (Aslan, 2014).

Akut enfeksiyon; hastalığın tipik ve klasik formudur. Bakteri alındıktan sonraki ilk 3-4 hafta olup genellikle öğleden sonraları kendini gösteren huzursuzluk hissi, kırgınlık, güçsüzlük, halsizlik, bulantı, iştahsızlık, baş ağrısı, artralji, miyalji gibi genel enfeksiyon belirtileri ile sinsi olarak başlamaktadır Akşam saatlerinde üşüme ve titreme ile ateş yükselmeye başlar, her gün birkaç derece artarak 8-10 günde 39°C - 40°C' ye ulaşan bir ateşle karakterizedir (Aslan, 2014).

Subakut enfeksiyon; hekimler için önemli tanısal yanılgılara yol açan, hafif ateş, halsizlik, kırgınlık ve iştahsızlık gibi yakınmalarla genellikle grip olduğu sanılan bir klinik tablodur. Hastanın uygun ve yetersiz tedavi aldığı veya yanlış tedavilerin devreye girdiği klinik tablo olarak tanımlanır. Birkaç tekrar sonrasında asemptomatik enfeksiyon tablosuna geçebildiği gibi akut enfeksiyon tablosuna da dönüşebilir (Sırmatel ve ark., 2000; Aslan, 2014).

Kronik enfeksiyon; en az altı ay ile bir yıl arası bazen bir yıldan daha fazla süren semptomların görüldüğü olgulardan ibarettir. Bu olguların büyük çoğunluğunu,

hastalığın başlangıcında uygun protokollerle tedavi edilmemiş tablonun tam olarak teşhisinin yapılmamasından kaynaklanmaktadır. Bundan dolayı kemik, eklem, karaciğer ve dalakta fokal süperatif tutulumu olan hastalıklar oluşmaktadır. Daha çok 40 yaş üstü kişilerde görülmektedir. Olguların 1/5' in de hiçbir akut enfeksiyon anamnezi ve aktif enfeksiyon kanıtı olmaksızın, psikiyatrik veya romatolojik hastalıkları anımsatan, ve hatalı tanılara yol açan belirti- bulgular saptanabilmektedir. Hastalarda kronik yorgunluk, depresyon, motive bozukluğu ve eklem ağrıları bazen tek yakınma sebebi olabilir. Bazende birden fazla hastalık yakınmaları söz konusudur. Olguların bir kısmında sıklık episklerit ve üveit gibi göz patolojileri gelişebilmektedir. Bu tanının konulduğu hastaların çoğunluğu günümüzde Kronik Yorgunluk Sendromu ya da Kronik Lyme hastalığı tanılarını alan hasta grubunda gözlendiği bildirilmiştir (Ariza, 1995; Özgür, 2006).

Birkaç saat süren ateş, sabaha doğru bol terleme ile normale iner. Eğer tanı konmamış ve tedaviye başlanmamış ise ateşin tekrar her gün kademeli olarak düş ve tığı 2. haftanın sonunda hastanın normal ateş değerlerine ulaştığı bildirilmiştir. Hastada geçici bir iyilik hali başlamakla birlikte, 8-10 gün sonra aynı ateşli dönem tekrar başlar. Tarif edilen bu ateş şekli, brucellosis için tipik olup "Öndülan Ateş Trasesi" olarak tanımlanır ve pratikte sık rastlanmamaktadır. Brucellosis de ateş genellikle remittan veya intermittan olarak seyreder. Hastalık böylece arka arkaya ateşli ateşsiz dönemler halinde aylarca da sürebilmektedir. Hastanın kilo kaybetmesinin yanı sıra hastalarda bu ateş periyotlarının bulunması dışında, ikinci en sık yakınmalar, gezici eklem ve kas ağrılarıdır. Bazı olgularda hidrartroz ve diz, dirsek, ayak bileği ve el parmakları gibi eklemlerde geçici şişlikler görülebilir. Olguların % 60' ın da tek eklem tutulumundan söz edilmektedir. Hastalığa eşlik eden en sık tutulum, sakroiliak eklemdir. Eklem tutulumu olanlarda, uygun tedavi yapılmasına rağmen relaps ve reenfeksiyonlar sıklıkla problem yaratmaktadır. Orşit, bazı olgularda tek başlangıç bulgusu olabildiği gibi, sıklıkla bir refakat bulgusu da olabilmektedir. Bazı nadir olgularda ise hasta tipik bir menenjit tablosuyla hekime başvurur. Özetle, brucellosis tüm sistemleri içeren zenginlikte klinik belirti ve bulgulara sahiptir. Hastalar pek çok yakınma ile başvurur, ancak sıklıkla ateş dışında objektif bulgu yoktur. Hastaların fizik muayenesinde; solukluk, halsizlik, motive düşüklüğü güçsüzlük, iştahsızlık ve ateş yüksekliği dışında 1/2 olguda splenomegali,

2/3 olguda hepatomegali olduğu saptanmaktadır. Önceleri yumuşak ve hafif ağrılıyken, tedavisiz olgularda zamanla sert ve dayanılmaz ağrılara neden olurlar. Olguların 1/5' in de ise servikal ve inguinal bölge başta olmak üzere lenf büyümesine neden olabildiği bildirilmiştir (Sözel, 1996; Özgür, 2006).

Brucella enfeksiyonları sonucu insanlarda akut ve ateşli bir hastalık tablosu meydana gelir. Hastalık kronik forma dönüştüğünde iskelet, kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi gibi birçok sistemde ciddi komplikasyonlar görülmektedir. Nadir olarak endokarditis, meningoensefalitis ve miyelitis meydana gelir (Franco ve ark., 2007; Aslan, 2014).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda insan bağışıklık yetmezlik virüsü (*Human Immunodeficiency Virus/HIV*) ile enfekte insanlar da *B. canis* etkeninin izole edildiği ve bunun besledikleri evcil köpeklerden bulaştığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu durumun insan popülasyonunda *Brucella* enfeksiyonunun yaygınlaştığını ve sıklıkla görüldüğünü daha da artarak ilerleyen dönemlerde araştırılması ve çalışılması gerekli olan zoonotik hastalıkların başında geldiği ve bu konunun da önemli olduğunu bildirmişlerdir (Lucero ve ark., 2010; Lawaczek ve ark., 2011; Aslan, 2014).

2.11. Komplikasyonlar

Erkenden tanı konmuş veya tam olarak tedavisi uygulanmış *B. abortus* ve *B. suis* enfeksiyonlarında komplikasyon riski %3' in altındadır. Geç tanı konulmuş veya yanlış tanı konmuş komplikasyonlar da ise bu oran artar. Brusellosis de pek çok organ tutulumu gelişebilir ve tutulan bölgeye göre fokal semptom ya da bulgular ortaya çıkabilir. 530 olgunun ele alındığı prospektif bir çalışmada olguların %35'inde fokal komplikasyonların geliştiği bildirilmiştir. Tanı konulmadan önce 30 günden uzun süreyle semptomların devam etmiş olması, fokal hastalık gelişimi yönünden majör bir risk faktörü oluşturabilir. En sık lokalizasyon bölgeleri şöyle sıralanabilir: Osteoartiküler, özellikle sakroileit % 20-30 genitoüriner, özellikle epididimoorşit % 5-35 nörobruselloz, genellikle menenjit % 2 endokardit %1 hepatik abseler %1 Çok daha az sıklıkla ortaya çıkan diğer komplikasyonlar; splenik, tiroid ve epidural abseler, pnömoni, plevral effüzyon ya da ampiyem ve üveittir (Ariza ve ark., 1993; Young, 1995; Colmenero ve ark., 1996; Özgür, 2006).

İskelet- kas sistemi; başta *B. melitensis* infeksiyonları olmak üzere brucellosis de, olguların % 25- 75' in de osteoartiküler tutulum belirlenmiştir. Ateşle beraber en önemli ve en sık görülen ikinci bulgu kas ve eklem ağrılarıdır. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde hastalığa karakterize olan ateş ve terleme azalırken, ikinci karakterize olan hareket sistemi bulguları ön plana çıkar. Hastalığın geç dönemlerinde, yakınmaların nonspesifik olması nedeniyle hastaya tanı koymak güçleşir. Hastaların bir kısmı nörotik oldukları düşünülerek başka kliniklere özellikle psikiyatri kliniklerine gönderilebilirler. Kas ağrıları bazen erken dönemde çıkarak tek bulgu olabilmektedir. Eklem bulguları ise genellikle hastalığın 3. ve 4. haftasında en sık görülen belirtidir. Artralji, artrit, spondilit, osteomyelit, tenosinovit, bursit ve sakroileit başlıcalarıdır. Bunlar arasında en sık olanları sakroileit (% 40), periferik artrit (% 35), ikisinin birlikte saptanması (% 10) ve spondilit (% 9). Sakroileit, hastalarda erken dönemde başlayabildiği gibi, tek başına veya yaygın artrit ve ateş atakları ile birlikte olabilir. Sakroileit çoğunlukla tek taraflıdır, gece ağrısı ve Laseque pozitifliği tipiktir. Artrit çoklukla diz, dirsek gibi eklemlerde, monoartiküler olarak belirir. Olguların 1/4' ün de ise poliartiküler olabilir. Eklem sıvısında lenfositik lökosit artışı görülür. Sıvıdan bakteri üretimi mümkündür. Spondilit genellikle hastalığın 1-2. ayından sonra ortaya çıkar ve genellikle ateşle ilgili değildir. Spondilit brucellozlu hastaların % 20– 60' inde görülür. Spondilit gelişimi halinde paravertebral abseler de tabloya eklenebilir, bu olgularda cerrahi drenaja kadar gidilebilir (Çokça ve ark., 1994; Sözen, 1996; Özgür, 2006).

İmmün komplekslere bağlı olarak reaktif artrit de gözlenebilir; ancak bu olguların hangi insan lökosit antijen (HLA) fenotipi ile ilişkisi olduğu tam olarak bulunamamıştır. Bazı serilerde sternoklaviküler artrit en sık nedeni olduğu bildirilmiştir. Hastaların % 15'i sadece romatizmal yakınmalarla başvururlar, bu durum 35- 65 yaş arası kadınlarda daha sıktır. Bursit kronik seyirli olup, en sık prepatellar bursa tutulmaktadır. Nadiren osteomyelit saptanır (% 1-2), en sık sternum, kaburgalar, iliak kemik gibi yassı kemikler etkilenir. Kaburga veya sternum üzerinde şişlik oluşumu dikkat çekmelidir. Nadiren eklem protez infeksiyonu etkeni olarak tanımlanmıştır. Brusellozis' deki kemik-eklem tutulumunun belirlenmesinde kemik sintigrafisi, normalde yapılan düz filmlerden çok daha duyarlı ve daha net

değerler verdiği yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (Sözen,1993; Özgür, 2006).

Sinir sistemi; hastaların bir kısmında kas ve eklem ağrılarının yanı sıra baş ağrısı da bulunmaktadır. Meningoensefalit, miyelit, parezi, parestezi, depresyon, kronik yorgunluk sendromu, psikoz ve nadiren de Guillain- Barré sendromu gelişimi başlıca nörolojik komplikasyonlardır. Olguların % 2-10 unda MSS (Merkezi sinir sistemi) tutulumu belirlenmiştir. Ancak, meningoensefalite rağmen olguların sadece 1/3'ünde ense sertliği belirlenebilir. BOS tetkikinde lenfositik pleositoz, protein artışı vardır. Glukoz düzeyi normal veya azalmıştır. Nörobrusellosis tanısında, BOS kültüründe etkenin üretilmesi mümkündür, ancak BOS' da *Brucella* IgG, IgM ve IgA antikorlarının ELISA ile araştırılması oldukça değerlidir. Kronik brusellosis olgularında, hastanın yatkınlığı da varsa psikoz gelişebilir (Bouza ve ark.,1987; Wilke ve ark.,1993; Özgür, 2006).

Kardiyovasküler sistem; brusellozis de nadir olarak % 2 oranında görülen, ancak en sık ölüm nedeni olan komplikasyon ise endokardittir. Endokardit gelişen vakalarda ölüm oranı yüksektir. Genellikle tanısı gecikmiş, 3 aydan eski olgularda görülmektedir. Aort kapağı en sık etkilenir, mitral kapak tutulumu ikinci sıklıkta görülür. Ekokardiyografide vejetasyonlar ve emboli gelişimi gözlenmektedir. Ölüm nedeni, progressif konjestif kalp yetmezliğidir. Tek başına antibiyotik ile tedavinin başarı şansı çok zayıf olup, kapak replasmanı gerektirmektedir. Ayrıca; aortit, miyokardit ve perikardit de nadiren görülebilen komplikasyonlardandır (Luboni ve ark., 1986; Kasab ve ark., 1988; Özgür, 2006).

Gastrointestinal sistem; olguların 1/3 ve 2/3'ün de karaciğer tutulumu gözlenerek belirlenebilir. Bulantı, kusma, karın ağrısı, mide krampları, diyare veya konstipasyon gibi genel belirtiler görülmektedir. Brusellosisli hastalarda dalak ve karaciğer büyüklüğü genellikle birlikte bulunur. Özellikle *B. abortus* enfeksiyonlarında hücresel bağışık yanıt mekanizmalarının aktivasyonu sonucunda granümatöz hepatit gelişimine rastlanmaktadır. *B. melitensis*' de granümatöz hepatit görülmekle birlikte, granüloksuz diffüz hepatit de gözlenmektedir. Periportal mesafelerde mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra akımının bozulması ve sarılık gelişimi söz konusu olabilir. Karaciğer fonksiyon testleri yükselebilir. Hepatik abse ve kolesistit

de brucellozis'in gastrointestinal sistemde belirti olarak görülebilen komplikasyonlardandır (Kılıçturgay, 1990; Young, 1995; Özgür, 2006).

Hematolojik sistem; brucellozis, primer olarak lenforetiküler yapıları, organları tutan bir hastalıktır. Hastalıkta dalak tutulumu gözlenebilirken splenomegali, (dalak büyümesi) karaciğer ve dalak apseleri de görülebilmektedir. *B. melitensis* olgularında diğer türlere göre daha fazla sıklıkta anemi, lökopeni, trombositopeni ve kemik iliğinin granülomatöz tutulumu sonucunda pansitopeni gibi belirtiler görülebilmektedir. Hipoprotrombinemi en sık görülen belirtilerdendir ve lokalize veya jeneralize lenfadenopati de görülmektedir (Luboni ve ark., 1986; Kasab ve ark., 1988; Özgür, 2006).

Cilt; hastalığın yüksek ateşle seyrettiği olguların % 5' un da nonspesifik cilt lezyonları, eritema nodozum, papül ve morbiliform, skarlatiniform, ekzematiform tarzda döküntüler görülebilir. Bazen düşük yapan hayvanların plasentasını çıkarmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının ön kollarında brucellozise bağlı dermatit de görülmektedir (Bouza ve ark., 1987; Sözen, 1996; Özgür, 2006).

Pulmoner sistem; bulguları inhalasyon yoluyla enfeksiyonun alındığı vakalarda bronşit, bronkopnömoni, akciğerde soliter veya multipli nodül, akciğer apsesi, hiler lenfadenopati ve plevral effüzyonu meydana geldiği bildirilmiştir (Young, 1995; Özgür, 2006).

2.12. Tanı ve Teşhis

Brucella enfeksiyonunun kendine özgü belirti ve bulgusu olmadığı için hastalık öyküsü teşhiste oldukça önemlidir. Özellikle hastanın mesleği, hayvan teması, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünü tüketme öyküsü ve hastanın geçmiş yaşantısı çok iyi sorgulanmalı ve iyi rapor edilmelidir. *Brucella* hücre içi bakteri oluşu nedeni ile klasik belirtiler dışında her hastalığı taklit etme özelliğindedir. Bu yüzden kesin tanısı etkenin izolasyonu ile konulmaktadır (Töre ve ark., 1987; Kocagöz ve ark., 2005; Taşkın, 2012).

Brusellozun tanısında klinik ve otopsi bulguları hastalıktan şüphe uyandırır da kesin teşhise yardımcı olmaz. Kesin tanı amacıyla laboratuvar ortamında bakteriyoskopi, kültür ekimi, hayvan deneyleri, bakteriyofaj ve alerjik testlerle birlikte kontrol ve brusellozisi yok etme programlarının yürütülmesinde kan serumu, süt ve süt serumu, vaginal mukus ve seminal plazma ile yapılan başlıca serolojik teknikler vardır. Bu testler; Rose Bengal Testi (RBT), Spot Testi, *Brucella* Kart Testi, Serum Tüp Aglütinasyon Testi (STA), Coombs Testi, Kompleman Fiksasyon Testi (KFT), Merkapto-Etanol/ Rivanol Tüp Aglütinasyon, İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHT), İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA), İmmunfloresan test (IFT), Radioimmunoassay (RIA), Süt Ring Testi,(MRT) EnzymeLinked Immunosorbent Assay (ELISA), *Brucella* Capt' dır (Alaçam ve ark., 1997; Fidancı ve ark.,1995; Taşkın, 2012).

İnsanlarda bu hastalıktan şüphelenildiği zaman teşhis genellikle serolojik yöntemlerle yapılmaktadır ve Oligo Polisakkarit (OPS)'e karşı direkt antikorların belirlenmesine dayanır. Çok sayıda serolojik tekniğin geliştirilmesine ve test edilmesine rağmen, altın standart olarak bilinen Standart Tüp Aglütinasyon testi daha çok kullanılır. Tüp Aglütinasyon testini doğru yorumlamak için uzun zamana ve deneyime ihtiyaç vardır. Bu test için indirekt Coombs testi dahil, Rose Bengal ve Slide Aglütinasyon testleri geliştirilmiştir (Young ve ark.,1989; Nielsen ve ark., 2002; Gülbaz, 2011).

Mikroorganizmaları kümeleştirmede kullanılan serum yeterliliğini ölçen test, anti-O-polisakarit antikorun varlığını yansıtır. Monomerler içindeki IgM'yi ayırmak için 2mercaptoethanol ya da dithiothreitol ile serum tedavisinden sonra tüp aglütinasyon testin kullanımı IgG antikorunu meydana çıkarır. 1/40 ve 1/60 titreleri ve yukarısı hastalığın varlığı için pozitif düşünülmektedir. Hastaların çoğu zaten klinik sunum sırasında yüksek titrelerle sahiptir. Bu yüzden, titrede 4 katı bir artış gözükabilir. IgM hastalığın erken safhalarında yüksektir ve başarılı bir tedaviden aylar, hatta yıllar sonra bile 1/40 altı gibi düşük seviyelerde kalmaya devam edebilir (Büyükcangaz, 2007; Gülbaz, 2011).

Serum testi, düşük seyreltmelerde ortaya çıkabileceği için, her zaman 1/40, 1/60, 1/80, 1/160, 1/320 gibi seyreltmelere doğru gitmektedir. Tüp aglütinasyon testi *B.*

canis antikorlarını meydana çıkarmaz, çünkü pürüzlü organizmanın yüzeyinde O-polisakarit yoktur. İmmünoenzimatik yöntemler (mesela enzime bağlı immunosorbent yöntemleri (ELISA) *B. canis* ile birlikte kullanım için geliştirilmiştir, ancak iyi bir şekilde standartlaşmamıştır (Hamdy ve ark., 2002; Gülbaz, 2011).

Brusellozun laboratuvarda tanılanmasında uygulanacak işlemler iki grupta incelenir;

- Rutin Laboratuvar Araştırmaları
- Özgül Laboratuvar Araştırmaları

2.12.1. Rutin Laboratuvar Araştırmaları

Bu incelemede sedimantasyon yüksekliği, anemi, lökopeni, lenfomonositoz, trombositopeni, hemolitik anemi, pansitopeni gözlemlenebilir. Karaciğer yerleşiminde karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma gibi lokal tutulumlara bağlı bulgular da genelde görülmektedir (Solomon ve ark., 1992; Altay ve ark., 2008).

2.12.2. Özgül Laboratuvar Araştırmaları

- Direkt Tanı Yöntemler
- İndirekt Tanı Yöntemleri

2.12.2.1. Direkt Tanı Yöntemleri

Hastalığa neden olan etkenin kültürden izolasyonu veya nükleer materyallerin moleküler tanı teknikleriyle belirlenmesi temeline dayanan yöntemlerdir (Altay, 2008).

Gram boyama

Materyalden yapılacak Gram boyamada örneklerdeki organizma sayısının azlığı nedeni ile genellikle başarısız sonuçlar alınmaktadır ve bu yüzden çok tercih edilen bir tanı yöntemi değildir (Arabacı, 2011).

Kültür

Etkenin varlığını saptamada altın standart test olarak kabul edilen kültür işlemi ile bakteriler izole edilir. Ancak hastalık prevelansının çok düşük olduğu ülkelerde ve bölgelerde etkenin tanınmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Ayrıca çok zaman alması, laboratuvar çalışanlarına bulaşma riski, kontamine olma, riski materyallerden izolasyon şansının az olması ve özel besiyerlerine gereksinim duyması gibi dezavantajlarının olduğu bilinmektedir. Ancak düzgün şekilde ekim yapılır ve uygun şartlar sağlanırsa en etkili tanı yöntemi olarak bilinmektedir (Abdelkareem, 2008).

Kanlı agar plağında 48 saatlik inkübasyondan sonra nokta şeklinde, renksiz, nonhemolitik koloniler ürerse ve mikroskopide ince, solgun boyanan gram negatif kokobasiller görülürse *Brucella* düşünülmeli ve klinisyen uyarılmalıdır. Numuneyi inceleyen herkes enfeksiyonun aerosolle bulaşma riskinin yüksek olduğunu bilmelidir. Bu yüzden çalışma yapan kişi çok dikkatli olmalıdır. Genelde geç üreyen bir bakteri olmakla birlikte BACTEC (Becton Dickinson) BACT/ALERT (Bio-Merieux) sistemlerindeki aerobik kültürlerde 2-3 günde üremektedir. Bakteriler ayrıca komplikasyon gösteren olgularda, BOS, eklem sıvısı, periton, perikard sıvılarından, idrardan izole edilebilir bunun yanısıra dalak, karaciğer, apse örneklerinden ve floralı bölgelerden de nadiren izolasyon yapılabilmektedir. Flora da bulunan bakterilerinin üremesini engellemek için steril olmayan vücut bölgelerinden alınan örneklerin ekimi seçici besiyerlerine yapılmalıdır. Et ekstresi, triptoz, glikoz, ve tuz içeren ortamlarda birçok tür izole edilebilmesine karşın, birçoğunun da tiamin, niasin, nikotinik asit, biotin ve serum gibi maddelerin varlığında ürediği saptanmıştır. *Brucella* spp. üretilmesinde kullanılan besiyerleri; antibiyotikli, glikozlu, serumlu buyyon ve agar, *Brucella* buyyonu ve agarı, çikolatamsı agar, albüm buyyonu ve agarı, kanlı agar, serum dekstroze agar vetripticase soy agardır. Bazı türlerin ise MacConkey agar, Thayer Martin, MartinLewis besiyerlerinde de ürediği belirtilmiştir (Fındık, 2005; Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Genelde çok kullanılmayan ve önerilmeyen bu testler, in-vitro olarak çok geniş bir yelpazede duyarlılık göstermelerine rağmen in-vivo etkinliği oldukça azdır. Bu da bakterinin intrasellüler yerleşimi ile açıklanabilmektedir. Başarılı bir tedavi için, hücre içine penetrasyonu iyi olan ilaçlar gerekmektedir (Young, 2005; Taşkın, 2012).

E-Test Yöntemi (AB Biodisk, İsveç)

Yayılım temeline dayanan, plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiyal ajanın MİK değerinin saptanabildiği bir duyarlılık yöntemi olarak bilinmektedir. Stripin bir tarafında ilaç, belirli ve sürekli bir konsantrasyon değişimi olacak şekilde bulunurken diğer yüzünde de antimikrobiyal ajanın stripin ucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyonları bir cetvel gibi sıralanmıştır. Standart bakteri inokulumu, test için uygun katı besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra stripler yerleştirilir ve inkübasyon süresi sonunda elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenir. E-test stripleri -20°C'de saklanır ve kullanılmadan 30 dakika önce çıkarılıp oda sıcaklığına ulaşınca kadar bekletilir (Taşkın, 2012).

Moleküler Testler

Son yıllarda bruselloz tanısında kullanılmaya başlanan Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PCR) duyarlılığı (% 100) ve özgüllüğü (% 98.3) yüksektir. Periferik kan veya kan dışı örnekler kullanılabilir. PCR tanı ve relapsların erken tansında çok yararlı bir teknik olmasına rağmen rutin olarak kullanılmamaktadır (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemi İle Brucella'nın Tanısı

Moleküler diyagnostik bu teknikler diyagnostik uygulamada önemli bir devrimi temsil eder. İlk kez K. Mullis tarafından 1987 yılında tanımlanan ve kendisine 1993 yılında Nobel ödülünü kazandıran bu yöntem, günümüzde moleküler biyolojinin vazgeçilmez ve sürekli kullanılan araçlardan birini oluşturmaktadır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) belirli bir DNA bölgesinin in-vitro şartlarda enzimatik olarak çoğaltılarak antijenin varlığının ortaya koymaya yönelik

bir tekniktir. Hedef ise genetik materyalin, oligonükleotit primerler, deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP'ler), tampon sistemi ve ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi varlığında farklı ısı değişimleri yardımıyla çoğaltılmasına dayanmaktadır (Leal Klavezes ve ark., 1995; Colmenera ve ark.,2005; Espy ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

PCR yöntemi ilk olarak 1987 yılında Mulis ve Faloona tarafından tanıtılmasından sonra *Brucella*'nın tanısında önemli gelişmelere yol açmıştır. 1987 yılından sonra *Brucella*'nın tanısında birçok PCR yöntemi geliştirilerek kullanılmaktadır. Günümüzde konakçı dokuları, süt veya vajinal akıntılardan alınan şüpheli bakteri kolonilerinin tespitinde PCR yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Duyarlılığının yüksek ve hızlı olması herhangi bir vücut dokusunda bile uygulanabilmesi ve etkenin bulaşmasından 7 gün sonra dahi pozitif sonuç vermesi PCR'ın önemli avantajlarıdır. Farklı hedef genler, primer çiftleri, uygulama teknikleri ve ekstraksiyon yöntemleri içeren farklı PCR yöntemleri, hem hayvan hem de insan *Brucella* enfeksiyonlarının tespitinde sıkça kullanılan bir yöntemdir (Navarro ve ark., 2004; Elfaki ve ark., 2005; Pappas ve ark., 2005; Gülbaz, 2011).

Brucella varlığının belirlenmesi için günümüze kadar birçok teşhis yöntemi geliştirilmiş çünkü insan sağlığı için çok tehlikeli olan ve son yıllarda kullanımı yaygınlaşan moleküler yöntemlerle tanısı oldukça önem kazanmıştır. Moleküler yöntem olarak kullanılan PCR ile BCSP31 geni (31 kDa kodlayan), 16 S rRNA geni kodlayan ve dış membran proteini kodlayan genler kullanılarak alt tiplendirmeler yapılmaktadır. PCR ile yaklaşık 700 cfu/mL bakteri saptanabilmekle birlikte duyarlılığı ve özgüllüğü % 97-100'dür (Bricker ve ark., 2002; Gülbaz, 2011).

Daha önce tür olarak tanımlanabilirken biyotip ayrımı yapılamamaktaydı, daha sonraki PCR teknolojisindeki gelişmelerle PCR ile biyotip ayrımını yapabilen yeni yöntemler de geliştirilmiştir. Bir çok tür ya da 16S rRNA geni, 16S-23S gen arası boşaltan bölgesi, OMP2 ve BCSP31 gibi farklı gen dizilerinden kaynaklanan primerleri kullanan geleneksel spesifik tür deneyleri oluşturulmuştur. Bu deneyler *Brucella*'nın farklı klinik türlerinin belirlenmesine göre uyarlanmıştır. Çalışmaların çoğunluğunda, geleneksel PCR, klinik türlerden alınan *Brucella* DNA'sının belirlenmesinde iyi bir araç ve bu çalışmalarda sık kullanılan bir yöntem olduğu

bildirilmektedir (Leal Klavezes ve ark.,1995; Colmenera ve ark., 2005; Gülbaz, 2011).

Brusellozda Real-Time PCR Kullanımı

Real-Time PCR'ın tanıtımı, geleneksel PCR'a göre performansı geliştirilmiş hassasiyetini, spesifitesini ve hızını sunar. Farklı kimyasal maddeleri kullanan birkaç Real-Time PCR deneyi oluşturulmuştur. Araştırmacılar, Real-Time PCR'nin klinik örnekler için çok hassas bir yöntem olduğunu saptamış ve onaylamışlardır (Redkar ve ark., 2001; Debeaumont ve ark., 2005; Kubista ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

Bununla beraber kullanılan standart serolojik ve bakteriyolojik yöntemlerle karşılaştırıldığında, doğal olarak enfeksiyon kapmış olan ineklerden alınan kan, süt ve lenf örneklerinde Real-Time PCR kullanımında hiçbir avantajının olmadığı tespit edilmiştir (Learly ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

Real-Time PCR kullanılarak bruselloz tanısıyla ilgili ilk çalışma Redkar ve ark.(2001) tarafından yapılmıştır. Real-Time PCR testinin yapılması için; hedef DNA, iki primer, dört nükleotid trifosfat (dNTP), polimeraz enzimi, tampon çözelti içinde magnezyum iyonları gereklidir. Reaksiyon Thermocycle cihazında ısı döngüleriyle yapılmakta; çift zincirli hedef DNA'nın denatürasyonu için ısı yükseltilir ve daha sonra primerlerin tek zincirli DNA'daki hedef bölgelere hibridizasyonunu sağlamak için ısı düşürülür. Sonra ki aşamada polimeraz enzimi yardımıyla tek zincir DNA kalıplarına bağlanan primerler 5'-3' yönünde uzatılmaktadır (Redkar ve ark., 2001; Gülbaz, 2011).

Real-Time PCR'da amplifikasyon sonrasında elde edilen ürünlerin varlığının saptanması, çift zincirli DNA arasına giren bir floresan boya veya floresan ile işaretli probalar aracılığıyla yapılır. Bu amaç için Syber Green veya floresan probalar kullanılmaktadır. PCR ile bruselloz tanısında Taqman probunun, jel elektroforeze göre daha özgül olduğu belirlenmiştir (Altay, 2008; Gülbaz, 2011).

Günümüzde gıda kaynaklı patojenlerin tespitinde Real-Time PCR'a dayalı uluslararası standart metotların geliştirilmesi için yoğun çalışmalara yer verilmiştir. Hatta bazı patojenlerin tespitinde kullanılan ticari Real-Time PCR kitleri piyasaya

sunulmuştur. Real-Time PCR tekniklerinin kültürel yöntemler ve geleneksel PCR tekniklerine kıyasla, hızlı ve multipleks özelliğe sahip olmaları ve uygulama kolaylığı gibi birçok önemli avantajlara sahip olduğu bilinmektedir. PCR ile uygun örnekler alındıktan sonra 24 saat içinde etken belirlenmektedir (Debeaumont ve ark., 2005; Queipo- Ortuno ve ark., 2005; Kubista ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

Diğer yandan, Real-Time PCR oldukça dinamik bir teknik olmasının yanısıra ortamdaki canlı ve ölü hücre ayırımını yapamamaktadır. Real-Time PCR'ın bir diğer dezavantajı ise ekonomik açıdan pahalı olması ve bu yüzden temin edilmesinin zorluğudur. Ancak bildirilen tüm dezavantajlarına rağmen Real-Time PCR, sonsuz açılımı olan ve giderek kendine yeni kullanım alanları bulan bir tekniktir. Bu bağlamda patojen bakterilerin tespiti de bu alanlardan birisidir. Dolayısıyla Real-Time PCR'ın çeşitli gıdalarda patojen mikroorganizmaların tespitinde ve gelecekte önemli çalışmaların vazgeçilmez bir yöntemi olacağı düşünülmektedir (Colmenera ve ark., 2005; Queipo-Ortuno ve ark., 2005; Kubista ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

2.12.2.2. İndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler)

Brucella'nın serum ya da sütteki belirli antikorların ortaya çıkarılması teşhisin temelini oluşturmaktadır. Bu amaçla serolojik testlerden yararlanılır. En etkili yöntem genellikle enfeksiyon kapmış hayvanlarda, etkeni belirlemek için spesifite ve hassasiyeti yüksek, ucuz ve hızlı bir test kullanarak ortaya koymaktır. Anti-*B.abortus* serumunun kullanılmasına karşı standardize edilmiş antijenler kullanmak kesinlikle esastır. Uygun kalite kontrol serasının her test grubunu kapsaması gerekir ve eğer kalite kontrol kriterleri karşılanmıyorsa testler tekrarlanmalıdır (Hamdy ve ark., 2002; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Serolojik sonuçlar; hastalığın sıklığına, hayvanda aşı kullanımına bağlı olarak ve diğer mikroorganizmalarla enfekte olmaları gibi yanlış pozitif reaksiyonların ortaya çıkmasına göre değerlendirilmelidir. Bu yüzden çalışmalara özen gösterilerek dikkatli çalışılmalıdır. Laboratuvara dayalı teşhisle birlikte, tek tek hayvanların denetim izni, numune numarası ve hayvan ile sonuç arasındaki bağın tam ve kesin olması bir yanlışlığın oluşmaması için test sonucunun doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir (Hamdy ve ark., 2002; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Rose Bengal Testi (RBT)

RBT, *Brucella* antijen testleri olarak bilinen testlerden biri olup, düşük pH derecesinde antijene bağlanan IgM antikorlarının varlığını ortaya koyan ve antijen varlığına dayanan bir testtir. RBT, tamponlanmış plak aglütinasyon testleri ve kart testi gibi testlerle dünya çapında *Brucella* türlerinin serolojik teşhisinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır (Hamdy ve ark., 2002; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

RBT; boyanmış antijen damlalarının ve serumun bir plak veya lam üzerinde karıştırıldığı ve aglütinasyonun pozitif bir reaksiyon anlamını ortaya çıkaran basit bir nokta aglütinasyon testidir. Bu test mükemmel bir görüntüleme testi olmasına rağmen özellikle aşılınmış olan hayvanların teşhisi için yüksek derecede hassasiyet isteyen bir testtir. Yine bu testin çok sayıdaki numuneyi işlemek için gerekli malzemelerin tam ve özenli yapılması gerekmektedir (WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Test “Rose Bengal” boyası ile muamele edilmiş ölü *B.abortus* 99 S suşunun tamponlu eriyikteki (pH:3.65) süspansiyonlarından yaralanılarak yapılan lam aglütinasyon testi (RBT) dir. Küçük sağlık birimlerinde veya polikliniklerde bruselloz tanısının kısa sürede konulmasını sağlayan, hızlı ve duyarlı bir testtir. Lam üzerine 0.003 ml antijen ve aynı miktarda hasta serumu damlatılır ve 2 dakika süre ile karıştırılıp aglütinasyon olup olmadığı değerlendirilir (Taşkın, 2012).

Spot Testi

Serum yerine tam kan kullanılarak yapılan bir aglütinasyon testidir. *B.abortus*’un 99-S kökeninden hazırlanan antijenler kullanılır ve özellikle kitle taramalarında parmaktan alınan kan ile çalışılmaktadır (Fındık, 2005; Taşkın, 2012).

Brucella Kart Testi

Genellikle hayvan serumunun test edilmesi amacıyla, tamponlanmış ve boyanmış bakteri süspansiyonun kullanıldığı bir aglütinasyon testidir. İnsan brusellozunun tanısında bu yöntem önerilse de diğer testlere göre insan brusellozunda çok kullanılmayan bir testtir ve günümüzde değersiz olduğu da düşünülmektedir (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) teknolojisi günümüzde çok çeşitli insan ve hayvan hastalıklarını teşhis etmede yararlanılan bir testtir. ELISA testleri; basit, hassas ve spesifiktir. Aynı zamanda insan ve hayvan türlerinden alınan her türlü serum ve gıdalar için kullanılabilir de sonuçları kullanılan metodolojiye ve laboratuvarlara göre değişiklik gösterebilmektedir. Sığır, koyun ve keçi sütlerinde *Brucella* antikor varlığının ELISA yöntemiyle belirlemesi için birçok araştırmacı tarafından çalışma yapılmıştır (Vanzini ve ark., 2001; Funk ve ark., 2005; Gülbaz, 2011).

ELISA küçük laboratuvarlarda kullanmak için Komplement Fiksasyon Testinden(CFT) çok daha uygun olsa da her zaman uygulanamaz bu yüzden yeterli donanımlar gerekmektedir. Yine RBT' den daha hassastır fakat bazen RBT' nin pozitif olduğu enfeksiyon kapmış hayvanları ortaya çıkarmada yeterli bir test olmayabilir (WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Brucella etkenlerinin teşhisi amacıyla kullanılan ELISA tekniğinde antijen olarak *Brucella*'ların tüm hücreleri, lipopolisakkaritleri, tuzla ekstrakte edilen proteinleri, nativ hapten polisakkariti ve dış membran proteinleri kullanılabilir. Serumda brusellozun başlangıcında özgül IgM, üçüncü haftadan sonra ise özgül IgG antikorları saptanabilir. Akut ve kronik bruselloz tanısında Ig sınıflarının profilini veren ELISA hızlı, duyarlı, spesifik, güvenilir ve geniş kitlelerin taranmasında en uygun yöntem olarak bilinmektedir. ELISA yöntemiyle brusellozun seyri sırasında IgG, IgM, IgA antikor titrelerindeki değişiklikler klasik serolojik testlerden daha iyi tespit edilebilmektedir ve kronik bruselloz tanısında iyi bir yöntemdir (Araj ve ark., 1986; Ariza ve ark., 2007; Gülbaz, 2011).

Wright Aglütinasyon Testi (Standart Tüp Aglütinasyonu)= Serum Tüp Aglütinasyon Testi (STA)

Bruselloz tanısı için, etkene karşı oluşan antikorların serumda saptanmasında yeni tanı yöntemleri ile birlikte değerlendirildiğinde STA, *Brucella* aglütininlerini saptamada yapılması en kolay, altın standart test olarak kabul edilir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Hastalığın teşhisinde önemli olan temel testlerden birisidir. Genellikle, erken olguların ortaya konulmasında kullanılan bu testin uygulanmasında ve değerlendirilmesinde dikkat edilmesi gereken hususlar önemlidir. Bu test, gerek aşılama ve gerekse enfeksiyon sonrası oluşan spesifik antikorları belirler, ancak ayrımlarını yapamaz. Düşüklerden hemen sonra kandaki antikorları direkt olarak saptayamaz ve kronik olgularda ise bazen negatif sonuç verebilir. Ayrıca, kullanılan antijenin hazırlanmasında ve uygulanmasında yaşanacak aksaklıklar da testin olumsuz yönde ilerlemesini sağlar (Aydın, 2006).

STA testinde seri dilüsyonları yapılan hasta serumları üzerine eşit miktarda standart *Brucella* antijeni ilave edilir. 18-24 saat 37°C'de inkübasyondan sonra, aglütinasyonun tüpün dibinde yaygın bir kümeleşme şeklinde görülmesi pozitif olarak kabul edilmektedir (Bilgehan, 2004; Taşkın, 2012).

Akut bruselloz belirti ve bulguları olan hastaların taranmasında STA testi uygun bir testtir. Ancak inkübasyon döneminde, kronik brusellozda ve özellikle aşılama veya enfeksiyon sonucu oluşan antikorların ayırımında kullanımı sınırlı olan bir testtir. Ayrıca hastalıktan sonra titrenin uzun süre yüksek kalması nedeniyle tedavi takibinde ve *B.canis* enfeksiyonu tanısında kullanılamaması da STA testinin dezavantajları içerisinde yer almaktadır (Pappas ve ark., 2005; Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Serum Aglütinasyon Testi (SAT) bruselloz teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve uygulaması basit ve ucuz olmasına rağmen hassasiyet ve spesifitesi düşüktür. Bu nedenle test kullanılırken tek başına değil alternatif testlerle birlikte özenli, dikkatli, adım adım çalışılmalıdır. Sonuçların doğru çıkması için bu gereklidir (Alton ve ark., 1988; Gülbaz, 2011).

Coombs Reaktifi ile Yapılan Tüp Aglütinasyonu

Klinik olarak bruselloz belirtileri olduğu halde yapılan aglütinasyon deneylerinin olumsuz çıkması, özellikle hastanelerde insan kan serumlarında sık rastlanan bir durumdur. Olay antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglütinasyon reaksiyonu oluşturmamasını engelleyen bir mekanizmanın bulunmasından oluşmaktadır. Bloke edici ya da blokan antikorlar olarak tanımlanan bu tip immunglobulinlerin varlığında,

antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyonun meydana gelmediği gözlenmektedir. Bu şekilde olan brusellozlu hastaların serumlarındaki etken ise coombs testi ile ortaya konabilir ki bu da bir aglütinasyon testidir. Coombs testinde, aglütinasyon görülmeyen tüpler yüksek devirde santrifüjde çevrilir, (bu yüksek devir santrifüjleme ile mekanik olarak inkomplement antikorların aglütinasyonu provoke edilir) üç kez yıkanan çökeltide, Coombs reaktifi ilavesi sonucu aglütinasyon olup olmadığına bakılır. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. Böylece blokan antikorların etkisi Coombs testi ile ortadan kaldırılabilir. Yapılan çalışmada özellikle WAT ile düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde bir nevi Standart Tüp Aglütinasyon testinin doğru sonuç vermesi için sağlaması yapılmaktadır (Bilgehan, 2004; Dabanlıoğlu, 2005; Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Merkapto-Etanol/Rivanol Tüp Aglütinasyonu

STA ile saptanan immunglobulinlerin hangi sınıftan olduklarını tam olarak belirlemek mümkün olmamaktadır Ancak deney öncesi hasta serumu 2-Merkapto-etanol veya Rivanol ile muamele edilirse IgM sınıfı antikor moleküllerinin yıkıma uğratılması mümkündür. Bu işlemi takiben saptanacak pozitiflik IgG'lere bağlı olarak gelişecektir (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Brusellozun akut evresinde önce IgM, sonra IgG tipi antikorların oluştuğu, kronik dönemde IgG tipi antikorların yapımı devam ederken IgM tipi antikorların hızla kaybolduğu, ancak bazı olgularda kronik dönemde de IgM antikorlarının varlıklarını sürdürebildikleri saptanmıştır. Böyle bir durumda pozitif Wright aglütinasyonunun IgM veya IgG sınıfı antikorlardan hangisi ile olduğunu ayırt etmek önemlidir. Bunun için hasta serumundaki IgM antikorları, Rivanol veya 2-Merkapto-etanol ile ortadan kaldırılarak aglütinasyon deneyinde IgG antikorların varlığı araştırılır. Bu şekilde işlem görmüş serumlarla yapılan aglütinasyon testinde olumlu sonuç elde edilmesi IgG antikorlarına bağlı olup, hastalığın kronikleştiği anlamını taşımaktadır. Bundan dolayı immunglobulinlerin sınıflandırılmasında Merkapto-Etanol/Rivanol Tüp Aglütinasyon testi tercih edilmektedir (Arda, 1990; Aral ve ark., 2005; Taşkın, 2012).

Komplement Fiksasyon Testi (CFT)

Komplement Fiksasyon Testi (CFT) bruselloz tanısında ilk defa Larson (Larson 1912) tarafından kullanılmıştır. Bu zaman alan, yoğun iş gücü isteyen, birçok ayırıcın kullanıldığı ve bazı serumlarda antikomplement aktivitesinin karşılaşıldığı zor bir yöntemdir. Yine hassasiyet ve spesifitesi yüksek, ancak, uygulanması için donanımlı laboratuvar olanakları ve eğitilmiş personel gerektiren karmaşık ve çalışılması özen gerektiren bir yöntemdir. Eğer bu koşullar yerine getirilir ve düzenli olarak yürütülür ise memnuniyet verici sonuçlar alınmaktadır. Veteriner hekimlikte brusellozu teşhis etmek için CFT uzun yıllar kullanılmıştır. Bunun sebebi ise *Brucella* aşısı ile aşılandıktan sonra ortaya çıkan antikorlara nispeten duyarsız olup hastalığa karşı oluşan antikorları tespit etmesidir. CFT testi ile 2-ME testi sonuçları paralellik göstermesine rağmen her gün taze ayraçların hazırlanması ve kompleks metodoloji kullanım alanını kısıtlamaktadır (Alton ve ark., 1975; Young, 1991; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Serum aglütinasyon testine oranla, özellikle, kronik olgularda daha spesifik bir testtir. Ancak, spesifik olmayan ve inkomple antikorların araya girdiği durumlarda hemen hemen negatif sonuç vermektedir. Enfeksiyonun ortaya çıkarılmasında önemli bir test olarak değerini korumakta ise de araştırmacılar, bu testle birlikte Coombs (Antiglobulin) testinin uygulanmasıyla daha kesin sonuç alınacağını ileri sürmektedirler. Çünkü herhangi bir aksilik olmaması ve sonuçların doğru çıkması yapılan çalışmanın geleceği için önemlidir bu yüzden de Komplement Fiksasyon Testi (CFT)'nden sonra sonucun pekiştirilmesi için Coombs (Antiglobulin) testi uygulanmaktadır (Aydın, 2007; Gülbaz, 2011).

Komplement-fiksasyon testinin (CFT), diyagnostik hassasiyeti, tamponlanmış aglütinasyon testlerinden daha düşüktür fakat bu spesifite klasik testler içinde en yüksek olanıdır. Sonuç olarak Komplement-fiksasyon testi (CFT), Bruselloz için sıklıkla onaylayıcı ve çalışılması masraflı olan ve uzman personele ihtiyaç duyan bir yöntem olarak da bilinmektedir (Nielsen ve ark., 2002; Gülbaz, 2011).

Milk testi

Süt işletmelerinde pratik ve ucuz olması nedeniyle brusellozun ortaya konmasında en sıklıkla kullanılan ve ideal olan bir testtir. Test düzenli olarak tekrarlanabilir ve serum antikorunun iyi bir yansımısını sağlar. Yayıp ya da süt tankındaki sütlerde, sürü içindeki enfeksiyon kapmış hayvanları ortaya çıkarmak için kullanılabilir ve daha sonra kan testi uygulanarak değerlendirilebilir. Bu teşhis yöntemi, çok etkilidir ve genellikle süt işletmeciliğinin yapıldığı bütün çiftliklerde tercih edilmektedir (WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Milk Ring Testi

Milk Ring Testi (MRT) basit ve etkili bir yöntem olarak bilinmektedir Taze sütle yapılan bu test, daha çok inek sütlerinde güvenilir net sonuçlar vermekte, koyun ve keçi sütleri için ise alerjik testler de önerilmektedir. Test ısıtılmış, kaynatılmış, bozuk, pastörize, mastitli hayvanların sütlerine uygulanmaz. Uygulansa bile test hata vermekte ve genellikle taze kaynatılmamış inek sütlerinde çalışılabilmektedir (Alton ve ark., 1975; Taşkın, 2012).

Bir damla haematoxilin boyalı antijen, bir bardak ya da plastik bir tüp içinde küçük bir miktar süt ile karıştırılır. Eğer sütte spesifik bir antikor var ise antijene bağlanarak sütün üzerinde kremayla birlikte mavi bir halka şeklinde görülür. Bu test hassas olmasına rağmen büyük bir sürü içindeki az sayıda enfeksiyon kapmış hayvanın belirlenmesinde başarısız olabilir. Yine bu testin spesifitesi düşük olmasına rağmen hızlı, basit ve ucuz bir yöntemdir. Bu nedenle hatalı sonuçların yüzdesi yüksek olabilmektedir. Uygun koşullarda ve imkanlarla düzenli şekilde çalışılırsa hata yüzdesi düşürülebilir. Çiftliklerde veteriner hekimlerin büyükbaş hayvanlara taze kaynatılmamış inek sütlerinde uyguladıkları ilk yöntemdir Bu testin yanında alternatif diğer testlerde uygulanarak sonuçlar karşılaştırılmaktadır ve testin doğruluğu bu şekilde belirlenmektedir (Alton, 1975; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHT)

Bakterinin lipopolisakkarit (LPS) kısımları ile kaplı, tannik asitle muamele edilmiş koyun eritositlerinin kullandığı bu testte çözülmüş antijenlerden yararlanılır.

Çok duyarlı olan bu yöntemde nanogram düzeyindeki immünglobulinleri saptamada sıklıkla yararlanılan bir yöntem olarak bilinmektedir (Arda, 1990; Taşkın, 2012).

İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA)

Özel bir lama tespit edilen *Brucella* antijeni üzerine, hasta serumu eklenip inkübasyon ve yıkama işlemleri uygulanmaktadır. Antijen-antikor birleşmesini göstermek için, floresan madde ile işaretlenmiş insan anti-globülin serumu kullanılarak yapılan bu yöntem duyarlı ve özgül bir testtir (Arda ve ark., 1997; Taşkın, 2012).

İmmünfloresan Test (IFT)

Konvansiyonel metodlarla karşılaştırıldığında farklı antikor sınıflarını saptamadan başka bir avantajı olmayan bir yöntem olarak bilinmektedir (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Radioimmunoassay (RIA)

Testte kullanılan anti-human antikorlar iyot ile işaretlenir ve *Brucella*'ya karşı oluşan antikorlar saptanır. Bu testin hasasiyeti oldukça yüksektir. Fakat karışık olması ve çalışmalarda radyoaktif madde kullanılması nedeniyle tehlike oluşturmakta ve bu yüzden de *Brucella* ile çalışan kişiler tarafından yaygın olarak kullanılmamaktadır (Taşkın, 2012).

Brucellacapt

Kuyucuklarda gerçekleşen bir Coombs'lu *Brucella* aglütinasyon testidir. Coombs testi ile sensitivite-spesifitesi aynı ve ikinci seviye de olan bir testtir. RB testi veya dipstick test gibi hızlı testlerin yerini alamaz ancak pahalı, kompleks ve zaman alıcı olmasından dolayı çok tercih edilmemektedir (Fındık, 2005; Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Brusellargen Deri Testi

Hücresel immüniteyi gösterir. Özellikle hastalığın erken dönemlerinde, belirgin antikor yanıtı bulunmayanlarda *B.abortus* kolonilerinden hazırlanmış brusellargen

deri testlerinden yararlanılmaktadır. Alerjik tanı için bakterilerden elde edilmiş ve saflaştırılmış "Brusellergen" (nükleoprotein kompleksinden oluşmuştur) deri içine şırınga edilerek test uygulanan bölgedeki deride 24 saat içinde kızartı, ödem ve sertlik şeklinde görülen reaksiyon sonucu pozitif kabul edilmektedir. Bu kişilerin *Brucella*'lara karşı aşırı duyarlı oldukları belirtilerin görülmesiyle anlaşılır (Bilgehan, 2004; Taşkın, 2012).

2.13. Hayvan Deneyi

İçerisinde *Brucella* bakterilerinin bulunduğu düşünülen ve doğrudan hastadan alınan 5-10 ml miktarında kanın, kobayların deri altı kas veya peritonu içine enjekte edilerek yapılmaktadır. *Brucella* var ise hayvanlar 2-4 haftada ateş ve sepsisemi belirtileri ile hastalanır ve gebe hayvanlar yavrularını düşürürler. Öldürülen hayvanların büyümüş lenf gangliyonları, kan ve dalaklarından yapılan preperatlarda *Brucella*'ları görmek ve kültür yöntemleri ile üretmek mümkündür. Zor, zaman alıcı ve yalancı sonuç vermesinin yüksek olması nedeniyle hayvan deney yöntemi artık kullanılmamaktadır (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

2.14.Etiyoloji

Brucellaceae familyasında yer alan *Brucella* cinsinde morfolojik, kültürel, biyokimyasal ve serolojik yönden benzerlik gösteren 7 tane karada yaşayan tür yer almakta, bunlar içerisinde de insanlar için patojen 4 tür bulunmaktadır. Bu türler konakçı türüne göre tanımlanmaktadır. Koyun ve keçilerde *B. melitensis* (3 biyotip), sığırlarda ve mandalarda *B. abortus* (9 biyotip), domuzlarda *B. suis* (5 biyotip) ve köpeklerde *B. canis* olarak adlandırılmaktadır. Koçlardaki *B. ovis* ve ağaç ratlarındaki *B. neotomae* ve konakçısı belli olmayan *B. inopinata* 'nın insanlar için patojen olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca deniz memelilerinden (*B. delphini*, *B. pinnipediae*, *B. cataccae*) gibi 3 yeni tür izole edilmiştir (Corbel, 1997; Akcan Kale, 2009).

Brucella birçok hayvan türünde genital organları enfekte ederek, boğalarda epididimitis ve orşitise, ineklerde döl tutmama ve yavru atmaya neden olan bakteriyel bir etkidir. *Brucella* etkenleri ökaryotik α -proteobacteria sınıfında *Bartonella*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* ve *Mesorhizobium* cinsleri ile

birlikte yer alır (Moreno ve ark., 1990; Boussau ve ark., 2004; WHO, 2006; Aslan, 2014).

İnsanlarda enfeksiyon; hayvanlar ile direkt temas, kontamine kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketimi gibi yollar ile gerçekleşir. *Brucella* enfeksiyonları akut, subakut veya kronik seyirli, zoonoz bir hastalıktır (Boschioli ve ark., 2001; Gülbaz, 2011).

Brusellozis, M.Ö. 460-M.Ö. 370 yıllarında yaşamış Hipokrat tarafından Yunanistan'a bağlı Taşoz adasında "humma" olarak tarif edilmiştir. Literatürde ilk olarak 19. yüzyılda Malta adasında bulunarak rapor edilen hastalık, 1861 yılında cerrah Jeffery Allen Marston tarafından kendisinde de gözlediği enfeksiyon semptomlarını "nedeni belli olmayan gastrik ateş" olarak tanımlamıştır (Marston, 1863). David Bruce, 1887 yılında Malta adasında nedeni belli olmayan ateş ile seyreden hastalık sonucu ölen askerlerin dalaklarından izole ettiği ve küçük koklar şeklinde görülen bu etkenin "*Micrococcus melitensis*" olduğunu ve neden olduğu enfeksiyona ise "Malta Humması" veya "Akdeniz Humması" adını vermiştir (Bruce 1887). Hughes, 1897 yılında insanlardaki semptomları göz önüne alarak bu hastalığı "dalgalı ateş" olarak adlandırılmıştır (Tezok ve ark., 1973, Çelebi, 1998; Hacımustafaoğlu, 2004; Hughes, 1887; Aslan, 2014).

Meyer ve Shaw, 1918 yılında *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*'i bir grupta toplayarak, bu konuda ilk önemli çalışmaları yapan Bruce'un onuruna ve ismine ithafen *Brucella* grubu bakterilerin meydana getirdikleri hastalığa da Brusellozis adını vermişlerdir *Brucella* cinsi bakterilerin ülkemizde sığırlardan ilk izolasyonu 1931-1932 yıllarında Zühtü Berke tarafından gerçekleştirilmiştir (Meyer ve Shaw 1920; Aslan, 2014).

Brucella spp. ısı ve dezenfektanlara karşı dirençsiz olup, 62°C'de 23 dk'da, 74°C'de 14 dk'da inhibe olmaktadır. Etkenler normal mide asidine karşı dirençsizdirler (Arda ve ark., 1992). Kaynatılmamış sütte 10⁷ kob/ml civarındaki *B. abortus* 60°C'de 5 dk'da inaktive olmaktadır. Süt içinde *B. melitensis*, *B. abortus*'a göre ısı uygulamalarına daha dirençlidir. Örneğin 60°C'de *B. abortus* 175 sn'de inaktive olurken, *B. melitensis* 210 sn'de inaktif olmakta, 72°C'de ise sırasıyla 15 ve

20 sn'de inaktif olmaktadır. *Brucella* spp. % 0,1'lik süblimede birkaç dk'da, % 2'lik formalinde 15 dk'da ve % 0,1'lik lizol içinde yine 15 dk'da ölmektedirler (Kara, 2011).

Brucella spp. hayvanların barındığı ahırların tozlarında 6 hafta, atık yapmış hayvan fetusunda 75 gün, nemli toprakta 60 gün, musluk suyunda 48°C'de birkaç ay, güneş görmeyen toprakta 70 gün, suda 35 gün, donmuş doku ve organlarda birkaç yıl, idrarda 30 gün yaşamaktadır (Kara, 2011).

Brucella spp.'in in-vitro koşullarda genellikle gentamisin, tetrasiklin ve rifampisinlerin tümüne duyarlı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, *Brucella* suşlarının çoğunun ampisilin, kloramfenikol, eritromisin, kanamisin ve novobiosin gibi birçok antibiyotiğe karşı duyarlı olduğu da bilinmektedir (Kınık ve ark., 1998; Kara, 2011).

Klinik hastalardan izole edilen *B. melitensis* suşlarının in-vitro ortamda tetrasiklin, gentamisin, rifampisin ve trimetoprim-sulfametoksal'a karşı duyarlı olduğunu saptanmıştır. Dokular arasında yüksek konsantrasyonlarda dağılımı, intrasellüler yayılımı ve in-vitro olarak *Brucella* spp. üzerine etkinliği bilinen florokinolon türevi antibiyotik kullanarak, hastalardan izole edilen *B.melitensis* suşlarının antibakteriyel duyarlılığını üzerine yapılan çalışmalarda klinafloksasin'in en etkili antibiyotik olduğu tespit edilmiştir (Qadri ve ark., 1989; Kınık ve ark., 1998; Kara, 2011).

Martin ve ark., (1999)'nın yaptığı çalışmada hastalardan izole edilen *B. melitensis* suşlarına karşı sitafloksasin'in en etkili antibiyotik olduğunu saptanmıştır. Hastalardan izole edilen *B. melitensis* suşlarının in-vitro koşullarda yapılan tekli kullanımda eritromisin'e karşı % 90'ının duyarlı, kombine kullanımlarda ise rifampin-doksasilin ve streptomisin-doksasilin kombinasyonlarına karşı bütün izolatların duyarlı olduğunu bildirmiştir (Akova ve ark., 1999; Kara, 2011).

Akut bruselloz teşhis edilen hastalardan izole edilen, *Brucella* suşlarının in-vitro ortamlarda tigecycline karşı duyarlılığının, siproflaksasin ve rifampisin'den daha fazla olduğunu, ancak doksasilin karşı ise daha az duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Yine araştırmacılar kan kültürlerinden izole edip tanımladıkları *B. melitensis* suşlarının tümünün tetrasikline, streptomisin, ciproflaksin ve azitromisin karşı

duyarlı olduklarını yapılan çalışmalar sonucunda bildirmişlerdir (Turan ve ark. 2007; Ayaşlıoğlu ve ark., 2008; Kara, 2011).

2.15. Tedavi

Brusellozis olaylarında hasta hayvanlar için koruma tedbirleri alınabilir. Hasta ve reaktör oldukları saptanan hayvanlar mecburi kesime sevk edilir ve ihbarı zorunlu hastalıklar arasında yer alan *Brucella* bu açıdan çok önemli olup bu konuda hayvan sahiplerinin bilinç olması gerekmektedir. Bu yüzden hemen Hayvan Sağlık Zabıta Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca resmi işlemler yapılmaktadır (Taşkın, 2012).

Brusellozis enfeksiyonun tedavi süresi diğer birçok enfeksiyon hastalığının tedavi süresine göre daha uzun sürmektedir ve kabul görmüş tedavi protokollerine rağmen belli oranlarda tedavi de yanılma, iyileşmeme, geç iyileşme gibi bulgularla karşılaşmaktadır (Solera ve ark., 1997; Özgür, 2006).

Hastalığın tedavisi destek ve özgül olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Destek tedavisinde genelde yapılabilecek önemli bir husus yoktur. Her türlü gıdayı alabilmekle birlikte hastalığın ilk haftasında, bir hafta süreyle yatak istirahatı verilerek hastanın bolca dinlenmesi kendini yormaması tedavi süresince önemlidir. Hasta evli ise eşinin de hastalık riski olması göz önünde bulundurularak mutlaka kontrolden geçirilmeli, sağlıklıysa eşinin tedavisi süresince cinsel ilişkileri yasaklanmalıdır (Akova ve ark., 1999; Taşkın, 2012).

Brusellozisin özgül tedavisinde ise en önemli problem, etkenin hücre içi üreme özelliği ve kanda nadiren serbest halde bulunuşudur. İn-vitro çalışmalarda birçok antibiyotiğin *Brucella* suşlarına karşı etkili olması belirlenmesine karşın, bu bakterilerin makrofaj ve retiküloendotelial sistem hücrelerine yerleşmeleri nedeniyle in-vivo tedavide sorunlar çıkmaktadır. Bu hücrelerin içinde yüksek konsantrasyonlara ulaşamayan antibiyotiklerle yapılan tedavi başarılı bir sonuç vermemektedir. Brusellozis tedavisinde hastaya verilecek olan antibiyotik mutlaka makrofajların içine girebilmeli ve bakterisitte özellikte olmalıdır (Özgür, 2006; Taşkın, 2012).

Brusellozis, kombine antimikrobiyal kullanımının gerekli olduğu hastalık türlerinden biridir. İlaçların hepsi ancak kombinasyon halinde kullanılır. Brusellozis tedavisinde tercih edilen antibiyotikler; tetrasiklin, doksisisiklin, streptomisin, rifampisin, ko- trimoksazol, kinolonlar, seftriakson, kloromfenikol ve makrolid grubu antibiyotiklerdir. Tek antibiyotik ile tedaviye kalkışmak hem bakterinin antibiyotiğe karşı direnç kazanmasına ve hem de tedavinin başarılı sonuç vermemesine neden olabilmektedir. Tek tedavide relaps (bir kişinin yakalandığı hastalığı tekrarlaması olayı) %10- 40 arasında görülmektedir (Arriza ve ark., 1993; Akova ve ark., 1993; Özgür, 2006).

Günümüze kadar Bruselloz tedavisinde kullanılan antibiyotikler şunlardır;

Tetrasiklin, Bakteriyostatik olarak bruselloz tedavisinde etkili olan bir antibiyotiktir. Tek başına kullanılırsa relaps önemli bir problemdir ve çocuklarda etkisi yetişkinlere göre daha azdır (Badur, 1990; Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Tetrasiklin-streptomisin kombinasyonu, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün önerdiği ilk rejimdir. Bazı araştırmacılar yaptığı çalışmalar sonucu bu kombinasyonunun tedavide daha başarılı olduğunu ve bu tedavi uygulandığında relapsın daha az görüldüğünü savunmaktadırlar (Dabanlıoğlu, 2005; Taşkın, 2012).

Ko-trimoksazol, Çok yüksek relaps, nedeniyle hiç önerilmemektedir (Dabanlıoğlu, 2005; Taşkın, 2012).

Rifampisin, Hücre içine çok iyi penetre olup, yüksek anti-*Brucella* aktivitesi göstermekle birlikte, relaps gelişimi nedeniyle tek başına kullanımı çok fazla önerilmemektedir (Tosyalı, 2008; Taşkın, 2012).

Doksisisiklin, 1970'li yılların başında denenmiş ve % 35'e varan relaps nedeniyle kullanımına son verilen antibiyotiklerdendir (Dabanlıoğlu, 2005; Tosyalı, 2008; Taşkın, 2012).

Doksisisiklin-rifampisin, WHO'nun 2004 'te önerdiği en son tedavi rejimidir. Doksisisiklin (200mg/gün) ve rifampisin (600-900mg/gün) en az 5 hafta süreyle kullanılmasını önermektedir. Bazı araştırmacılar streptomisin-tetrasiklin

kombinasyonunu, doksisisiklin ve rifampisin kombinasyonu tedavisine göre daha başarılı bulduklarını yayınlamışlardır (Young, 2005; Taşkın, 2012).

Rifampisin-tetrasiklin kombinasyonu, Hastaya 3-5 hafta verilebilir. Ancak Rifampisin-tetrasiklin kombinasyonu bazı hasta gruplarında denenmiş olmasına rağmen yeterli sonuca varılamamıştır (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Rifampisin-ko-trimoksazol kombinasyonu, Bu kombinasyonun etkili olduğuna dair az sayıda çalışma olmakla birlikte, genellikle önerilen ve uygulanan bir tedavi değildir (Dabanlıoğlu, 2005; Taşkın, 2012).

Rifampisin- ofloksasin kombinasyonu, Türkiye’de yapılan bir çalışmada daha önce başarısı kanıtlanmış olan bu kombinasyonun, doksisisiklin-rifampisin kombinasyonu kadar etkili olduğu bildirilmiştir (Badur, 1990; Taşkın, 2012).

Bilinen, genel kabul görmüş bu kombinasyonlara ve uzun süren araştırmalara rağmen bruselloz enfeksiyonunun tedavi süresi diğer birçok enfeksiyon hastalığına göre daha geç iyileşmekte ve diğer enfeksiyon hastalıklarından tedavisi daha uzun sürmektedir. Tek antibiyotik ile tedaviye kalkışmak hem bakterinin antibiyotiğe direnç kazanmasına hem de tedavinin işe yaramamasına neden olmaktadır. Bu nedenle kombine antibiyoterapinin uzun süre uygulamaları gerekmekte, aksi takdirde relapslar gözlenebilmektedir. (Korkmaz, 2006; Tosyalı, 2008; Taşkın, 2012).

2.16.Epidemiyoloji

Relaps oranlarında gözlenen artış ve yan etkiler nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bruselloz tedavisinde yeni antibiyotik arayışları sürmekte ve uygun seçeneklerin belirlenmesi amacıyla yapılmış ve yapılmakta olan geniş olgu serilerinin sağlandığı çok merkezli, kontrollü çalışmalar yapılmaktadır

Dünyanın en geniş yayılım alanına sahip zoonoz olan bruselloz, yalnız insanlarda ciddi klinik tablolara sebep olmayıp, aynı zamanda evcil hayvanları da enfekte etmesi ile büyük boyutlarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle birlikte; Portekiz, İspanya, Güney Fransa, İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Kuzey Afrika ülkelerinin yer aldığı Akdeniz havzası ile Arap Yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika’da görülmektedir.

İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloza hayvanlar arasında tamamen son verilmesine rağmen ülkemizde özellikle Ankara ovasında, Konya yöresinde, Güneydoğu Anadolu'da Diyarbakır ve Şanlıurfa yörelerinde, Doğu Anadolu'da hayvanlar arasında oldukça yaygın görülen bir hastalıktır (Gültekin, 2012).

Güney ve Orta Amerika'da, Karayipler ve Meksika önemli insan ve hayvan bruselloz kaynağı olarak yer almaktadır. Hayvanlarda bruselloz Güney Amerika boyunca varlığını sürdürmektedir. Ancak hastalık insanlarda yerleşik değildir. Güney Amerika'da başta Peru ve Batı Arjantin'de insan brusellozunda *B.melitensis*'in yaygın olduğu ve Doğu Arjantin ve diğer Güney Amerika bölgelerinde de *B.abortus*'un yerleşik bir etken olduğu düşünülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1960'lara kadar, insanlardaki bruselloz vakalarının *B. abortus*'tan kaynaklandığı ve 1947'de 6321 vaka ile bruselloz düzeyinin çok yüksek seviyelere çıktığı bildirilmiştir. Brusellozun yok edilmesi için başlatılan ortadan kaldırma kampanyası insanlarda ve hayvanlarda hastalık vakalarında önemli bir oranda düşüş yakalanmıştır (Godfroid ve ark., 2005; Gülbaz, 2011).

Ancak ABD'de bizonların ve geyiklerin yaşadığı vahşi yaşam alanları enfeksiyon odağı olarak kalmıştır. Sığırlarda enfeksiyonun bu habitat çevrelerinden yayıldığı rapor edilmiştir (Pappas ve Papadimitriou, 2006; Gülbaz, 2011).

Avrupa Birliği tarafından, İsveç, Danimarka, Finlandiya, Birleşik Krallık (Kuzey İrlanda hariç), Avusturya, Hollanda, Belçika ve Lüksemburg brusellozsuz bir bölge olarak kabul edilmiştir. Ayrıca Norveç ve İsviçre'de brusellozsuz ülkeler olarak kabul edilmektedir. Kuzey İrlanda'da 1998'den sonra, toplam 98 vaka ile bir *B.abortus* salgını gelişmiştir. Akdeniz havzası da bir endemik insan brusellozu bölgesi olarak tanınır. Hastalığın ilk görüldüğü Malta'da ise bugünlerde birkaç tane vakanın görüldüğü bildirilmektedir. Fransa başarılı bir ortadan kaldırma programı uygulamıştır. İspanya'da her ne kadar insan brusellozunun azaltılmasında çok büyük ilerleme sağlanmış olsa da, hala yılda en fazla vaka görülen Avrupa ülkelerindendir. Portekiz'de insan brusellozunu azaltmada önemli bir ilerleme kaydetmiştir. Yunanistan ise dünya çapında en yüksek vaka görülen ülkeler arasında 25. sırada olmaya devam etmektedir. Bruselloz Doğu Avrupa ülkelerinde yerleşik değildir.

Özellikle Polonya’da, hastalık veterinerlerle sınırlıdır. Yine Rusya’da bruselloz genellikle Kafkas bölgelerinde çok sık görülmekte olup bu bölgedeki vaka oranı 1/10.000’dir. Bu bağlamda büyük ölçüde rapor edilmeyen vakalarda bulunmaktadır (Godfroid ve ark., 2005; Gülbaz, 2011).

Orta Doğu genellikle yerleşik bir bölge olarak düşünülmüştür. Çünkü on ülkeden beşi bu bölgedeki en yüksek insan brusellozu oranına sahiptir. Suriye, OIE’den alınan bilgilere göre endişe verici boyutta, yıllık 1 milyonda 1603 vaka sayısı ile bütün dünyada hastalığın en yüksek oranının görüldüğü ülke olup Moğolistan ise onun arkasından ikinci sırada gelmektedir. Bu ülkeler son yıllarda dünyada en önemli insan brusellozunun yerleşim yeri olarak ortaya çıkmışlardır ve hastalık kontrol edilememektedir. Sürekli artan vakalar ve özellikle yetersiz sağlık alt yapıları ile Suriye’deki savaş nedeniyle çok ciddi bir toplum sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Kuzey Afrika’da bruselloz için yerleşik bir alan olarak düşünülmektedir. Bruselloz sahra çölü altındaki Afrika boyunca varlığını sürdürmesine rağmen esas olarak yaygınlığı konusunda çok şey bilinmemektedir (Pappas ve Papadimitriou, 2006; Gülbaz, 2011).

Brusellosis ülkemizde hem hayvanlarda hem de insanlarda ihbarı mecburi bir hastalıktır. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü tarafından yayınlanan Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı ve Laboratuvar Rehberine göre; bildirimi zorunlu hastalıklar dört gruba ayrılmakta ve Brucella “Bildirimi Zorunlu Grup A Hastalıklar” arasında yer almaktadır (Kara, 2011).

Ülkemizde insanlarda *Brucella* prevalansı tam anlamıyla bilinmemekle birlikte, serum-pozitif *Brucella* oranının yaklaşık % 3-7 arasında olduğu rapor edilmektedir (Topcu-Willke ve ark., 1996). Sağlık Bakanlığı Zoonotik enfeksiyon hastalıkları bruselloz (2006-2015) veri sonuçları Tablo 2.8.’ de gösterilmektedir (<https://www.saglik.gov.tr>).

Tablo 2.8. Bruselloz - Vaka ve Ölüm Sayıları, Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye, 2006-2015 (T.C.Sağlık Bakanlığı)

Yıllar	Nüfus	Vaka Sayısı	Morbidite Hızı (100.000)	Ölüm Sayısı	Mortalite Hızı (1.000.000)
2006	72.974.000	10.810	14,81	3	0,04
2007	70.586.256	11.809	16,73	0	0,00
2008	71.517.100	9.818	13,73	1	0,01
2009	72.561.312	9.385	12,93	0	0,00
2010	73.722.988	7.703	10,45	0	0,00
2011	74.724.269	7.177	9,60	0	0,00
2012	75.627.384	6.759	8,94	0	0,00
2013	76.667.864	7.225	9,42	0	0,00
2014	77.695.904	4.475	5,76	0	0,00
2015	78.741.053	4.173	5,30	0	0,00

Türkiye’de bruselloz, kırsal kesimde en sık rastlanan enfeksiyon hastalığı olmakla birlikte, sıklık sırasına göre en çok Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinde görülmektedir (Kaya, 2006).

Türkiye’de hayvanlarda brusellozun prevalansını belirlemek amacıyla yapılan Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Araştırma Projesi ile 1998-1999 yıllarında 79 ilden tesadüfi örnekleme ile alınan toplam 34.958 adet sığır kan serumu ve 30.433 adet koyun kan serumu incelenmiştir. Hastalığın prevalansı sığırlarda % 1.43, koyunlarda ise % 1.97 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma bulguları daha önceki yıllarda olduğu gibi, hayvan hareketlerinin fazla olmadığı ve yavru atma vakalarının nadir olduğu Orta ve Doğu Karadeniz, Ege ve Akdeniz bölgesinin illeri dışında, ülke genelinde hastalığın yaygın olduğunu göstermektedir (Aydın, 2007).

İnsan brucellozu birçok ülkede ihbarı mecburi bir hastalık olmasına rağmen, resmi rakamlar gerçekte enfekte olmuş insan sayısını yansıtmamaktadır. *Brucella* vakalarının bildirilen resmi rakamlardan 10-20 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Bunun başlıca nedeni vakaların çoğunlukla doğru teşhis edilememesinden veya teşhis için gerekli izinlerin alınmaması ve resmiyete verilmemesinden kaynaklanmaktadır (Aydın, 2007).

Hastalığı, ülkemizde ortadan kaldırmak amacıyla; Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın 1984 yılında başlatılan ve 26 yıl sürmesi planlanan "Türkiye Bruselloz Mücadele Projesi" kapsamında her yıl aşılama programı uygulanmaktadır. Proje gereği 1998 yılında yaygın aşılama sona ermiş ancak saha taramaları ve yetiştirici ihbarları neticesi hastalıklı olduğu tespit edilen sürülerde mücadele amacı ile koruyucu aşılamalar gerçekleştirilmiş, ayrıca 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu'nun ilgili hükümleri gereği karantina ve diğer mücadele tedbirleri uygulanmıştır (<http://www.tarim.gov.tr>).

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1970 yılında 37 olarak bildirilen olgu sayısı, 2004 yılına gelindiğinde 18.408'e, 2005 yılında ise 14.644 ulaşmıştır. 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 brucelloz prevalansının sanıldığından daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir. 1997 yılında ülke çapında yapılan geniş kapsamlı bir sero-sürveyans çalışmasında, *Brucella* seropozitifliği sığırlarda % 1.43, koyunlarda % 1.97 olarak saptanırken bu oran sürülerde % 11.4 ve %15 olarak rapor edilmiş, en yüksek seroprevalans Kars, Konya ve Yozgat yöresinde bulunmuştur (Aydın, 2007).

Brucellozis ülkemizde ilk olarak 1915'de rapor edilmiş ise de en geniş ve kapsamlı araştırmalar 70.000 serum örneğinin test edildiği 1984-1987 yılları arasında yapılmıştır. Hastalık prevalansının % 1.9 ile % 7 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Bu prevalans düzeyi ile yaklaşık 1.76 milyon insanın brucellozdan etkilendiği hesap edilmiştir. Yine ülke çapında 1989 yılında bölgelere göre yapılan serolojik tarama sonuçları % 0-10 oranındaki hastalık prevalansı, sığır ve koyunlarda

sırasıyla % 3.56, % 1.26, 1990 yılında % 1.2, % 2.08; 1991 yılında % 1.01, % 1.83 olarak belirlenmiştir (Gölbaz, 2011).

Türkiye’de bruselloz epidemiyolojisi konusunda en kapsamlı çalışma Çetin ve arkadaşları tarafından 1984-1987 yıllarında yapılmıştır. TÜBİTAK destekli olan bu çok merkezli çalışmada 70.009 serum örneğinin incelendiği, normal popülasyonda % 1.8, riskli gruplarda % 6.0 oranında seropozitiflik saptandığı bildirilmiş, ayrıca *Brucella* bakterileri ile karşılaşan kişi sayısının 1.750.000 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Türkiye’de Doğu Akdeniz, Güneydoğu Anadolu bölgesi ve Doğu Anadolu bölgesinde Mersin, Hatay, Kahramanmaraş, Erzurum, Kars, Van, Malatya, Diyarbakır, Gaziantep ve Şanlıurfa illerini kapsayan bölgelerde Bruselloz seropozitifliğini saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada toplam 7458 serum örneği toplanmış ve seropozitiflik %1,30 olarak bildirilmiştir. Bu verilere göre bruselloz olgu sayısının gerçekte Sağlık Bakanlığı’na bildirilenden daha yüksek olduğu görülmektedir (Young, 1989; Taşkın, 2007; Taşkın, 2012).

Hayvanlardan insanlara geçen en önemli zoonozlardan biri olan Brusellozis, özellikle infekte ellerin göz ve ağıza sürülmesi ile bulaşır. Mikroorganizma içeren kaynatılmamış sütle yapılmış tereyağı, kaymak, taze peynir ve ekşitilmiş sütü yiyenlere hastalık kolayca geçer. Yavru atımı sırasında, güç doğumlarda ve son düşerken yardımcı olan veteriner hekimler, hayvan sahipleri, kasaplar, laboratuvar çalışanları da infekte olabildikleri için hayvan brusellozisi bir meslek hastalığı olarak da ayrı bir önem taşımaktadır (Parın, 2008).

2.17. Koruma ve Kontrol

Brucella enfeksiyonundan korunma ve kontrolün başlıca yolu; eğitim, gıda ve kişisel hijyenden geçmektedir. Bazı ülkelerde hayvancılık endüstrisinde çalışanlara aşılama yapılmaktadır ancak bu rutin olarak yapılamamaktadır. Hastalık riski, endüstriyel gelişimini tamamlamış ülkelere gelişmekte olan ülkelere oranla daha iyi bilinmektedir. Gelişmekte olan ülkelere bağlı olarak göçebe hayatı devam ettirilmekte ve bu nedenle hayvanlarla daha iç içe yaşanmaktadır. Özellikle göçebe yaşam süren kişiler ve çobanların hayvanlarını daha iyi meralarda otlatma isteği

hayvan hareketlerini arttırmakta ve hastalığın yayılarak başka bölgelere bulaşmasına neden olmaktadır (Alavi ve ark., 2007; Akcan Kale, 2009).

Brucella enfeksiyonunun insanlar arasında yayılmasında en önemli faktör ise süt ve süt ürünleridir. Bu durum kültürel alışkanlıklara göre, süt ve süt ürünlerinin tüketilme şekline ve hazırlanma aşamasına bağlı olmaktadır. Sütün kaynatılmamış veya kaynatılma sıcaklığının yetersizliğine bağlı olarak *Brucella* dahil patojen organizmaların canlılığının devamına sebep olmaktadır. Bu nedenle sütün 65°C’de 30 dakika veya 72°C’de 15 saniye pastörize edilmesi gerekmektedir. Buna bağlı olarak da, *Brucella* dahil patojen organizmaların sayısında azalma veya komple yok olma gözlemlenebilecektir (Sammartino ve ark., 2005; Akcan Kale, 2009).

Sığır yetiştiriciliğinde *Brucella* kaynaklı enfeksiyonların tespiti ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi, ekonomik açıdan ve hayvan sağlığı yönünden önemlidir. Bununla birlikte halk sağlığını tehdit eden bu tür zoonoz enfeksiyonlar ile mücadelede yetiştirilen hayvanlara ait bilgileri içeren veri tabanları ve takibi risk altındaki personelin (mezbaha işçileri, et paketliyecileri, laborantlar, veteriner hekimler, hayvan bakıcıları) koruyucu şahsi malzeme eldiven, giysi, bot, gözlük vb. materyalleri kullanmaları gerekmektedir (EU Commission, 2011; Aslan, 2014).

Bu materyallerin kullanımı sonrasında da dezenfeksiyonunun sağlanması gerekmektedir. Materyallerin dezenfeksiyonu için % 3’lük kloramin’den hazırlanmış solüsyonlarda 50–60 sn. bekletmek gerekmektedir. El ve kollların % 2’lik kuarternler amonyum bileşikleri ile hazırlanmış solüsyonlarla yıkandıktan sonra alkol ve sabunla temizlenmesi tavsiye edilmektedir. Kontamine olmuş yüzeylerde % 3’lük sodyum hipoklorit, % 3-4’lük kostik soda veya % 3’lük formaldehit solüsyonu kullanılmasının gerektiği bildirilmiştir. Enfekte hayvana ait fetus ve atıkların yakılması veya klorin solüsyonu ile muamele edilmesi bildirilmektedir. Fetus veya atıkların toprağa gömülmesi uygun bulunmamaktadır. Çünkü hem toprağın yapısını hemde toprakta yaşayan canlılar da tehlike oluşturmaktadır. Özellikle mezbaha çalışanlarının kesim yaptıkları enfekte gebe ineklere ait plasenta ve fetuslarında 10-14 milyon/g *Brucella* bakterisinin olduğu düşünüldüğünde daha dikkat etmeleri gerektiği yapılan araştırmalar sonucunda bildirilmiştir (Aslan, 2014).

Zoonoz enfeksiyonlarda, hastalığın insidens ve prevalansının düşük seviyelerde tutulabilmesi amacı ile hazırlanan uzun süreli kontrol ve yok etme politikalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kapsamda sığırların *B. abortus* S19, koyun ve keçilerin *B. melitensis* Rev-1 aşıları ile toplu şekilde aşılama, kitlesel tarama testleri kullanılması ve pozitif hayvanların tespit edilerek sürüden uzaklaştırılması ile brusellozisin yayılımının önlenmesini engellemek için yapılacak tedbirlerin başın da gelmektedir. Bu uygulamalar için önemli mali kaynaklar ayrılmalı, yetiştiricilere konu hakkında eğitimler verilmeli ve sürüden uzaklaştırılan enfekte hayvanların yerine sağlıklı hayvanlar konulmalıdır. Ancak bu sayede hastalıktan arınmış saf sağlıklı hayvanlardan oluşmuş sürüler elde edilebilir (Renukaradhya ve ark., 2002; Minas 2006; Seleem ve ark., 2010; Aslan, 2014).

Hayvan brusellozisinde en etkili korunma aşılama uygulamalarıdır. Günümüzde en yaygın kullanılan *B. abortus* S 19 olan sığırlara karşı uygulanan canlı aşılardır. Bu aşı sığırları % 50–75 oranında enfeksiyon ve düşme olgularından koruyabilmektedir. *Brucella* aşısının 4–8 aylık buzağılara ve 18 aylık seronegatif tespit edilen düvelere uygulanması genelde veteriner hekimler tarafından tavsiye edilen sonuçlardır. *B. abortus* S 19 aşısı günümüzde yetiştirme çağına, hastalık etkeni düşük titrede bulunan ve gebe hayvanlara da uygulanmaktadır. Bazı ülkelerde S 19 aşısının düşük dozda kontrol amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Bununla birlikte, günümüzde sığır brusellozisi için *B. abortus* RB 51 adında yeni bir aşı türü araştırmalar sonucunda geliştirilmiştir. Bu aşı rifampin'e dirençli, S 19'a benzer özellikte olması ve avantajları nedeniyle kontrol programlarında daha çok tercih edilmektedir (Sammartino ve ark., 2005; Akcan Kale, 2009).

Brusellozisin kontrol ve yok edilmesine yönelik kullanılan farklı aşı çeşitleri mevcuttur. 1923 yılında keşfedilen canlı aşı *B. abortus* S19, eritritol ery gen gölgesinde 702bp'lik kısmının delesyonları ile hazırlanmıştır. S19 aşısı uygulamasının ardından, yüksek ateş, anoreksi, halsizlik, süt veriminde düşme ve enjeksiyon bölgesinde şişlik gibi çeşitli reaksiyonlar şekillenebilmektedir. Bunun yanında S19 suşunun gebe sığırlarda düşmelere, boğalarda orşitise ve insanlarda dalgali ateşe neden olduğu bilinmektedir. 1996 yılında Amerika'da S19 aşısı yerine *B. abortus* RB51 aşısı kullanılmaya başlanmıştır. *B. abortus* RB51 aşısı *B. abortus*

2308 suşundan hazırlanan ve LPS O-zincir antijeni silinmiş mutant bir canlı aşıdır. RB51, S19'un aksine daha güçlü bir Th1 cevabı tetiklediği ve komplement fiksasyon, tüp aglütinasyon, floresan antikor gibi serolojik testlerde yanlış pozitifliğe neden olan anti-LPS antikor yanıtın oluşumunu uyarmadığı belirlenmiştir (Stevens ve ark. 1994; Sangari ve ark. 2007; Aslan, 2014).

Canlı *B. melitensis* aşısı suşu olan Rev-1, 1957 yılında vahşi *B. melitensis* 6056 suşunun streptomisin içeren medyumdan streptomisine dirençli kolonilerinden elde edildiği bildirilmiştir. Rev-1'in gebe keçilerde güvenilir olmadığı ve bununla aşılanan laktasyondaki keçilerin bazı vakalarda süt ile etkeni yaydıkları belirlenmiştir. Canlı *B. suis* S2, düşük yapan domuzdan izole edilen etkenin seri pasajlar ile atenüe edilmesi ile elde edilen ve Çin'de kullanılan bir aşıdır (Tizard, 2009; Ding ve ark., 2011; Aslan, 2014).

Brucella enfeksiyonlarının kontrolü ve yok edilmesi için *B.abortus*; BLS, InfC, L7/L12, Omp16, Omp19, P39, DnaK, SurA, SodC ve *B. melitensis*; Bp26, Omp25, IalB, Omp31, AdoHcyase gibi pek çok subunit aşısı çalışması gerçekleştirilmiştir. Bunun dışında BP26, Omp16 ve Omp31 proteinleri kullanılarak üretilen vektör aşılar ile Omp31, L7/L12, Omp16, P39 ve bscp31 gibi antijenlerin aynı anda açıklanabildiği DNA aşısı çalışmaları literatürde yer almaktadır. *Brucella* enfeksiyonlarına karşı geliştirilen kontrol ve yok etme programları 20. yüzyılın ikinci yarısında pek çok ülkede uygulamaya başlanmıştır. Başta Arjantin, Portekiz, Mısır, İran, İsrail, Suriye ve Yunanistan gibi ülkelerde yoğun bir şekilde mücadele programları uygulanmaktadır (Xiang, 2010; Karagiannis ve ark., 2012; Avila-Calderón ve ark., 2013; Yang ve ark. 2013; Aznar ve ark., 2014; Aslan, 2014).

Ülkemizde *Brucella* enfeksiyonlarının kontrol ve yok etmek için ilk çalışmalar sığırdaki *B. abortus* için 1930 yılında başlatılmıştır. Brusellozisi yok etmeye yönelik mücadele 1984 yılından itibaren 4-8 aylık sığırlar ve 3-8 aylık kuzu ve oğlakların aşılanması şeklinde başlatılarak halen devam etmektedir. Yapılan kitlesel aşılama programlarından etkilerinin gözlemlenmesi yapılmaktadır. *Brucella* enfeksiyonlarının insanlarda tedavisi için Dünya Sağlık Örgütü 1986'da altı hafta doksisisiklin (200 mg/oral) + rifampisin (600-900 mg/oral) kombinasyonunu önermiştir. Gebelerde ise

tetrasiklin ve streptomisin kullanımının toksik etkilere neden olduğu, bunun yerine 40 gün süre ile rifampisin kullanılabileceği bildirilmiştir (Refai, 2002; Aslan, 2014).

Sonraki yıllarda insanlarda etkenin doksisisiklin ve rifampisin yanında streptomisin, trimetoprim sulfametoksazol ve siprolaksin gibi antibiyotiklere duyarlı olduğu ve tigesiklinin tedavide kullanılabilecek alternatif ajan olabileceği rapor edilmiştir. Hayvanlarda tedavide kullanılan antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik çalışmaları sınırlı sayıda olmak ile birlikte, insan brusellozisinin endemik olduğu bölgelerde yaşayan koyunlardan izole edilen *B.melitensis*'in streptomisin, siprofloksasin ve gentamisine % 7.5 rifampine % 9.8 oranlarında dirençli olduğu belirlenirken, en yüksek dirençliliğin ise trimetoprim sulfametoksazola (% 46.3) karşı geliştiği yapılan çalışmalarda tespit edilerek bildirilmiştir (Parlak ve ark., 2013; İlhan ve ark., 2013; Aslan, 2014).

2.18. Hastalığın Halk Sağlığı ve Ekonomik Yönden Önemi

Brusellozun Dünya üzerinde en yoğun olarak görüldüğü ülkeler; Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Afrika, Asya, Orta Doğu ve Akdeniz ülkeleridir. Birçok ülkede hastalığa karşı önlemler alınmasına rağmen, brusellozis hem insanlarda hem de hayvanlarda düşüş eğilimi göstermemektedir. Hastalığı kontrol altına almış olan ülkelere bu konuda çalışmaları çok önem verilerek yoğun bir şekilde devam ettirilmektedir. Bruselloz ekonomik kayıplara neden olmaktadır. İnsanda uzun süren tedavilere ve hastalıktan kaynaklanan güç kaybı nedeniyle sürekli çalışamaması, gebe hayvanlarda ise yavru atma, ergin hayvanlarda kısırlık, süt veriminin düşmesi ve canlı ağırlık kayıpları gibi olgular hem çiftçiler için hem de ülke ekonomisi açısından çok fazla önem taşımaktadır (Pappas, 2006; Elaldı, 2010; Boschirolı ve ark., 2011; Gülbaz, 2011).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), *Brucella* çalışmalarında güvenlik seviyesi en üst düzeyde çalışılması gerektiğini ve kullanılan araç ve gereçlerin tam ve steril olması gerektiğini bildirmektedir. Solunum yolu ile bulaşma söz konusu olabileceği için de maske takılmasını ve gerekli tedbirlerin alınmasını zorunlu kılmıştır. Bu konuda çalışan veteriner hekim, biyolog, tıbbi laborantın gerekli özeni göstermesi gerekmektedir (Zervas, 1997; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

3.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bruselloz, dünyanın birçok ülkesinde insan ve hayvan sağlığı açısından önemli olan zoonoz hastalıkların başında gelmektedir. Hastalık hayvanlarda düşüklere, süt verimi kaybı, infertilite, hastalığa bağlı olarak veteriner ve aşılama masrafları nedeniyle hayvansal üretimde kayıplara sebep olurken, hastalık taşıyan hayvanlarla direkt temas, kontamine süt ve süt ürünleri tüketimiyle de önemli bir halk sağlığı problemi olarak görülmektedir. Bruselloz dünyada olduğu gibi ülkemizde de insan ve hayvanlarda sıklıkla rastlanılan zoonoz bir hastalıktır (Gülbaş, 2011).

3.1. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİ

Yapılan bir çalışmada, Mert (1984) 150 peynir örneğinin 29 adedinde (% 19.33) *Brucella spp.* izole etmiştir. Bu peynir örneklerinin 26 adedinde *B. melitensis* (% 90), 3 tanesinde *B. abortus* (% 10) saptamıştır. Çalışmada, pastörize edildiği bildirilen sütlerden yapılan peynirlerde ilk örneklemelerde *Brucella* izole edilmezken, 5 gün gibi bir süre geçtikten sonra aynı örneklerden % 20 düzeyinde *Brucella*'nın izole edildiği bildirilmiştir.

Erzurum piyasasından toplanan 30 adet taze peynir örneğinin hiçbirisinde *Brucella* tespit edilemediğini kaydetmişlerdir (Sert ve Kıvanç, 1985).

Doğal olarak enfekte olmuş inek sütlerinden olgunlaştırılmış peynirlerde *B. abortus*'un yaşam süresini araştırılmıştır. Çalışmada standart peynir yapımından 20 gün sonra *B. abortus* varlığının tespit edilmediğini, peynir yapımında kullanılan standart uygulamaların laboratuvar ortamında hazırlanmış deneysel uygulamalardan daha hassas ve güvenilir olduğunu vurgulamışlardır (Plommet ve ark., 1988).

El-Daher ve ark. (1990), çeşitli süt ürünlerinde bulunan *B. melitensis*'e pH'nın etkisini incelemişlerdir. Çalışmada pH 5,5 ve üzeri sıvı besiyerlerinde *B. melitensis*'in 5 haftadan daha uzun süre yaşadığı görülürken, pH 4,0'ten daha düşük sıvı besiyerlerinde gelişmediği rapor edilmiştir. Özellikle yumuşak peynirlerde 72 saat sonra *B. melitensis* varlığı tespit edilirken, diğer süt ürünlerinde (süt, yoğurt ve yayık ayranı) 96 saat sonra etken belirlenememiştir.

Ankara ilinde semt pazarlarında satışı sunulan 66 adet beyaz peynir ve değişik semtlerdeki marketlerden alınan 34 adet beyaz peynir numunesi *Brucella* yönünden incelenmiş, toplam 100 adet numuneden %4'ünde etken izole edilmiştir. İzole edilen bu 4 numunenin ise semt pazarlarından temin edilen peynirlerden olduğunu bildirmişlerdir (Uraz ve Yücel, 1992).

Sancak ve ark.(1993), tarafından yapılan bir çalışmada ise, Van ilinde 1992 yılı Mart, Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında 40 adet taze otlı peynir numunesi bruselloz riski yönünden incelenmiştir. Peynir örnekleri Farrel buyyon'lu besiyerine ekim yapılarak %15 CO₂'li ortamda 37°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Sonra Farrel agarda %15 CO₂'li ortamda 37°C'de 3-5 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerden 7 tanesinden *Brucella* türlerini izole ederek ve bunlardan 6 tanesi *B.melitensis*, 1 tanesi ise *B.abortus* olarak identifiye edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada kaynatılmamış sütlerden yapılan otlı peynirlerde *Brucella* bakterilerinin 40 güne kadar canlılığını sürdürdüğü de belirlenmiştir. Bu araştırmacılar Van otlı peynirlerinde *B. melitensis*'in 40 gün kadar canlı kalmasını salamuradaki tuzun fazla olmasından dolayı olduğunu bildirmişlerdir.

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

Leal-Klevezas ve ark. (1995) *Brucella* türlerini araştırmak üzere moleküler testlerden biri olan, PCR hassasiyetini kullanarak klinik olarak sağlıklı olan 300 keçiden alınan 23 süt ve kan örnekleri üzerinde yaygın olarak kullanılan bazı serolojik ve bakteriyolojik tekniklere karşı kıyasladıkları çalışmalarında; kan örneklerinin serolojik yöntemde % 60'ı pozitif iken, % 86'sının PCR'da pozitif olduğunu göstermişlerdir. Etkeni sadece bir kan örneğinden izole etmişlerdir. Süt örneklerinin % 64'ü PCR'da pozitif bulunurken kültürlerde bakterilerin nadir olarak

ürediğini belirlemişlerdir. Bu incelemeyle, PCR'tekniğinin diğer serolojik testlere göre daha duyarlı ve spesifik olduğunu bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise; Romero ve ark. (1995); seropozitif olarak belirlenen 56 süt örneğinde izolasyon ile PCR yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, kültürde pozitiflik oranını % 100 bulurken, PCR'da % 87,5 olarak belirtmişlerdir. Araştırmacılar PCR' da pozitiflik oranının daha düşük olmasının nedeninin DNA amplifikasyonunu engelleyen inhibitörlerin neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bunun ise PCR tekniğinden kaynaklandığını saptamışlardır.

Ülkemizde *Brucella* vakalarının fazla görüldüğü Kars merkez ve ilçelerine bağlı yerlerde yaptığı çalışmada, *Brucella* enfeksiyonunun olduğu bilinen 22 yerleşim biriminden alınan 712 adet inek sütü örneği ELISA ve Milk Ring Test (MRT) ile araştırılmış, MRT ile %56), ELISA ile %65,59 pozitif sonuç saptanmıştır (Güllüce ve Leloğlu, 1996).

B. melitensis'in üremesinde pH ve tuz oranının önemini belirlemek için, Öztürk ve Nazlı (1996) yaptığı bir çalışmada *B. melitensis* Rev 1 suşu ile kontamine edilen kaynatılmamış inek ve koyun sütlerinden üretilen peynirler de olgunlaşmanın 30. gününden itibaren *B. melitensis* izole edemediklerini ve bu durumu hazırlanan tulum peynirlerinde saptanan pH 5,1–5,2 değerleri ile tuz oranlarının olgunlaşmanın sonuna doğru yükselmesiyle ilgili olabileceğini bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise, Castell ve ark.(1996), İspanya'da 81 adet ev yapımı kaynatılmamış koyun sütünden yapılan peynirde *B. melitensis* varlığını tespit ettiklerini açıklamışlardır.

Yine Sudan'da yapılan bir çalışmada 153 adet kaynatılmamış deve sütünde % 10.5 oranında *B. abortus* varlığını saptamışlardır (Obied ve ark.,1996) .

Acedo ve ark.,(1997), Meksika'da 335 adet taze beyaz peynir, 265 adet kaynatılmamış inek sütü ve 24 adet kaynatılmamış keçi sütü örneklerinde *Brucella spp.* varlığını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda beyaz peynirlerde % 7,5, kaynatılmamış inek sütlerinde % 2,3 ve kaynatılmamış keçi sütlerinde % 4,2 oranında *B. abortus* ve *B. melitensis* varlığını saptamışlardır.

Başka bir çalışmada, Irak'ın Musul Şehri semt pazarlarında satılan 85 adet taze peynirin 8 tanesinde ve 65 adet Kishfa peynir (yöresel koyun peyniri)'inin 3 tanesinin de *Brucella spp.* izole edilmiştir (Hadad ve ark., 1997).

Bir yıl sonra Hadad ve ark., (1998) yaptığı başka bir çalışma ise, Irak'ın Musul şehrinde bulunan manda cinsi sığırlara ait süt ve süt ürünlerinden 160 adet örnekte *Brucella* izolasyon çalışması yapılmış ve % 5 düzeyinde *Brucella* pozitiflik tespit etmişlerdir.

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

Brezilya'da yapılan bir çalışmada Langoni ve ark. (2000), serolojik yöntemlerle pozitif olarak nitelendirilen ineklerden alınan süt örneklerine bakteriyolojik kültür işlemleri uygulamışlardır. Çalışma sonucunda 49 süt örneğinden 15'inin (% 30.61) *B. abortus* açısından pozitif olduğunu tespit ederek bildirmişlerdir.

Burdur ili semt pazarında satılan 61 inek ve 53 koyun peynir örneklerinin bakteriyolojik analizini yapan Türütoğlu ve ark. (2001), *Brucella* türlerinin izole edilmediğini rapor etmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise Kalender ve ark. (2001), Elazığ, Tunceli ve Erzincan illerinden toplanan 78 adet taze tulum peyniri örneğinin 16'sından (% 20.5) *Brucella* türlerini izole etmişlerdir.

Yine Elazığ'da yapılan başka bir çalışmada Patır ve Dinçoğlu (2001), tüketime sunulan 30 adet beyaz peynir ve 55 adet tulum peynirinde *Brucella* etkenlerinin varlığını araştırmışlardır. Sonuç olarak, 1 adet beyaz peynir (% 3,33) ve 1 adet tulum peyniri örneğinde (% 1,18) *Brucella spp.* varlığını tespit etmişlerdir. İncelenen peynir örneklerinde *B. abortus*'u $3,4 \times 10^5$ kob/g ve *B. melitensis*'i $4,6 \times 10^2$ kob/g düzeylerinde bulmuşlardır.

Vanzini ve ark. (2001), süt örneklerinde *B. abortus* antikollarının varlığının tespiti için indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (iELISA) ve *Brucella*

Milk Ring testini (MRT) karşılaştırmak için yaptıkları bir çalışmada, enfekte olduğu bilinen 54 süt örneğinin % 98.1'ini ELISA ile %72.2'sini, MRT ile pozitif bulmuşlardır. Enfekte olmayan 42 örnekte ise ELISA yöntemiyle 5, MRT ile de 4 örneği pozitif olarak saptamışlardır.

Kırıkkale'de yapılan bir çalışmada ise, toplanan 35 adet kaynatılmamış süt, 35 tane inek peyniri ve 35 tane koyun peyniri örneklerinde *Brucella* spp. varlığı ve kontaminasyon düzeyi araştırılmıştır. Çalışma sonunda 35 tane koyun peynirinin 5 adetinde de *B. melitensis* izole etmişlerdir. Ancak kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinde ise *Brucella* spp. varlığını saptayamamışlardır (Kasımoğlu, 2002).

Brucella türlerini tespit etmek için yapılan bir çalışmada; 52 sığır, 21 koyun, 18 keçi ve 12 deveden topladıkları 103 süt örneğini sırasıyla Standart Tüp Aglütinasyon testi (SAT), Rose Bengal Plate testi (RBPT), Milk Ring testi (MRT) ve Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) teknikleri ile incelemişlerdir. PCR'la 29 sığır, 10 koyun, 13 keçi ve 1 deve süt örneğinden *Brucella* DNA'sı ampflie etmişlerdir. Direkt kültür metoduyla ise 24 sığır, 12 koyun, 10 keçi süt örneğinde pozitif bulmuşlardır. Fakat direkt kültür metoduyla deve süt örneklerinde herhangi herhangi bir *Brucella* türü tespit edememişlerdir (Hamdy ve Amin, 2002).

Türütöğlu ve ark.(2003), yaptıkları başka bir çalışmada ise, Burdur yöresinde sığır sütlerinde *Brucella* spp. varlığını ve *Brucella* türlerine karşı oluşmuş antikorları belirlemek amacıyla 101 inek ve 226 koyundan 630 süt örneğini toplamışlar. Süt örneklerinden etken izole etmediklerini ancak Milk Ring Test (MRT) ile inek süt örneklerinin 12'sinde (% 3), koyun süt örneklerinin 40'ında (% 17.7); SAT' ile inek süt örneklerinin 9 tanesinde (% 2,2) ve koyun süt örneklerinin 31'inde (% 13.7) pozitiflik saptadıklarını ve bruselloz oranının ineklerde %1, koyunlarda % 3,5 olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Sonuçlarda görülen bu farklılığın hayvan türlerinin *Brucella* konakçısının değişik olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Erzurum piyasasından topladıkları çeşitli peynir örneklerinde *B. abortus* antijenlerinin sıklığını ELISA tekniği ile araştıran Güllüce ve ark. (2003), çalışmaların da toplam 120 beyaz peynir, 60 civil peynir ve 52'lor peyniri örneğini incelemişler ve 120 beyaz peynir örneğinin % 21.66'sında *B.abortus* antijeni

saptamışlardır. Civil peynir ve lor peyniri örneklerinde ise *B. abortus* antijenine rastlamamışlardır.

Kayseri ili ve ilçe semt pazarlarında satışı sunulan kaynatılmamış sütlerden yapılmış taze beyaz peynirlerden 100 adet örnek alan, Buğdaycı (2003), yaptığı çalışma sonucunda örneklerin 13' tanesinde (% 13) *Brucella* yönünden pozitif bildirmiştir.

İzmir'de çeşitli semt pazarlarında satılan sokak sütlerinin mikrobiyolojik özellikleri üzerine yapılan çalışmada ise. 101 süt örneği toplanmış ve bunlardan 95 adetinin *Brucella* riski bakımından pozitif olduğu tespit edilmiştir (Yetilmez ve ark., 2003).

Eren (2004), Afyonkarahisar'da piyasadan topladıkları 100 adet beyaz peynir örneğinin % 2'sinde *Brucella spp.* saptamıştır.

Süt kullanılarak çok sayıda ürün elde edildiği bilinmekte olup bunlardan biriside dondurmalarıdır. Dondurma örneklerinden *Brucella* izolasyonu ile ilgili yaptıkları araştırmada 80 vanilyalı, 75 çikolatalı ve 62 meyveli olmak üzere toplam 214 dondurma örneğini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda, çikolatalı ve meyveli dondurmalarından *Brucella* izole edilmez iken vanilyalı olan yani içinde süt bulunduran dondurmaların 5 tanesinde *B. abortus* izole ettiklerini bildirmişlerdir (Küplülü ve Sarımehtetoğlu, 2004).

Erzurum ilinin bazı köylerinde ineklerden alınan numunelerde *B.abortus* seroepidemiolojisini saptamak amacıyla yapılan araştırmada; toplanan 560 süt örneği ELISA yöntemi ile çalışılmış, 96 (% 17)'sında *B.abortus* IgG açısından pozitif bulmuşlardır (Adıgüzel ve ark., 2004).

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

Isparta merkez ve merkeze bağlı ilçelerinde çalışma yapan Serttaş (2006), 500 adet süt örneği üzerinde ELISA ve Milk Ring Testi (MRT) yöntemini kullanmıştır.

Araştırma sonucunda; MRT testi ile 281 (% 56,1), ELISA testi ile 36 (% 17,2) adet pozitif sonuç elde etmiştir. Buradan yola çıkarak ELISA testinin MRT göre daha duyarlı, spesifik ve yalancı sonuçlar vermediğini bildirmişlerdir.

Samsun ilinde 50'şer adet inek sütü ve keçi sütünde *Brucella* antikorlarının saptanması amacıyla yapılan bir araştırmada ise, toplam 100 adet süt örneğinde Aglütinasyon testi (Whey-AT) ve Milk Ring Test (MRT) ile *Brucella* antikorlarının varlığı çalışılmıştır. Milk Ring Test (MRT) sonuçlarına göre inek sütü örneklerinin % 20'si keçi sütü örneklerinin de % 12'si *Brucella* antikorları yönünden pozitif bulunmuştur. Serum aglütinasyon testinde (Whey-AT) belirlenen antikor titrelerine göre; inek sütü örneklerinin % 8'i pozitif, % 6'sı şüpheli, % 86'sı ise negatif; keçi sütü örneklerinin ise % 6'sı pozitif, % 4'ü şüpheli, % 90'nın da negatif olduğu saptanmıştır (Terzi, 2006).

Ataş ve ark.(2007), Sivas il merkezinde satışa sunulan taze ve salamura beyaz peynir örneklerinden aldıkları 135 adet örneğin 8'tanesinde (% 5.9) *Brucella* cinsi bakterileri izole etmişlerdir. Bu örneklerden % 2.9'u *B. melitensis*, % 2.9'u *B. abortus* olarak tiplendirilmiştir. Market ve şarküterilerde satışa sunulan 120 adet salamura beyaz peynir örneğinde ise *Brucella* cinsi bakterilere rastlanmadığını bildirmişlerdir.

2006-2007 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada; Mersin ilinin merkeze bağlı 10 farklı köyünden 240 adet kaynatılmamış inek sütü, 122 adet kaynatılmamış koyun sütü, 95 adet kaynatılmamış keçi sütü örneği alınmıştır. Ayrıca Mersin merkezde bulunan 40 farklı pastaneden 105 adet dondurma örneği, semt pazarlarında ve şarküterilerde satışa sunulan 102 adet kaynatılmamış süttten yapılmış taze beyaz peynir örneği olmak üzere toplam 664 adet süt ve süt ürünleri örneğiyle çalışma yapan Aydın (2007), *Brucella* cinsi bakterilerin varlığını araştırmıştır. Bakteriyolojik değerlendirme sonucunda; 240 inek sütü örneğinden ve 105 dondurma örneğinden sadece 1'er örnekte *Brucella* cinsi bakteri izole etmiş, inek sütünden izole edilen suşun *B. melitensis* biovar 1, dondurma örneklerinden izole edilen suşun ise *B. melitensis* biovar 3 olduğunu bildirmiştir.

Trakya yöresinde 75 süt örneğini kültür yöntemi ve PCR tekniği ile analiz ettiği çalışmasında Abdulkareem (2008), kültür yöntemiyle 3 izolatta *Brucella* bakımından şüpheli koloni tespit etmiştir. Daha sonra tüm örneklerle uyguladığı PCR tekniği sonucunda bu 3 izolatla beraber 17 örneğin de *Brucella* pozitif olduğu ve bunlardan yalnızca bir tanesinin *B.melitensis* olduğunu bildirmiştir.

İlhan ve ark.(2008), 102 süt örneğinin Farrel dekstroz agarla % 7,8'inin *Brucella* pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Süt örneklerine PCR yöntemini uygulayarak yaptıkları analiz sonucunda 24 örnekte (% 23,5) *B. melitensis* DNA'sının 731 bp genişliğinde bant verdiğini bildirmişlerdir. Yine Milk Ring Testi (MRT) ile 102 süt örneğinin % 27,4'ü *Brucella* pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. PCR ve kültür analizleri sonuçlarını karşılaştırdıklarında, her iki testin sonucunda 8 pozitif ve 78 negatif örnek olduğunu, PCR ile MRT'yi karşılaştırdıklarında ise 22 örneğin pozitif, 72 örneğin negatif olduğunu açıklamışlardır. PCR ve MRT testlerini karşılaştırdıklarında aralarında % 96 gibi bir uyum olduğunu ve bu iki testinde *Brucella* araştırmalarında duyarlı olabileceği kanaatine varmışlardır.

13 sığır ve 40 bufalodan elde edilen toplam 53 adet süt örneği üzerinde çalışma yapan Patel ve ark. (2008), PCR ve ELISA teknikleri ile *Brucella* antikörlerini belirlemeği amaçlamışlardır. Sonuç olarak; 9 örnekte PCR yöntemiyle, 15 örnekte ELISA yöntemiyle pozitiflik tespit edilmiştir. Hem PCR ve hem de ELISA ile 6 örnekte pozitiflik tespit edilirken, PCR yöntemiyle pozitif bulunan 3 örneği ELISA ile negatif tespit etmişlerdir.

Taşcı (2009), Ankara' da tüketime sunulan market, pazar ve pastanelerden alınan 35 mutfaklık tereyağı, 35 krema ve 35 kremşantili pasta örneklerinin hiçbirisinin *Brucella* bakterileri ile kontamine olmadığını bildirmiştir.

Burdur il merkezi ve ilçelerinde kurulan semt pazarlarında kendi yaptıkları peynirleri satan üreticilerden temin edilen 50'şer adet inek ve koyun sütünden yapılmış, toplam 100 taze beyaz peynir örneği *Brucella* varlığı yönünden incelenmiştir. Elde edilen 100 adet peynir örneğinin % 7'sinde *Brucella* spp. varlığı tespit edilmiştir (Akcan Kale, 2009).

Keskin ve ark.(2009), 10 sürüdeki 116 keçiden 222 adet süt örneği toplamışlar ve PCR yöntemiyle inceledikleri 50 adet süt örneğinde *B. melitensis* saptamışlardır.

Sığır sütlerinde *B. abortus*'un teşhisi için 50 süt örneği alınmış ancak sütün artırılma işleminden sonra 46 örnekte PCR yöntemi kullanılarak direkt DNA ekstraksiyonu yapıp etken saptanmış ve hassasiyeti %92 oranında bulunmuştur. Bunun yanı sıra 44 örnekte ise Alkalın DNA ekstraksiyon yöntemini kullanarak hassasiyeti % 88 olarak belirlemişlerdir. MRT ile identifikasyon sonucunda ise 36 örnekte *Brucella* tespit edilerek hassasiyet % 72 olarak belirlenmiştir (Al-Mariri ve ark., 2010).

İran'da Zowghi ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada; 6472 adet inekten alınan süt örneğinin 1056 tanesini serolojik olarak pozitif, 6472 süt örneğinin 1632'si ise MRT testi ile pozitif olarak bulunmuştur. Bütün süt örneklerine kültür yöntemi uygulanarak 397 adet *B. abortus* izolatu elde edilmiştir. Bu isolatların 119 tanesinin seronegatif olan ineklerden alındığı belirlenmiştir.

Geçmişlerinde düşük yapmış keçilerden toplanan 54 süt örneğini inceleyen Gupta ve ark.(2013), serolojik yöntemlerle sadece % 59 örnekte *B.melitensis* tespit edebilmişlerdir. PCR yöntemi kullanarak ise % 88.8 örneği pozitif bulmuşlardır. Bundan dolayı PCR'ın yüksek hassasiyet ve özgünlüğünün keçi sütlerinde *Brucella*'nın teşhisi için değerli bir araç olacağı ve *Brucella* araştırması için PCR'ın daha net sonuçlar vereceğini bildirmişlerdir.

İndirekt ELISA yöntemiyle 147 süt örneği incelenmiş ve 13 örneğin pozitif olduğu geri kalan 134 örneğin ise negatif olduğu bildirilmiştir (Funk ve ark., 2014).

Yine İran'da yapılan bir çalışmada; 200 adet pastörize edilmemiş koyun sütünden üretilen taze peynirleri kültürel yöntemlerle inceleyen Shakerian ve ark. (2015), sadece bir adet (% 0,5) peynir örneğinde *B. melitensis* tespit etmişlerdir.

İspanya' da bir çiftlikte pastörize edilmemiş ve kaynatılmamış süttten yapılan 78 adet keçi peyniri ile yapılan çalışmada, 11 adet örnekte *B. melitensis* varlığı tespit edilmiştir (Mendez ve ark., 2015).

B.abortus'un fermente süt ürünleri ve buzdolabı ısısında canlılıkları araştırılmış ve *B.abortus* inoküle edilen fermente süt ürünlerinde bu bakterilerin canlı kalabileceği bildirilmiştir. Ayrıca pastörize edilmeyen kontamine fermente sütten *Brucella*'nın bulaşabileceği de belirtilmiştir (Zuniga ve ark., 2016) .

3.2.HAYVAN SEKRESYONLARI, PLASENTA, MİDE İÇERİĞİ, İÇ ORGANLAR VE KAN SERUMLARI

Hayvanların; sadece süt ve süt ürünlerinin yanı sıra; plesanta, mide içeriği, i organlarından ve kan serumlarından da *Brucella* bulaşmakta gerek hayvan sahibine, veteriner hekime gerekse tam olarak hayvanın hastalığını bilmeyip kasaba kestiren ve dolaylı yönden hayvanla temasta olan kişilere bulaşma ihtimali oldukça fazladır.

Fekete ve ark. (1992), yaptıkları çalışmada, anneye ve fetüse ait 105 numuneyi PCR ve bakteriyolojik yöntemlerle incelemişler ve bu numunelerden 56'sını kültürel metotla, 55'ini PCR ile pozitif bularak hassasiyetin % 97 olduğunu bildirmişlerdir.

Van Belediyesi mezbahasında kesimi yapılan 636 adet koyun ve bölgede atık yapmış 469 koyunun kan serumları ile 518 adet sığırın sütleri incelenmiştir. Kan serumlarında RBPT ile yapılan serolojik incelemede; mezbahada kesimi yapılan koyunlardan 29'unda (% 4.5), yavru attığı bilinen koyunların ise 63'nde (% 13.4) *Brucella* spesifik antikor varlığını tespit etmişlerdir. Sığırlardan alınan 518 süt örneğinin süt halka testi ile yapılan serolojik incelemesinde 11 tanesini (% 2.1) *Brucella* yönünden pozitif olarak bulmuşlardır (Gürtürk ve ark., 1994).

Yine etinkaya ve ark. (1999), 16 adet koyun mide içeriğini *Brucella* yönünden kültür teknikleriyle inceleyerek, 5 rneği pozitif olarak belirlemişlerdir. Yine bu rnekler PCR yöntemiyle incelendiğinde ise; 4'nn pozitif, 1 örneğin ise negatif olduğu tespit edilmiştir.

Omer ve ark. (2000), 1294 inekten aldıkları 110 (%8.5) rnekte seropozitiflik tespit ederken bunun yanında 62 erkek sığırdan sadece 1'inde (% 1.6) seropozitiflik olduğunu bildirmişlerdir. Laktasyon ve gebelik durumuna bakılmaksızın yetişkin sığırlarda seropozitifliğin yüksek olduğunu, doğum yapmamış genç ineklerde ise seropozitiflik oranını % 3 olduğunu belirtmişlerdir.

B. melitensis ile enfekte oldukları bilinen karantinaya alınmış çiftliklerden serolojik olarak pozitif olan 65 boğa ve 55 koça ait semen örneği kültürel ve moleküler yöntemlerle incelenmiştir. Araştırma sonucunda ise; 64 boğadan aldıkları örneklerin 4'ünden koçlardan alınan örneklerin ise 3'ünden *B. melitensis* biyotip 3 izole etmişlerdir. 120 örneğin tamamına uygulanan direkt PCR metodu ile 7 boğa ve 5 koç semen örneğinde *B. melitensis* saptamışlardır (Amin ve ark., 2001).

Öngör ve ark. (2001), koyun sürüsünde atık yapmış koyunlardan *Brucella melitensis*'e karşı oluşan antikorları, Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay (ELISA), Serum Aglutinasyon Testi (SAT), 2-Mererkaptoetanol Mikroaglutinasyon Testi (2-MEMAT), Dithiothreitol Mikroaglutinasyon Testi (DTT-MAT), Rose Bengal Testi (RBT), Komplement Fiksasyon Testi (CFT) ile saptamışlardır. Elazığ ve çevresinde atık yapmış 36 koyun sürüsünden elde edilen toplam 500 adet kan serumunda ELISA ile 103 (% 20,6), RBT ile 55 (% 11), SAT ile 84 (% 16,8), CFT ile 89 (% 17,8), 2-MEMAT ile 79 (% 15,8) ve DTT-MAT ile 81 (% 16,2) örnekte pozitiflik saptamışlardır. Bu değerler karşılaştırıldığında; ELISA ile CFT, SAT, 2-ME-MAT ve DTT-MAT arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığı ($p>0,05$) ancak ELISA ile RBT sonuçları arasında önemli ölçüde az bir farklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Van il merkezi ve köylerinden alınan 320 adet süt sığır kan serumlarında RBT ve SAT yöntemleriyle *Brucella* araştırması yapılmış ve sonuç olarak % 60-%68 oranında *Brucella* olduğu belirlenmiştir (Solmaz ve ark., 2002).

Atık sığır fetüsünden alınan örneklerle yapılan çalışma sonucunda % 31.03 % 59.7 arasında *Brucella* tespit edilmiştir (Genç ve ark., 2002).

Chahota ve ark. (2003), 290 tane sığırın uterus atığı ve plasentalarından yapılan analizler sonucunda sadece 5 tanesinden *B.abortus* izole etmişlerdir.

Yine araştırmacılar atık sığır fetüsünden aldıkları örneklerle yapmış oldukları çalışma sonucunda % 30.03 %58.7 arasında *Brucella* tespit etmişlerdir (Güler ve ark., 2003).

Aşılanmamış ve 163 düşük yapmış sığır kan serum örneklerinde çalışma yapılmış ve bu numuneler, Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Complement Fixation Testi (CFT), Rose Bengal Testi (RBT) ve Serum Agglutination Testi (SAT) ile incelenerek araştırma sonucunda % 62.5- % 68.1 oranında *Brucella* tespit edilmiştir (Genç ve ark., 2004).

Hatay yöresinde ELISA yöntemiyle kan örnekleriyle çalışma yapılmış ve sonuç olarak 462 koyunun 155'i (% 33.5) ve 458 keçinin 177'sinde (% 38.6) Brusellozis seropozitif bulmuşlardır. Düşük yapan 72 koyunun 56'sında (% 77.8), 157 keçinin 71'inde (% 45.2) ve düşük yapmayan 390 koyunun 99'unda (% 25.4), 301 keçinin 106'sında (% 35,2) hastalığın seropozitif olduğu ve hem koyun hem de keçilerde düşük yapanlardaki seropozitiflik oranlarının, düşük yapmayan hayvanlardaki orana göre önemli derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Şahin ve Yıldız, 2006).

Salehi ve ark. (2006), 95 düşük fetüs ve 25 insan kan kültürünü RFLP-PCR analiz yöntemini kullanarak incelemişlerdir. Sonuç olarak 95 fetüs örneğinin 92'si (% 97) *B.melitensis* biyotip 1 ve 3 örnek ise (% 3) *B.abortus* olarak bildirilmiştir. Ayrıca 25 insan kan kültürünü incelediklerinde ise; 24 örneği (% 97) *B.melitensis* biyotip1, bir örneği (% 4) ise *B.abortus* olarak saptamışlardır.

Büyükcangaz ve Şen (2007); 2004 ve 2005 yıllarında Marmara Bölgesinde atık sığır fetüsünün iç organları ve abomazum (dördüncü midenin yer değiştirmesi) içeriklerinden % 19.5'inde *Brucella spp.* izole etmişlerdir.

Kars ilinin 9 farklı köyünden düşük yapmış koyunlardan alınan 167 kan örneğini Serum Aglutinasyon testi (SAT) ile inceleyen araştırmacılar 71'inde (% 40,11) *B.melitensis* pozitif olduğunu belirlemişlerdir (Otlu ve ark., 2007).

301 sığır ve 503 koyundan alınan toplam 804 serum örneği ile yapılan araştırma sonucunda RBT ile 52 adet (% 6.47) seropozitiflik gözlemlenmiştir. Pozitif olarak tespit edilen hayvanlar SAT testi ile de aynı sonuçları vermiştir. CFT testi ile yapılan doğrulama tayininde sığırlarda seropozitifliği %1 ve koyunda % 8 olarak saptamışlardır (Apan ve ark., 2007).

Kesime götürülen 162 koyunla yapılan başka bir çalışmada ise; izolasyon, PCR ve serolojik bulgu sonuçları karşılaştırılmıştır. İzolasyon sonucunda kandan iki tane, lenf dokusundan 28 tane *B. melitensis*, PCR yöntemiyle ise kanda 45 adet, lenf dokusunda 47 adet pozitif sonuç bulmuşlardır. Ayrıca 45 koyunun ise *Brucella* yönünden seropozitif olduğunu saptamışlardır (İlhan ve ark., 2008).

Aydın ili çevresinde bulunan sığırlardan rastgele örnekleme metodu ile toplanan 200 adet sığır kan örneğinin 57'sinde PCR ile yapılan çalışmalar sonucunda % 60-%65 oranında *Brucella* tespit edilmiştir (Parin, 2008).

2001-2006 yılları arasında geçmişlerinde düşük hikâyeleri olan 27 sürüden alınan 626 serum örneği ile yapılan araştırmada, Rose Bengal testi (RBT), Serum Agglutination Test (SAT) ve ELISA yöntemleriyle *Brucella* türlerini belirlemeye çalışmışlardır. Araştırma sonucunda % 52-%58 oranında *Brucella* tespit etmişlerdir (Şahin ve ark., 2008).

Çelebi ve Atabay (2009); 400 koyun serumunu; Complement Fixation Testi (CFT), Rose Bengal Testi (RBT), Rivanol Agglutination Testi (RAT) ve Serum Agglutination Testleri (SAT) ile incelemişler ve CFT ile 135 (% 33.75), RBT ile 139 (% 34.75), RAT ile 142 (% 35.5) ve SAT ile 147 (% 36.7) tanesinde *Brucella* antijenini pozitif olarak saptamışlardır.

26 sığır, 45 koyun ve 55 keçi sürüsünden topladıkları 1670 serum örnekleri RBT (Rose Bengal Test) ve ELISA testi ile analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda RBT ile koyun sürüsünde % 26.66, keçi sürüsünde % 18.88 ve sığır sürüsünde % 21.6 *Brucella* prevalansı tespit etmişlerdir. ELISA testi ile koyun sürüsünde %21.20, keçi sürüsünde % 14.5 ve sığır sürüsünde % 17.22 olarak *Brucella* prevalansını belirlemişlerdir (Kaoud ve ark., 2010).

Çelebi ve Otlı (2011); Kars il merkezi ve Selim ilçesine bağlı köylerde atık yaptığı bilinen sığır sürülerinde bulunan ve hastalığa karşı aşılammamış 250 inekten aldıkları 500 süt ve vaginal svap örneklerini *Brucella* cinsi bakteriler yönünden kültürel olarak değerlendirmişlerdir. İnceleme sonucunda 250 süt örneğinin % 4.4'ünden ve 250 vaginal svap örneğinin % 6.4'ünden toplam % 5.4 örnekten *Brucella* spp. izolasyonu yapmışlardır. Bu izolatların PCR incelemesinde hepsinin

Brucella spp. ve saha suşları olduğunu bildirmişlerdir. İzole edilen tüm suşları *B. abortus* biyotip 3 olarak tiplendirmişler, ayrıca bu izolatların RAPD-PCR ile incelenmesi sonucunda DNA profillerinin, *B. abortus* S19 ile homoloji gösterdiğini tespit ederek bildirmişlerdir.

3.3. İNSAN KAN SERUMLARI

Al-Attas ve ark. (2000), Bruselloz hastalarından alınan 17 kan örneğinde çalışma yapmış ve sadece 14'ünü tedaviye başlamadan önce pozitif bulmuşlardır. Örneklerin incelenmesinde; seroloji, kültürel metotlar ve PCR kullanmışlardır. Bütün örneklerin Standart Tüp Aglütinasyon testi (STA) ile yüksek titre gösterdiğini ve %57 pozitif olduğunu, PCR ile % 100 hassasiyetlik derecesinde bütün örneklerin pozitif olduğunu bildirmişlerdir. PCR'ın hem hassasiyet, hem de spesifitesinin kültür ve serolojide olduğundan önemli oranda daha yüksek olduğunu söylemişlerdir.

Suudi Arabistan'da 25 hastada serolojik, kültür ve PCR yöntemiyle *Brucella* DNA'sını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; 25 hastanın serolojik yöntemle 21'inde, kültür yöntemiyle 9'unda ve PCR yöntemiyle de 24'ünde pozitif sonuç bulmuşlardır (Elfaki ve ark., 2005).

2000 yılının mayıs ayında anamnez ve fizik muayene bulgularıyla bruselloz olduğu düşünülerek yapılan çalışmada; Rose Bengal Testi (RBT) ve Wright Tüp Aglütinasyon testi (WTAT) ile pozitif değerlendirilerek tanısı kesinleşen 24'ü erkek, 8'i kadın hastada bruselloz tanı yöntemlerinin etkinliğini araştırılmıştır. Olguların % 100'ünde RBT ve WTAT, 12 (% 37,5) hastada *Brucella* IgM pozitif bulunmuştur. ELISA yöntemiyle bakteriye karşı oluşan antikorların tespitinin, hastalığın tanı ve tedavisinin takibinde anlamlı olduğunu belirtmişler ve hastaların % 18,7'sinde kanda, % 28,1'inde kemik iliğinde üreme olduğunu bildirmişlerdir (Dizer ve ark., 2005).

30 hastanın kan serumlarını kültür ve PCR yöntemleriyle inceleyen araştırmacılar, kültür ve biyokimyasal yöntemlerle 8 hastada (% 26,6) *B.melitensis* tanımlamışlardır. PCR tekniği ile ise serum örneklerinin 28'ini (% 93,3) pozitif bulmuşlardır (Khosravi ve ark., 2006).

Koçoğlu ve ark. (2008), 15 yaşın üstünde olan 67 kişide *Brucella* antikorlarının varlığını Rose Bengal Testi (RBT) ve Serum Aglutinasyon Testi (SAT) ile araştırmışlar ve bunların 67 olgunun 10'unda (% 15) RBT pozitif, 8'inde (% 12) ise SAT pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Kars ilinde 2004-2006 yılları arasında brusellozisin prevalansını araştırmak için çiftçilerden, veterinerlerden ve sığırlardan aldıkları kan serum örnekleri üzerinde inceleme yapan araştırmacılar toplam 407 serum örneğini ve 27 farklı sürüdeki düşük hikâyesi olan sığırlardan, 130 erkek, 116 kadın olmak üzere 246 serum örneğini çiftçilerden ve 28 serum örneğini de veteriner hekimlerden toplamışlardır. Bu serum örneklerini RBT, SAT ve ELISA testleriyle *Brucella* antikorları yönünden analiz yapmışlardır. Sığır serumlarından yapılan analizlerde RBT ile 134 (% 32.92) ve SAT ile 141 (% 34.64) pozitiflik belirlenmiştir. Araştırmalar sonucunda *Brucella* görülme oranı çiftçilerden alınan serum örneklerinde pozitiflik; RBT ile 32 (% 13), SAT ile 35 (% 14.22) ve ELISA yöntemiyle ise 44 (% 17.88) olarak bulunmuştur. Cinsiyet bakımından çiftçiler arasında seropozitiflik bakımından önemli bir fark ayırt edilmemiştir. Veteriner hekimlerden alınan 28 serum örneğinin serolojik incelemesi sonucunda 13 örnekte (% 46.42) pozitiflik saptamışlardır (Otlı ve ark., 2008).

4. MATERYAL VE METOD

4.1. MATERYAL

4.1.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmamızda 2016 yılı Mart ile Eylül ayları arasında Kırşehir il merkezi ile il merkezine bağlı merkez dışındaki mahalleler ve merkeze bağlı 14 farklı köyden toplanan 202 adet kaynatılmamış inek sütünde *Brucella* cinsi bakteri olan *Brucella abortus* aranmıştır. Örneklerin özellikle *Brucella* aşısı olmamış, mandra sisteminde olmayan hayvanlardan toplanmasına dikkat edilmiş, ancak hayvan sahiplerinin bu konuda yeterince bilgi sahibi olmamasından dolayı kesin tespit yapılamamıştır.

Gerek merkezden gerekse köylerden toplanan süt örneklerinin üreticilerin kendi ihtiyaçlarını karşılamak ya da küçük pazarlarda satış yapmak için üretilenlerden olmasına özen gösterilmiştir. Örnekler alınırken hayvan sahipleri ile konuşulmuş ürettikleri süt ve süt ürünlerini nasıl değerlendirdikleri hakkında bilgi de alınmıştır.

Yapılan görüşmeler ve alınan bilgiler sonucunda genelde hayvan sahiplerinin direkt olarak kaynatılmamış inek sütü tüketiminin olmadığı fakat kaynatılmamış inek sütünden peynir, çökelek gibi süt ürünlerinin yapıldığı anlaşılmıştır.

İnek sütü örnekleri; Kırşehir il merkezi, merkeze uzak 3 mahalle ve 14 farklı köyden toplanmıştır.

202 adet kaynatılmamış inek süt örneklerin toplandığı köy ve mahalle isimleri örnek sayısı Tablo 4.1. de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Süt Örneklerinin Toplandığı Yerlerin İsimleri ve Sayıları

Merkez/Mahalle/Köy İsimleri	Toplanan Örnek Sayısı
Kırşehir/Merkez	64
Beşevler Mahallesi	7
Kındam Mahallesi	15
Göhlisar Mahallesi	14
Sevdiğin Köyü	6
Çayağzı Köyü	2
Yeşilli Köyü	6
Çuğun Köyü	10
Taburoğlu Köyü	19
Toklumen Köyü	6
Karaduraklı Köyü	4
Kumarkaç Köyü	5
Sıdıklı Köyü	4
Uzunali Köyü	6
Tosunburnu Köyü	2
Dulkadirli Köyü	7
Hamurluüçler Köyü	15
Hashüyük Köyü	10

Süt örneklerinden yaklaşık 50' şer ml steril ağzı kapalı plastik tüplere alınmıştır. Yine örnekler köylerden alınırken köylünün evindeki inek sayısı baz alınarak her bir ineğin sütü ayrı bir steril tüpe konulmuştur. Örnekler soğuk zincirde korunarak aynı gün içinde Ahi Evran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim dalı, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Örneklerimiz MRT 'de yalancı pozitif reaksiyon vermemesi için analize alınmadan önce buzdolabında 24-48 saat bekletilmiştir.



Resim 4.1. İneklerden sütleri toplama işlemi



Resim 4.2.Süt örneklerinin laboratuvara soğuk zincirde getirilmesi



Resim 4.3.Süt örneklerinin uygulanacak testlere hazırlanması

4.1.2. Kullanılan Araç Gereçler

-)/ Mikroskop (Olympus)
-)/ Güvenlik Kabini (Heraeus-HERA safe)
-)/ Soğutmalı Mikrosantrifüj (Hettich- Universal 32 R)
-)/ Mikrodalga Fırın (Beko- MD 1500)
-)/ Etüv (Memmert)
-)/ Pastör Fırını(Memmert)
-)/ Otoklav (Nüve- OT 020)
-)/ Hassas Terazi (Scaltec)
-)/ Buzdolabı
-)/ Vortex (NM- 110)
-)/ Su Banyosu (Memmert)
-)/ Distile su cihazı (Nüve NS 108)
-)/ Mikropipet Seti
-)/ Öze
-)/ Plastik özeler
-)/ Petri kapları
-)/ Lam
-)/ Lamel
-)/ Steril kap

-)/ Mikropipet Uçları
-)/ Pipet ucu
-)/ Balon joje
-)/ Ependorf tüpler
-)/ Cam şişe
-)/ Deney tüpleri
-)/ Vial kapaklı tüp
-)/ Beher glas
-)/ Kürdan
-)/ Pamuk
-)/ Süzgeç kağıdı
-)/ Parafilm

4.1.3. Kullanılan Kimyasal ve Antijenler

4.1.3.1. *Brucella* Milk Ring Test Antijeni

Vet-Vac marka ticari *Brucella* Süt Ring Test antijeni kullanıldı.



Resim 4.4. Milk Ring Test Antijeni

4.1.3.2. Rose Bengal Pleyt Test Antijeni

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



Resim 4.5.Rose bengal pleyt test antijeni

4.1.3.3. *Brucella* Tüp Aglütinasyon Testi Antijeni

Vet-Vac marka ticari *Brucella* Tüp Aglütinasyon Antijeni kullanıldı.



Resim 4.6.Standart tüp aglütinasyon test antijeni

4.1.3.4. *Brucella* Agar (Fİtika Analytical 18795)

Meat Peptone 10 gr / L
Casein Peptone 10 gr / L
Yeast extract 2 gr / L
D(+) Glucose 1gr / L
Sodium Chloride 5 gr / L
Agar 13 gr / L

Çalışmada hazır besiyeri kullanılmıştır. Besiyerinden 28,10 gram alınıp 1 litre distile suda çözdürüldükten sonra besiyeri otoklavda (Nüve OT 40L) steril edilmiş ve aseptik şartlarda steril petrilere dökülüp kontaminasyonunu kontrol etmek amacıyla bir gece 37°C'de etüvde (Nüve EN 500) inkübe edilmiştir. Daha sonra besiyerleri kullanılıncaya kadar buzdolabında +4°C 'de saklanmıştır.



Resim 4.7. *Brucella* agar besiyerinin laboratuvar ortamında hazırlanışı

4.1.3.5. Serum Fizyolojik

<u>Maddeler</u>	<u>Miktar (g/L)</u>
NaCl	9,0
Distile Su	1000 ml

9 gram sodyum klorür, 1000 ml distile su içinde çözdürülmüştür. Erlenmayere konularak otoklavda steril edildikten sonra steril tüplere dağıtılmıştır.



Resim 4.8. Hazırlanmış serum fizyolojik (NaCl)

4.1.3.6. *Brucella* Süt Serumu Elde Etmek İçin Kullanılan Peynir Mayası

Kırşehir merkez şarküteri esnafından peynir mayası alınmıştır.



Resim 4.9. Çalışmada kullanılan peynir mayası

4.2. METOD

4.2.1. Milk Ring Testi (MRT)

MRT testi Alton ve arkadaşlarının (1988) bildirdiği yöntemle yapılmıştır. Süt örnekleri, süt ve krema kısmının tamamen karışması için homojenize edilmiştir. Deney tüplerine 5 ml örneklerden konuldu ve üzerine 0,03ml (30 mikrolitre) *Brucella* MRT antijeninden damlatıldı. Tüpler 2-3 defa çalkalanarak süt ve antijenin karışması sağlanmıştır. Bir kaç defa çalkalanan tüpler 37°C de 1 saat inkübasyona bırakılarak süt ve krema tabakasının renklerinin karşılaştırılması ile pozitif ve negatif örnekler tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; krema halkası koyu mavi, sütün rengi beyaz ise örnekler pozitif, krema halkası beyaz sütün rengi mavi ise örnekler negatif olarak kabul edilmiştir.



Resim 4.10. Milk ring test sonuçlarının değerlendirilmesi

4.2.2. Süt Serumunun Çıkarılması

Süt örneği 5 ml'lik cam vial kapaklı tüplere konularak, üzerine 0.03 ml (30 mikrolitre) peynir mayası ilave edilmiş ve 37°C' lik su banyosunda 20 dk. pıhtının oluşması beklenilmiştir. Ayrıca serumun daha iyi çıkarılması için oluşan pıhtı oda ısısında 80 dk. bekletilerek, süt serumu süzgeç kağıdı ile eppendorf tüplere konulmuş süzüntü 300 rpm'de 5 dk sentrifüj edilmiştir. Sütten elde edilen serumlar Rose Bengal test antijenine tabi tutulmuştur.



Resim 4.11. Örneklerden süt serumunun elde edilmesi



Resim 4.12. Süt serum örneklerinin santrifüj işlemi

4.2.3. Rose Bengal Testi (RBT)

Rose Bengal Test Antijeni: *B.abortus* S99 suşundan hazırlanmış, standart *Brucella* antiserumu ile standardize edilmiş ve Rose-Bengal ile boyanmış olan antijen; Vet-Vac marka ticari *Brucella* Rose Bengal Plate Test Antijeni kullanılmıştır.

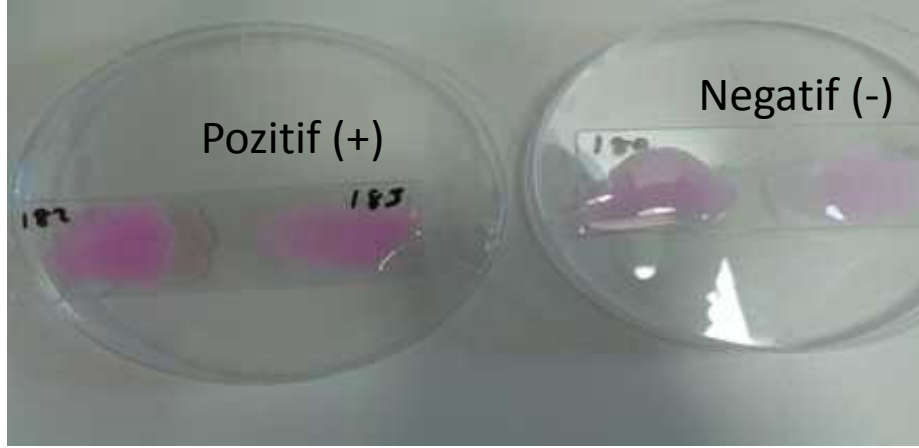
Ön hazırlık

- ✓ Antijen kullanıma başlamadan önce 15 dakika oda sıcaklığında tutuldu ve iyice çalkalandı.
- ✓ Temiz lam ve kürdan temin edildi.

Testin uygulanışı

- ✓ Temiz lam üzerine 0.05 ml süt serumu damlatıldı.
- ✓ Bunun üzerine 0.05 ml Rose Bengal Lam Testi antijeni eklendi.
- ✓ Antijen ve süt serumu kürdan ile karıştırılarak 1.5 cm çaplı alana yayıldı.
- ✓ Lam elde çevirmeli hareketler yapılarak 2 dakika çevrildi.
- ✓ Sonuçta; iri tanecikli kümeleşme oluşumu pozitif, homojen görünüm ise negatif aglütinasyon olarak değerlendirildi.

Rose Bengal testinde yani teşhis kartı testinde pozitif çıkan örnekler Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Testine (STA) tabi tutuldu. Bunun amacı ise sonuçlarımızın daha güvenli ve kesin olarak belirlenmesidir.



Resim 4.13. Rose Bengal testine göre (+) ve (-) sonuç veren örneklerin görüntüsü

4.2.4. Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Testi (STA)

Teşhis kartında yani Rose Bengal testinde pozitif çıkan örnekler Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon testine tabi tutulmuş ve bunun için, Vet-Vac marka ticari *Brucella* tüp aglütinasyon antijeni kullanılmıştır.

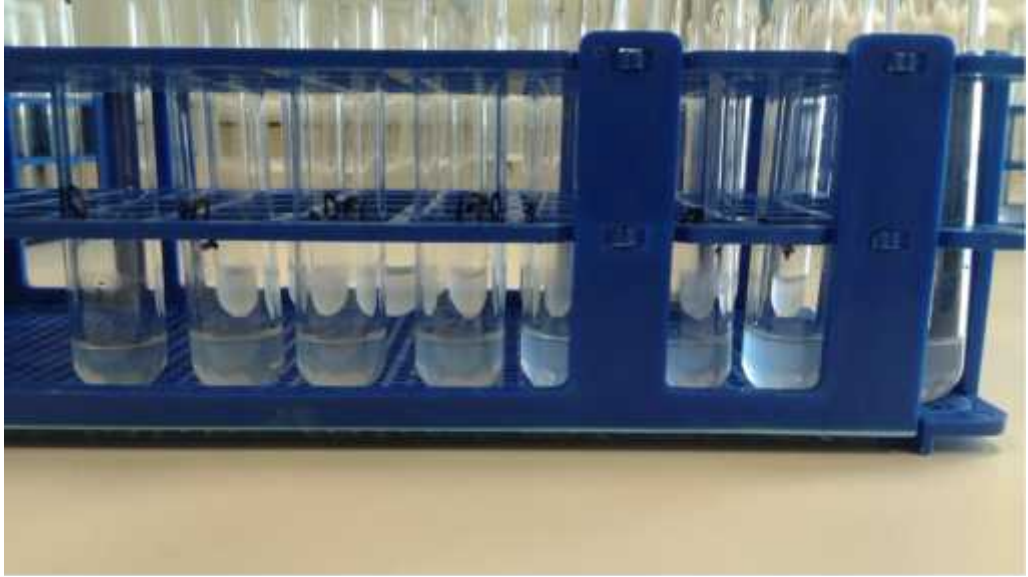
Ön hazırlık

- ✓ Standart *Brucella* Antijeni kullanılmaya başlamadan 15 dakika önce oda sıcaklığına getirildi ve iyice çalkalandı.
- ✓ Serum sulandırımı için 8 adet temiz cam tüp hazırlandı.
- ✓ 1ml ve 5ml'lik steril pipetler hazırlandı.
- ✓ Fizyolojik tuzlu su (% 0.9) hazırlandı.

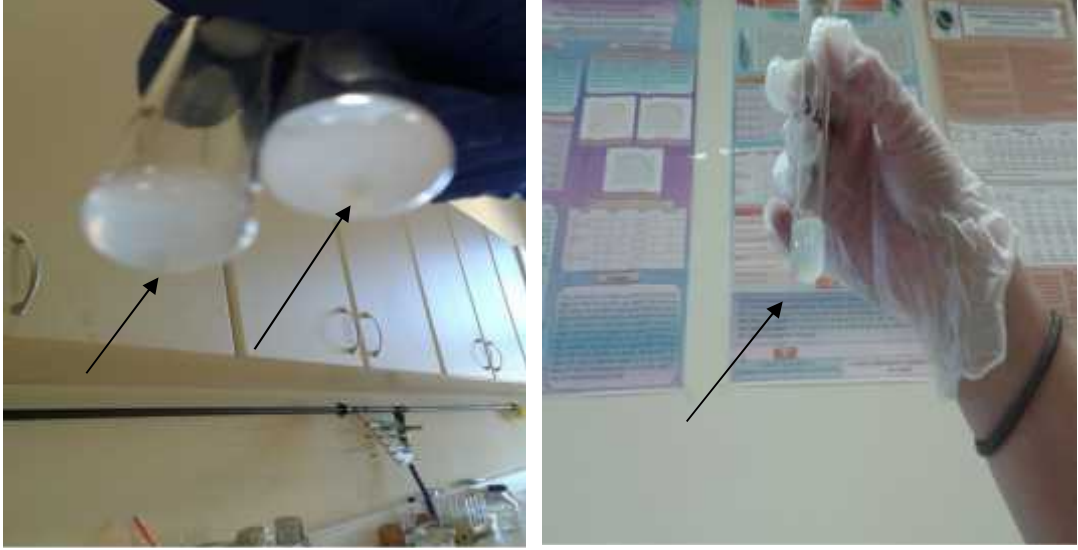
Testin uygulanışı

- ✓ Her serum için 8 adet serolojik tüp ile çalışıldı.
- ✓ İlk tüpe 0.9 ml, diğerlerine 0.5 ml fizyolojik tuzlu su konuldu.

- ✓ İlk tüpe 0.1 ml pozitif çıkan süt serumu eklendi ve karıştırıldı. Birinci tüpten 0.5ml ikinci tüpe ve 2. tüpten 0.5 ml 3. tüpe aktarıldı. Bu işleme 8. tüpe kadar devam edildi ve 8.tüpten 0.5 ml alınıp dışarı atıldı.
- ✓ Tüplerde serum dilüsyonları 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 oldu.
- ✓ Tüm tüplerin üzerine 0.5ml Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Antijeni eklendi. Böylece son serum sulandırılmaları 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 oldu.
- ✓ Tüpler karıştırılarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyonu takiben tüpteki sıvının berraklaşması, aglütinasyonun tüpün dibinde yaygın bir şekilde görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi.
- ✓ En son aglütinasyon görülen tüpün titresini pozitif değer olarak kabul edildi. Pozitif olarak değerlendirilen tüplerin titreleri 1/40 ve üzerinde olanlardır.



Resim 4.14.Standart tüp aglütinasyon test sonuçları sonrası görüntüleri



Resim 4.15.Standart tüp aglütinasyon testi titre sonuçları sonrası görüntüleri

Sonuçlarımızın daha güvenli olması için Milk Ring testi (MRT) ve Standart Tüp Aglütinasyonun testin de sonuçları çelişen örneklerimizin *Brucella* Agar besiyerine ekimi yapılmıştır.

4.2.5. *Brucella* Agar Besiyerine Ekim

Daha önce aseptik şartlarda steril petrielerde hazırlanmış olan *Brucella* Agar'lı plaklara; şüpheli ve çelişkili olan süt örneklerinden özellikle Milk Ring (MRT) , Rose Bengal (RBT) ve Standart Tüp Aglütinasyon (STA) testleri sonucunda birbirleriyle uyumlu olmayan numunelerden daha emin olmak için ekim yapılmıştır.

Besiyerine ekimi yapılan örnekler etüvde 37°C' de inkübe edilmiştir. Beşinci günün sonunda etüvden çıkarılan besiyerleri incelenmiştir. Ekim yapılan plaklarda *Brucella* bakterisinin üremesi genellikle üçüncü günden sonra başlar ve maksimal gelişme 5-7 günde tamamlanır. Bu süre sonrasında sonuçlar değerlendirilmiştir.



Resim 4.16. *Brucella* kolonilerinin besiyerindeki görüntüleri

Çalışmamız sırasında laboratuvarında uygulanan tüm işlemler aşağıda özetlenmiştir:



Süt örneklerinin tamamına MRT uygulaması



MRT'si pozitif olan numunelerden Brucella Agar 'a ekim



Brucella agarda üreme gösteren koloniler

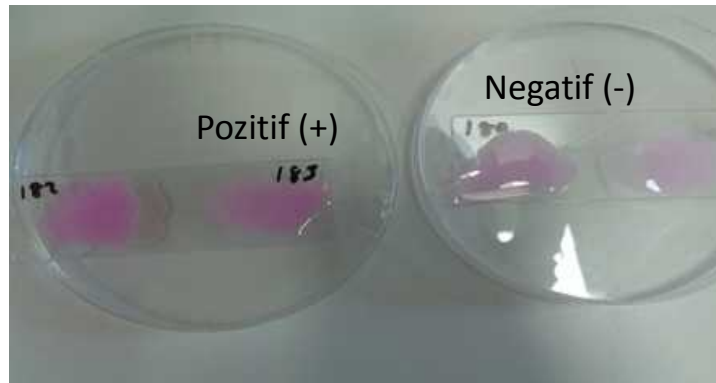




Örneklerden süt serumunun çıkarılması



Süt serumlarının santrifüj işlemi ve sonucu



Süt serumlarına Rose Bengal testinin uygulanması





Standart tüp aglütinasyon testinin uygulanması



STA testi sonrası ekim yapılması



MRT/STA

KARŞILAŞTIRILMASI



SONUÇ : % 17,32 ŞÜPHELİ (35 ADET)

5.BULGULAR

Bu çalışmada; 2016 yılı Mart ile Eylül ayları arasında, Kırşehir il merkezi ile merkez dışındaki mahalleler ve merkeze bağlı 14 farklı köyden toplanan 202 inek sütü örneğinde *B. abortus* varlığı araştırılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen bütün örnekler Milk Ring testi (MRT) uygulanmıştır. Tablo 5.1.'deki verilere göre; 202 adet süt örneğinin Milk Ring testi sonucunda 69 adedi (% 34.15) pozitif olarak gözlemlenmiştir. Geriye kalan 133 örneğimiz (% 65.85) ise negatif sonuç vermiştir.

Tablo 5.1.Süt Örneklerinin Milk Ring Testi Sonuçları

MRT SONUÇLARI	
POZİTİF	69 ADET (% 34.15)
NEGATİF	133 ADET (% 65.85)

Çalışmaya dahil edilen bütün örnekler MRT'den sonra Rose Bengal testi (RBT) uygulanmıştır. MRT ile negatif çıkan 133 örneğin RBT ile 2 adedi pozitif bulunmuştur. MRT ile pozitif çıkan 69 örneğin ise RBT'de 36 tanesi pozitif olarak belirlenirken, 33 tanesi negatif olarak tespit edilmiştir. Buna göre 202 süt örneğinin 38 tanesinin (% 18.81) RBT sonucu pozitif olarak bulunmuştur.

Rose Bengal testine (RBT) göre pozitif sonuç veren örneklerde Standart *Brucella* Tüp Agglütinasyon Testi (STA) çalışılmıştır. RBT pozitif olan toplam 38 süt serum örneğinin 3 tanesinin Standart *Brucella* Tüp Agglütinasyonu testinde titresi 1/40 ve altında çıktığı için negatif kabul edilirken, 1/40 ve üzeri olan örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. Tablo.5.2. incelendiğinde; 35 örneğin 25 tanesinin titresi 1/40

çıkarken,10 tanesininde titresi 1/60 olarak belirlenmiştir. Milk Ring testinde pozitif çıkıp Rose Bengal testinde negatif çıkan ya da bu durumun tam tersinden şüphelenilen 22 örnekte ise Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Testi çalışılmıştır. Fakat 22 örneğin,11 tanesinin titresi 1/20’de kalır iken 11 tanesinin titresi de 1/10 olarak belirlenmiştir.

Tablo 5.2.Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Testi Titre Sonuçları

STA TİTRESİ	SAYI	%
1/10	11	19.29
1/20	11	19.29
1/40	25	43.85
1/60	10	17.54
TOPLAM	57	100

Çalışmamızda Milk Ring testi (MRT), Rose Bengal testi (RBT) ve Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon testi (STA) yani 3 serolojik testin bir tanesinde pozitif sonuç veren örneklerin besiyerine ekimi yapılmıştır. Bu bağlamda toplam olarak 202 süt örneğinin 74 adedinin (% 36.63) besiyerine ekimi yapılmıştır. Ekim sonucunda bu süt örneklerinin 35 adedi (% 47.29) iyi bir şekilde üreme gösterirken, geriye kalan 39 adet süt örneğinin (% 53.71) besiyerine ekim sonucu negatif olarak gözlemlenmiştir. Bu numunelerde *Brucella* cinsi bakterilerin olabileceği düşünülmüştür. Besiyeri ekim sonuçlarımız STA sonuçları ile orantılı olarak çıkmıştır. Bundan dolayı STA ve besiyeri ekiminin birbiriyle uyumlu olduğu da tespit edilmiştir.

Yapılan testler Tablo 5.3.’de incelendiğinde; 202 süt örneğimizin MRT, RBT ve STA sonuçları karşılaştırılmış, bu testlerden herhangi birinde pozitif sonuç veren örneklerin besiyerine ekimi yapılmış, üreme olan ve diğer testlerle orantılı çıkan özellikle STA testiyle uyumlu olan örneklerimiz genel değerlendirmede şüpheli olarak belirtilmiştir. Buna göre 202 süt örneğinin 35 adedi (% 17.32) şüpheli olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 5.3. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları

Örnek No	Merkez/Mahalle/Köy İsimleri	MRT	RBT	STA	Üreme	GENEL SONUÇLAR
1	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
2	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
3	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
4	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
5	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
6	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
7	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
8	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
9	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
10	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
11	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
12	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
13	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
14	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
15	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
16	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
17	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
18	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
19	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
20	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
21	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
22	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
23	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
24	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
25	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
26	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
27	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
28	Kırşehir-Merkez	-	+	+	+	±
29	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
30	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-

Tablo 5.4. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı)

31	Kırşehir-Merkez	-	+	+	+	±
32	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
33	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
34	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
35	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
36	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
37	Kırşehir-Merkez	-	+	+	+	±
38	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
39	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
40	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
41	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
42	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
43	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
44	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
45	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
46	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
47	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
48	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
49	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
50	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
51	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
52	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
53	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
54	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
55	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
56	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
57	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
58	Kırşehir-Merkez	+	+	+	+	±
59	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
60	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-

Tablo 5.5. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı)

61	Kırşehir-Merkez	-	-	-	-	-
62	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
63	Kırşehir-Merkez	-	-		-	-
64	Kırşehir-Merkez	+	-	-	-	-
65	Sıdıklı köyü	-	-	-	-	-
66	Sıdıklı köyü	-	-	-	-	
67	Sıdıklı köyü	-	-	-	-	-
68	Sıdıklı köyü	-	-	-	-	-
69	Uzunali köyü	+	+	+	+	±
70	Uzunali köyü	+	+	-	-	-
71	Uzunali köyü	-	-	-	-	-
72	Uzunali köyü	-	-	-	-	-
73	Uzunali köyü	+	-	-	-	-
74	Uzunali köyü	+	+	+	+	±
75	Toklumen köyü	-	-	-	-	-
76	Toklumen köyü	-	-	-	-	-
77	Toklumen köyü	-	-	-	-	-
78	Toklumen köyü	-	-	-	-	-
79	Toklumen köyü	+	+	+	+	±
80	Toklumen köyü	+	-	-	-	-
81	Karaduraklı köyü	-	-	-	-	-
82	Karaduraklı köyü	-	-	-	-	-
83	Karaduraklı köyü	-	-	-	-	-
84	Karaduraklı köyü	-	-	-	-	-
85	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
86	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
87	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
88	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
89	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
90	Taburoğlu köyü	+	-	-	-	-

Tablo 5.6. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı)

91	Taburoğlu köyü	+	+	+	+	±
92	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
93	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
94	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
95	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
96	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
97	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
98	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
99	Kumarkaç köyü	-	-	-	-	-
100	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
101	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
102	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
103	Taburoğlu köyü	-	-	-	-	-
104	Taburoğlu köyü	+	+	+	+	±
105	Sevdiğin köyü	+	+	+	+	±
106	Sevdiğin köyü	+	-	-	-	-
107	Sevdiğin köyü	-	-	-	-	-
108	Sevdiğin köyü	-	-	-	-	-
109	Sevdiğin köyü	-	-	-	-	-
110	Sevdiğin köyü	-	-	-	-	-
111	Yeşilli köyü	-	-	-	-	-
112	Yeşilli köyü	-	-	-	-	-
113	Yeşilli köyü	-	-	-	-	-
114	Yeşilli köyü	+	+	+	+	±
115	Yeşilli köyü	+	+	+	+	±
116	Yeşilli köyü	-	-	-	-	-
117	Kumarkaç köyü	-	-	-	-	-
118	Kumarkaç köyü	+	+	+	+	±
119	Kumarkaç köyü	-	-	-	-	-
120	Kumarkaç köyü	-	-	-	-	-

Tablo 5.7. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı)

121	Çayağzı köyü	-	-	-	-	-
122	Çayağzı köyü	-	-	-	-	-
123	Çuğun köyü	-	-	-	-	-
124	Çuğun köyü	-	-	-	-	-
125	Çuğun köyü	-	-	-	-	-
126	Çuğun köyü	-	-	-	-	-
127	Çuğun köyü	+	+	-	-	-
128	Çuğun köyü	+	+	+	+	±
129	Çuğun köyü	+	-	-	-	-
130	Çuğun köyü	-	-	-	-	-
131	Çuğun köyü	-	-	-	-	-
132	Çuğun köyü	-	-	-	-	-
133	Tosunburnu köyü	-	-	-	-	-
134	Tosunburnu köyü	+	+	+	+	±
135	Dulkadirli köyü	-	-	-	-	-
136	Dulkadirli köyü	+	-	-	-	-
137	Dulkadirli köyü	+	-	-	-	-
138	Dulkadirli köyü	+	+	+	+	±
139	Dulkadirli köyü	+	-	-	-	-
140	Dulkadirli köyü	-	-	-	-	-
141	Dulkadirli köyü	-	-	-	-	-
142	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
143	Hamurluüçler köyü	+	+	-	-	-
144	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
145	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
146	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
147	Hamurluüçler köyü	+	+	+	+	±
148	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
149	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
150	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-

Tablo 5.8. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı)

151	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
152	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
153	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
154	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
155	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
156	Hamurluüçler köyü	-	-	-	-	-
157	Hashüyük köyü	-	-	-	-	-
158	Hashüyük köyü	-	-	-	-	-
159	Hashüyük köyü	-	-	-	-	-
160	Hashüyük köyü	+	+	+	+	±
161	Hashüyük köyü	+	+	+	+	±
162	Hashüyük köyü	+	-	-	-	-
163	Hashüyük köyü	-	-	-	-	-
164	Hashüyük köyü	-	-	-	-	-
165	Hashüyük köyü	-	-	-	-	-
166	Hashüyük köyü	-	-	-	-	-
167	Merkez-Beşevler mah.	+	+	+	+	±
168	Merkez-Beşevler mah.	-	-	-	-	-
169	Merkez-Beşevler mah.	-	-	-	-	-
170	Merkez-Beşevler mah.	+	+	+	+	±
171	Merkez-Beşevler mah.	+	+	+	+	±
172	Merkez-Beşevler mah.	-	-	-	-	-
173	Merkez-Beşevler mah.	-	-	-	-	-
174	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
175	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
176	Merkez-Kındam mah.	+	+	+	+	±
177	Merkez-Kındam mah.	-	+	-	-	-
178	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
179	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
180	Merkez-Kındam mah.	+	-	-	-	-

Tablo 5.9. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel Değerlendirme Bulguları (Devamı)

181	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
182	Merkez-Kındam mah.	+	+	+	+	±
183	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
184	Merkez-Kındam mah.	+	-	-	-	-
185	Merkez-Kındam mah.	+	-	-	-	-
186	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
187	Merkez-Kındam mah.	+	-	-	-	-
188	Merkez-Kındam mah.	-	-	-	-	-
189	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
190	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
191	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
192	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
193	Merkez-Göhlhisar mah.	+	+	+	+	±
194	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
195	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
196	Merkez-Göhlhisar mah.	+	-	-	-	-
197	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
198	Merkez-Göhlhisar mah.	+	+	+	+	±
199	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
200	Merkez-Göhlhisar mah.	+	+	+	+	±
201	Merkez-Göhlhisar mah.	-	-	-	-	-
202	Merkez-Göhlhisar mah.	+	+	+	+	±

+ Pozitif, **-** Negatif, **±** Şüpheli, olduğunu göstermektedir.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Brusellozis; insan ve hayvan sağlığını etkileyen, hem dünyada hem de ülkemizde enfeksiyöz hastalık olarak önemini sürdürmekte olan zoonotik bir hastalıktır. İnekler de; yavru atımı, kısırlık ve süt veriminde azalmaya sebep olması nedeniyle büyük ekonomik kayıplara yol açan bu hastalığın insanlara da bulaşarak halk sağlığı açısından tehlike oluşturduğu bilinmektedir (Adıgüzel, 2001).

Son yıllarda yürütölen birçok proje ile; geleneksel tanılayıcı metodların standardizasyonu veya yeni metodların uygulanması yoluyla brusellozis prevalansını azaltmayı hedeflemektedir. Bu kapsamda endemik bölgelerde brusellozisi kontrol altına almak için yapılan epidemiyolojik araştırmalar giderek önem kazanmaktadır. Yeni endemik bölgelerin tanılanması ve ulusal sınırların ötesinde sıkı yok etme programlarının uygulanması gerekmektedir. Çünkü araştırmalar yakın gelecekte hastalıkla ilgili ciddi bir artışın muhtemel olduğunu ve problemin büyüklüğünün de öne çıktığını yapılan istatistiklerde göstermektedir (Rupesh, 2003; Baddour and Alkhalifa, 2007; Cutler, 2006; Arasoğlu, 2010).

Özellikle insan brusellozisindeki son yıllardaki artışın bazı ölkelerde hastalığın epidemiyolojisindeki değışikliklerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu bilgiler ışığında yok etme programları birçok ölkede başlatılmakta olup, ancak başarı oranı istenilen ölçüde olamamıştır. Bu programlarda; dış etkenlere açık olan hayvanların aşılması, enfekte çiftlik hayvanların tespiti için araştırmaların yapılması, müteakip aşamada kesim, enfeksiyon tespiti yapılan bölgelerde hareket alanlarının sınırlandırılması önemli basamakları oluşturur. Bu aşamaların kombinasyonu hastalıktan tamamen bağımsız yürütölmelidir, ancak başarı ihtimali, büyük ölçüde birçok farklı grubun uyumlu çalışmasıyla bağlantılıdır (çiftçiler, ithalat, ihracat, veteriner hekimler, halk sağlığı çalışanları, bilim adamları ve hükümet). Bu sağlanamadığı takdirde başarı şansı istenilen oranda olamayacaktır (Cutler, 2006, Arasoğlu, 2010).

Gelişmiş ölkelerde bile tam olarak yok edilemediğı, fakat çok düşük düzeylere çekildiğı göz önüne alınırsa, ülkemizde Brusellozis etmeninin çeşitli kaynaklardan izolasyonu, teşhisi ve görölme sıklığı üzerindeki çalışmaların arttırılmasının gereğı

ortaya çıkacaktır. Brusellozis hastalığının yok edilebilmesi ancak birçok unsuru içeren koordineli bir çalışma sonucu başarılabilir. Çalışmanın en önemli bölümünü hayvan hareketlerinin kontrolü ve münferit bir hasta hayvanın hemen belirlenmesi oluşturur. Bu programların başarıyla uygulanabilmesi her şeyden önce enfeksiyonun teşhisine bağlıdır. Enfeksiyonun teşhisinde etmenin izolasyon ve tanısı önemli olmasına karşın, materyal teminindeki güçlükler, etmen izolasyonunun zaman alıcı ve zor oluşu, dolaylı yöntemlerin daha fazla kullanılmasına yol açmıştır. Brusellozis teşhisinde çabuk, pratik ve kısa sürede çok sayıda materyalin çalışılmasına olanak sağlayan serolojik yöntemler; Serum Aglutinasyon Testi (SAT), Kompleman Fiksasyon Testi (CFT), Rivanol Testi (RT), Milk Ring Testi (MRT), Rose-Bengal Testi (RBT) ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) olarak sıralanabilir (Thoen, 1979; Heck, 1980; Güllüce, 1993).

Brusellozisin tanısı, yok etme programlarının köşe taşıdır ve günümüzde bakteriyolojik ve serolojik tekniklere dayanmaktadır. Serolojik testler hastalığın indirekt tanısı için önerilen bir metoddur. Testler hem kısa sürede sonuç alınabildiği hem de uygun maliyetle temin edilebildiği için *Brucella* araştırmaların da çok tercih edilmektedir. Gerek hastanelerde kan serum örneklerinde, gerekse laboratuvar araştırmalarında incelenen süt ve süt ürünleri örneklerinde öncelikli testlerdir. Ancak tek bir serolojik teste göre sonuç değerlendirilmemektedir. Sonucun daha güvenilir ve daha sağlıklı olması için birkaç test yapılır. Testlerde pozitif çıkan örneklerin sağlamasını yapmak amacıyla ve serolojik testlerde birbirini tutmayan çelişkiye düşülen yada şüphelenilen örneklerle besiyeri ekimi yapılması sonuçların daha güvenilir olmasını sağlayabilmektedir (Önay, 2009; Arasoğlu, 2010).

Bu patojenin laboratuvar tanısında, serolojik testlerin gerekli olduğu kabul edilmektedir. Kan kültürleriyle yapılan tespit; tanı konulma prosesinin oldukça uzun olması, örneklerdeki canlı *Brucella* miktarının düşük olması ve üretilmesinde yaşanan zorluklar, aerosolle bulaşma nedeniyle birçok laboratuvar personelinin tehlike altında olması gibi sebeplerden dolayı rutin laboratuvar araştırmalarında zorluklar yaşandığı için Özgül laboratuvar çalışmalarında tercih edilmektedir (Leal-Klezevas, 2000; Gupta, 2006; Bounadja, 2009; Arasoğlu, 2010).

Son yıllarda özellikle süt ve süt ürünlerinde *Brucella* antijen ve antikorlarının teşhisinde en çok kullanılan testler MRT ve ELISA' dır. MRT'de rol oynayan aglütininler, yağ globulinlerine bağlanmış glikoprotein yapısında olup, ısıya ve çalkalanmaya duyarlıdırlar. Bu yüzden MRT'de elde edilen yalancı pozitiflik ve negatifliğin en önemli nedeni kaymak tabakasında meydana gelen değişikliktir. Çok az krema içeren ve hücre sayısı fazla olan donmuş, kaynatılmış, pastörize edilmiş veya ekşimiş sütler MRT için uygun değildir. Esas olarak meme bezlerinde meydana gelen meme enfeksiyonu sonucu oluşan IgA antikorları, MRT oluşumunda daha aktiftir. IgG, özellikle IgG₁ yağ globulinlerine karşı daha az afiniteye sahiptir. MRT ile diğer serolojik testlerde aynı antikor grupları etkin olmadığından, MRT ile bazı serolojik testlerin uyumsuzluğu bildirilmiştir (Serttaş, 2006).

Bu yüzden sadece Milk Ring testi (MRT) sonucuna göre örnekler değerlendirilemez. MRT'den başka birkaç test daha numunelere uygulanmaktadır. Örneğin; Rose Bengal testi (RBT) ve Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon testi (STA) sonuçları karşılaştırılarak çelişkiye düşülen veya sonuçları birbiriyle uyumlu olmayan şüphelenilen örneklerin de *Brucella* Agar besiyerine ekimi yapılmaktadır.

Kırşehir ilinde yapılan bu çalışmada sadece kaynatılmamış inek sütü kullanılmıştır. Konakçısı inek olan *B. abortus* aranmıştır. Bunun sebebi ise İç Anadolu bölgesinde büyükbaş hayvancılığın, küçükbaş hayvancılığa göre daha fazla olmasıdır.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde; kaynatılmamış inek sütünde *B. abortus*'un bulunma yüzdesinin, kaynatılmamış koyun ve keçi sütünden daha düşük olduğu bildirilmektedir. Bu yüzden konakçısı koyun ve keçi olan yani küçükbaş hayvanlarda bulunan *B. melitensis* insan sağlığı açısından daha tehlikelidir. Bunun nedeninin de koyun ve keçi sütlerinin fiziko-kimyasal açıdan daha yoğun olması ve *Brucella* bakterisinin uzun süre yaşamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kaynatılmamış inek sütlerin de bulunan bruselloz büyük ölçüde yok edilmiş olmasına karşın, koyun ve keçi sütlerindeki brusellozun başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir şekilde devam ettiği bilinmektedir. Kırşehir ilinde yapılan bu çalışmada 202 kaynatılmamış süt örneğinin 69 adedinin Milk Ring

Testi'nin sonucu pozitif bulunmuştur. Böylece 202 kaynatılmamış inek sütü örneklerimizin % 34.15'i MRT sonucu pozitif olarak gözlemlenmiştir (Tablo 4.1.)

Milk Ring Testi (MRT) ile diğer yapılan serolojik testlerin sonuçlarının uyumlu olmaması, *Brucella* Agar'da üremenin az olması ve yüzdeliğin düşmesinin MRT sonuçlarının yalancı pozitif reaksiyonlar verebildiği başka çalışmalarda da (Serttaş, 2006; Arasoğlu, 2010; Rüstemoğlu, 2011) değinilmiştir.

Benzer bir çalışmada; Güllüce ve Leloğlu (1996), Kars bölgesinden topladıkları 712 inek sütü örneğinin 401'inde Milk Ring Testi ile % 57.32 oranında *B. abortus* antikorunu pozitif bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada ise; Uraz ve Yücel (1998), 211 kaynatılmamış süt örneğinde yaptıkları çalışmada Milk Ring Testi sonucu örneklerin 32'sinde % 16.17 oranında *Brucella* antikorunu pozitif olarak bulmuşlardır.

Yine Alpar ve Tunus (1967), Ankara ve civarından temin ettikleri 31 inek sütü ve 9 karışık süt örneği olmak üzere toplam 40 örnekte MRT ile % 8.8 oranında *Brucella* antikorunu tespit etmişlerdir. Abbasoğlu (1988), ise Ankara'nın farklı semtlerinden temin ettiği 32 adet çiğ süt ve 100 adet pastörize şişe ve paket süt örneğinde yaptığı çalışmada pastörize şişe ve paket sütlerde *Brucella* antikorunu bulamazken 32 adet kaynatılmamış süt örneğinden bir tanesinde MRT ile *Brucella* antikorunu izole etmiştir.

Başka bir çalışmada ise; Kenar ve Altındış (2001), Afyon bölgesinden topladıkları 120 süt örneğinde yaptıkları Aglütinasyon testi ve Milk Ring testi sonucunda 6 örnekte % 5 oranında *Brucella* antikorunu bulmuşlardır. Bizim elde ettiğimiz oran Güllüce ve Leloğlu (1996) tarafından yapılan çalışmada elde edilen orandan daha düşük, diğer çalışmalarda bildirilen oranlardan ise yüksek bulunmuştur. Bunun sebebinin ise bölgelere göre hayvanlarda *Brucella* görülme sıklığının ve aşılama oranlarının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Tablo 4.3.). Çünkü hem ülkemizde bu konu üzerinde yapılan araştırma sayısı hem de çalışmalarda kullanılan örnek sayısı ile örneklerin sadece belli bir bölgeye ait olması, böyle bir genelleme yapabilmemizi zorlaştırmaktadır.

Ülkemizde brusellozis ile mücadele konusunda yapılan çalışmalar küçümsenmeyecek boyuttadır. Nitekim 1984 yılında brusellozis kontrolü ve yok etme programı başlatılmış ve bu proje kapsamında 2010 yılına kadar 4-8 aylık bütün

dişi buzağuların *B. abortus* S19 ile koyun ve kuzuların ise *B. melitensis* REV I ile aşılması hedeflenmiştir. Projenin uygulanmaya geçirilmesini takip eden 1989 yılında sığır ve koyun brusellozis sero-prevalansı sırasıyla % 3,56 ve % 1,26 iken bu oranlar 1991 yılında % 1,01 ve % 1,83 olarak değişmiştir. Ancak projenin yürütüldüğü yıllarda insan brusellozis vakalarında bir artış kaydedildiği görülmüştür. 1986'da 100.000'de 3,03 olan insan brusellozis sıklığı, 1996'da 100.000'de 15,11'e yükselmiştir (Altındış, 2001; Önay, 2009).

Yapılan çalışmalar sonucunda araştırmacılar; enfeksiyona yakalanma vakalarındaki artıştan ziyade, tarama çalışmalarının kalitesinin ve sayısının artmasına bağlı olduğunu belirtmektedirler. Bu nedenlerle, ister hayvanlar üzerinde, isterse gıdalar üzerinde yapılmış olsun, araştırmalardan elde edilen bulguların doğrudan karşılaştırılması, ancak çalışmaların yapıldığı ülkelerdeki tarama sayıları ve kaliteleri dikkate alındığında bir anlam ifade edecektir. Sonuç olarak; yapılması gereken en doğru şey, ülkemizdeki bu tür çalışmaların sayı ve kalitesini arttırmaktır. Bu çalışma bir insidans çalışması olmamakla birlikte, alınan numune, köy ve hayvan sayılarının % 5'i ile % 10'u oranında olmasına dikkat edilmiştir. Numuneler belirli merkezlerden alınmış olmasına rağmen, yerleşim birimleri açısından test sonuçları oranı biraz yüksek bulunmuştur. Bu durumun nedeni olarak da hayvan sahiplerinin *Brucella* hakkında yeterli bilgilere sahip olmaması, hayvanların *Brucella*'ya karşı aşılanmamış olması, hasta hayvanların mezbahaya gönderilerek kesim yapılması ve bu konuda yeterli bilinçte olunmaması, gerek hayvan sahibi ve ailesi gerekse de mezbahadaki kişilerin duyarsızlığından dolayı test sonuçlarının diğer bölgelere ve gelişmiş ülkelere göre yüksek çıktığı düşünülmektedir.

Bölgelere göre farklılığın başka sebebi olarakta şunlarda gösterilebilir;

- Örnek toplama işlemleri esnasında hayvan sahiplerinin hastalık ve bu hastalığa ait aşılama hakkında yeterli bilgiye sahip olmamaları sebebiyle yeterli anamnezin (hasta öyküsü) yapılamamış olması, hayvanların *Brucella* aşısıyla aşılanmış olabilme ihtimalini düşündürmektedir. Çünkü hayvan sahipleri hayvanların aşılandığını ancak ne amaçla ve hangi çeşit aşıyla aşılandıklarını bilmemektedirler.

- Aynı hayvanlardan belirli aralıklarla süt örneği alınmamış olması izolasyon yapılamamasının diğer bir ihtimali de olabilir. Çünkü etkenin sütte her zaman bulunmadığı, aralıklı olarak çıktığı birçok kaynaktan görülmektedir (Rüstemoğlu, 2011).

Sonuç olarak; Avrupa ülkelerinde *B. abortus* 1999'lu yıllardan sonra çok çalışılmamaktadır. Çünkü bu ülkelerde *B. abortus* yok etme çalışmaları çok ilerlemiş ve vatandaşlar bu konuda bilinçlilik kazanmışlardır. Ancak Avrupa ülkelerinde diğer *Brucella* cinsleri çalışılmaktadır. Koyun sütünün hem fiziko-kimyasal yoğunluğu hemde yok etme çalışması daha zor ve uğraştırıcı olduğu için *B. melitensis* daha fazla çalışılmaktadır. Konakçısı koyun ve keçi olan *B. melitensis*, *B. abortus*'a göre daha tehlikeli ve yok edilmesi güç olan bir *Brucella* çeşitidir (Rüstemoğlu, 2011).

Avrupa ülkelerindeki çalışmalar *B. melitensis*'in yanında *B. suis* ve *B. canis* türleri üzerine yoğunlaşmıştır. Çünkü *B. suis*'in konakçısı domuzdur, bu hayvanların et ve ürünlerinin tüketiminin fazla olması, domuz çiftliklerinin çok olması yine bunların sekresyonlarından, plasentalarından ve kanlarından insanlara özellikle de çiftliklerde çalışanlara, veteriner hekimlere dolaylı olarak yayılmış olmaktadır. *B. canis*'in konakçısı ise köpektir; bu ülkelerde köpeklerin evin içinde beslenmesi ve barındırılması yaygındır. Bu yüzden *B. canis* tarama çalışmaları da daha fazla yapılmakta, yok etme programları hızlı bir şekilde sürmekte ve bu ülkelerde mutidisipliner şekilde yürütülmektedir (Önay, 2009; Rüstemoğlu, 2011).

Bizim ülkemizde, gelişmekte olan veya gelişmemiş ülkelerde durum daha farklıdır. *B. abortus* çalışmaları diğer *Brucella* çeşitlerine göre daha fazla yapılmaktadır. Çünkü *B. abortus*'un konakçısı inek, sığır, manda gibi büyükbaş hayvanlardır. Ülkemizde bazı bölgelerde özellikle büyükbaş hayvan yetiştiriciliği daha fazla ve bunlardan elde edilen süt ve süt ürünlerinin tüketimi de daha çok olmaktadır. Bu yüzden *Brucella*'yı yok etme çalışmaları daha fazla yapılmaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığında; 1990'lı yıllara göre günümüzdeki çalışmalar daha fazla, daha donanımlı laboratuvar şartlarında, teknolojik gelişmelerden faydalanılarak yapılmaktadır. *B. abortus*'u yok etme çalışmaları hızla sürmekte bu konuda vatandaşlar *Brucella*'nın ciddiyetini anlayarak hassasiyet göstermektedirler. Bu bağlamda aşılama çalışmaları yaygınlaşmış, bruselloz olmuş hayvanları sürüden

ayırma, veteriner hekimi bilgilendirme oranı artmıştır (Serttaş, 2006; Rüstemoğlu, 2011).

Kırsal kesimlerde özellikle köylerde bu bilinç tam olarak oturmamıştır ancak bu konuda çalışmalar devam etmektedir. *B. melitensis* *B. abortus*'a göre daha tehlikeli olmasına rağmen *B. abortus* çalışmaları daha fazladır. *B. melitensis*'in yok edilmesinin zorluğunun yanı sıra, koyun ve keçi sütünün az olması gerekse de pahalı olması nedeniyle inek sütüne oranla daha az tüketilmektedir. Bundan dolayı yapılan çalışmaların yoğunluğu genelde *B. abortus*'u yok etmeye yöneliktir (Cutler, 2006; Arasoğlu, 2010).

Ülkemizin her ilinde *Brucella* yok etme çalışmaları sürmekte özellikle de bazı illerde Tablo 5.1.'de görüldüğü üzere prevalansının yüksek olduğu gözlenmekte çalışmalara ise buralarda daha yoğun olarak devam edilmektedir. Gerek büyükbaş hayvan çiftliklerinin yaygın olması gerekse bu hayvanlardan üretilen süt ve süt ürünlerinin çok fazla tüketilmesi bunun yanı sıra insanların ticari amaçlarla onlarla daha çok ilgilenmesi ve daha fazla vakit geçirmesinden dolayı brusellozis olma riskini arttırmaktadır.

Tablo 5.1.'de görüldüğü üzere Kırşehir ili *B. abortus*'un fazla olduğu iller arasında yer almaktadır. Bu bağlamda araştırmamız Kırşehir ilinde sayıca fazla numune kullanılarak yapılan ilk çalışma özelliğindedir. İç Anadolu bölgesinde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında benzer sonuçların elde edildiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan serolojik testlerden bazıları hızlı, pratik ve maliyeti düşüktür (Rose Bengal testi, Milk Ring testi, Standart Tüp Aglütinasyon testi vb.). Yukarı da belirtilen testlerde azda olsa ELISA ve PCR'a göre yanlış veya hata verme olasılığı yüksektir. Fakat incelenen çalışmalarda bu farkın çok olmadığı görülmektedir. Özellikle inek sütü ile yapılan çalışmalarda Milk Ring testi gerekli ve sadece bu numunelerde kullanılan bir testtir. Ancak sonuçların doğruluğu ve araştırmanın netliği açısından tek bir serolojik test uygulanamaz, yanında ekstra testlerin yapılması gerekmektedir. Bundan dolayı örneklerimize birkaç serolojik test ve şüpheli çıkan numunelerden de *Brucella* Agara ekim yapılmıştır. Besiyeri ekim sonuçları ve diğer yapılan serolojik testler karşılaştırılarak 202 adet numunede 35 adet (% 17,32) örneğin *Brucella abortus* bakımından şüpheli olduğu belirlenmiştir.

Tablo 6.1. İl Bazında Sığır Bruselloz Prevelansı*

İL BAZINDA SIĞIR BRUSELLOZ PREVELANSI			
İLLER	SIĞIR %	İLLER	SIĞIR %
Adana	0	Osmaniye	0,2
Afyon	0	Burdur	0,4
Antalya	0	Diyarbakır	0,4
Artvin	0	Rize	0,4
Aydın	0	Trabzon	0,4
Balıkesir	0	Kırıkkale	0,4
Bingöl	0	Çorum	0,6
Çankırı	0	Elazığ	0,6
Denizli	0	Şanlıurfa	0,7
Gaziantep	0	Zonguldak	0,7
Giresun	0	Bursa	0,9
Gümüşhane	0	Konya	0,9
Hakkari	0	Yozgat	0,9
Hatay	0	Kilis	0,9
İzmir	0	Ankara	1,1
Kocaeli	0	Kırşehir	1,1
Kütahya	0	Malatya	1,1
Kahramanmaraş	0	Manisa	1,1
Mardin	0	Uşak	1,1
Muğla	0	Bilecik	1,2
Muş	0	Aksaray	1,3
Ordu	0	Sakarya	1,4
Samsun	0	Kayseri	2,1
Sinop	0	Isparta	2,2
Tekirdağ	0	Edirne	2,8
Tunceli	0	Bitlis	3,1
Van	0	Niğde	3,5
Bayburt	0	Tokat	4,2
Karaman	0	Sivas	5,1
Batman	0	Siirt	5,2
Iğdır	0,2	Amasya	6,7
Kırklareli	0,2	Ağrı	7,3
Yalova	0,2	Eskişehir	7,6
Adıyaman	0,2	Ardahan	7,9
Bolu	0,2	Erzurum	11,6
Çanakkale	0,2	Kars	20,8
Erzincan	0,2	Şırnak	-
Mersin	0,2	Düzce	-
İstanbul	0,2	Karabük	-
Kastamonu	0,2	Bartın	-
Nevşehir	0,2		

*Tarım Ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Hayvan Hastalıkları İl Mücadele Genelgesi'ne Göre Tespit Edilen 2004 yılında İl Bazında Sığır ve Koyun Brusellozu Prevelans verileri (<http://www.tarim.gov.tr>, Aydın, 2007)

6.1. Sınırlılıklar

Çalışmamızda örnekler toplanırken özen gösterilmiş, sütlerini aldığımız ineklerin *Brucella* aşısı olmayan, mandra sisteminden yetiştirilmeyen, genelde halkın kendi evinde beslediği hayvanlardan olmasına dikkat edilmiştir. Hayvan sahiplerinin brusellozis konusunda yeterli bilgiye sahip olmamaları, hayvanların aşılmasının gerektiği veya hayvanlara aşı yapılmış ise bunun neden yapıldığını bilmemeleri, bu konuda çeşitli sorunların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu bağlamda hayvan yetiştiricilerinin bu konudaki bilgi yetersizliğini de ortaya koymuştur.

Çalışmamızda sadece inek sütü kullanılmıştır. Çünkü İç Anadolu bölgesinde küçükbaş hayvan sütü bulunmasında sıkıntı yaşanabilirdi. Büyükbaş hayvanlar, bu bölgede en fazla beslenen, süt ve süt ürünlerinin tüketimi diğer hayvan ürünlerine göre daha fazla tercih edilen türlerdir.

İnek sütü örneklerimize serolojik testlerden MRT, RBT, STA uygulanmıştır. Serolojik testlerden olan ELISA testi diğer testlere göre daha duyarlı ve hassastır fakat genelde *Brucella* antikoru tayini için bu test kullanılmaktadır. Çalışmamız da antikor tayini yapılmadığı için, MRT testinin yalancı pozitif sonuç vermemesinden dolayı birkaç serolojik test daha yapılarak bu testlerde şüpheli olan örneklerin *Brucella* Agar ekimi yapılmıştır.

İleride yapacağımız araştırmada; daha fazla örnek ile koyun ve keçi sütü kullanılarak, özellikle moleküler düzeyde olan diğer serolojik testlerden ELISA veya PCR'ın uygulanacağı bir çalışma düşünülmektedir. Yapılacak bu çalışmanın *B. melitensis* teşhisine özgü ya da Kırşehir ilinde *B. abortus* ve *B. melitensis*'in prevalansını belirlemeye yönelik olması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdelkareem, A. *Trakya Yöresinde Yetiştirilen Sığırların Sütlerinden Brucella Türlerinin Varlığını Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması*, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, İstanbul, **2008**, 1-54.
- Abbasoğlu, U. *İnsan Serumlarında ve Bazı Süt Örneklerinde Bruceella Antikorlarının Araştırılmasıyla İlgili Bir Çalışma*. Mikrobiyol Bülteni. **1988**, 28, 1-12.
- Acha, N.P. Szyfres, B. *Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals, 3rd ed, Pan American Health Organization (PAHO) Washington*, **2003**, 3, 1-395.
- Acedo, E.; Diaz, M.E.; Leon, A.B. *Incidence of Brucella spp. in raw milk and fresh regional cheese*. Aliment, **1997**, 34, 1-6.
- Adıgüzel, A.; Güllüce, M.;Algur, Ö.F. *Erzurum'a Bağlı Bazı Köylerden Toplanan Süt Örneklerinde Brucella abortus Antikorlarının ELISA ile Araştırılması*, İnfeksiyon Dergisi, **2004**, 89, 187-191
- Adıgüzel, A. *Erzurum'a bağlı bazı köylerden toplanan süt örneklerinde Brucella abortus antikorlarının ELISA ile araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Erzurum, **2001**, 1-65.
- Afsar, H.; Baydar, I.; Sirmatel, F. *Epididymo-orchitis due to brucellosis*, Br J Urol, **1993**.
- Alaçam, E.; Görgül, S.; İmren, H.Y.; Şahal, M.; Tuncer, Ş.D. *Sığır Hastalıkları*, Medisan Yayın Serisi, **1997**, 45, 289-292.
- Alton, G.G.; Jones, M.L.; Pietz, D.E. *Laboratory techniques in Brucellosis World Health Organization Monograph Series No:55 Second edition Geneva*, **1975**, 23, 383-422.
- Alton, G.G.; Jones, L.M.; Angus, R.D.; Verger, J.M. *Techniques for the Brucellosis laboratory*. Institut National De La Recherche Agronomique 147, rue de 1' Universite, 75007. Paris, France, **1988**, 76, 123-129.

Altay, G. *Kültür Pozitif 70 Brucelloz Hastasının Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Değerlendirilmesi & Antibiyotik Duyarlılıklarının E-Test Yöntemi ile İncelenmesi*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, **2008**, 1-46.

Alim, A. ve Tomul, D.Z. *Sivas İl Merkezindeki Semt Pazarlarında Satılan Taze Peynirlerin Brucella Yönünden Araştırılması*. Mikrobiyol Bülteni, **2005**, 89, 35-78.

Alavi, S.M.; Rafiei, A.; Nikkhooi, A. *The Effect of Lifestyle on Brucellosis Among Nomads in Khuzestan Province of Iran*. Pak J. Med. Sci., **2007**, 13, 45-53.

Al-Attas, R.A.; Al-Khalifa, M.; Al-Qurashi, A.R.; Badawy, M.; Al-Gualy, N. *Evaluation of PCR, Culture and Serology for the Diagnosis of Acute Human Brucellosis*, Ann. Saudi. Med., **2000**, 86, 128-137.

Al-Mariri, A.; Haj-Mahmoud, N. *Detection of Brucella abortus in Bovine Milk by Polymerase, Chain Reaction*. Acta Vet. Brno., **2010**, 79, 277-280.

Al Dahouk, S.; Le Flèche, P.; Nöckler, K.; Jacques, I.; Grayon, M.; Scholz, H.C.; Tomaso, H.; Vergnaud, G.; Neubauer, H. *Evaluation of Brucella MLVA typing for human Brucellosis*, J. Microbiol. Methods, **2007**, 69, 137-145.

Akova ,M.; Gür, D.; Livermore, D.; Kocagöz, T.; Akalın, H.E. *In Vitro Activities of Antibiotics Alone and in Combination Against B.melitensis at Neutral and Acidic Phs*, Antimicrob. Agents Chemother, **1999**, 88,153-159.

Akcan Kale, A.S. *Burdur Yöresinde Tüketime Sunulan Taze Beyaz Peynirlerde Brucella spp. Varlığı*. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya, **2009**,1-65.

Aktaş, A. *2002-2004 Yıllarında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde İzole Edilen Brucella Kökenlerinde Doksisisiklin, Rifampisin, Streptomisin, Siprofloksasin Duyarlılığı'nın Agar Dilüsyon ve E- Test Yöntemleri İle Saptanması*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, **2009**, 1-99.

Akhan ,S.; Akova, M. *Brucellosis Temel İç Hastalıkları*, Ankara,Güneş Kitabevi, **1996**, 2, 2240-2244.

Amin, A.S.; Hamdy, M.E.; İbrahim, A.K. *Detection of Brucella melitensis in Semen Using The Polymerase Chain Reaction Assay*, Vet. Microbiol., **2001**, 83, 37-44.

Arasoğlu, T. *Erzurum ve Çevresindeki İnek Sütlerinde PCR Yöntemi ile Brucella abortus'un Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, **2010**, 1-112.

Arslan, F. *Brucella Suşlarında Antibiyotik Duyarlılıklarının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi*, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar, **2006**, 1-15.

Aslan, E. *Ankara, Çorum, Kırıkkale ve Yozgat İllerinde Yetiştirilen Brucella Seronegatif İneklerde BVDV, BHV-1, BHV-4 ve BHV-5 Enfeksiyonlarının Hemotolojik Değerlere Etkisi, Epidemiyolojisi ve Genetik Karakterizasyonunun Araştırılması*, Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, **2014**, 1-159.

Arda, M.; Minbay, A.; Aydın, N.; Akay, Ö.; Üzgür, M.; Leloğlu, N.; Kahraman, M.; Ilgaz, A.; Diker, K.S. *Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar*, Özel Mikrobiyoloji, Medisan Yayın Serisi No. 26, Ankara, **1997**, 51,1-11.

Arda, M. *Hayvanlarda Brucellosis*, Türk Mikrobiyolojisi Kongresi, Erciyes Üniversitesi Matbaası, Kayseri, **1990**, 73, 87-94.

Arda, M. *Özel Mikrobiyoloji*, Medisan Yayınevi, Ankara, **1999**, 23, 227-239.

Aral, M.; Çıragil, P.; ve Gül, M. *Brucellozun Serolojik Tanısında İmmunokapture Aglütiasyon Testinin Değerlendirilmesi*, KSÜ Tıp Fakültesi Dergisi, **2005**, 73, 1-26.

Arabacı P. *Risk Grubunda Bulunan İnsanlarda Brucella ve Coxiella burnetii Antikorlarının Serolojik Yöntemlerle Araştırılması*, Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep, **2011**, 1-67.

- Ariza, J.; Pujol, M.; Valverde, J. *Brucellar sacroiliitis, Findings in 63 episodes and current relevance*, Clin. Infect. Dis., **1993**, 6, 751-761.
- Ariza, J.; Corredoira, J.; Pallares, R. *Characteristics of and Risk Factors For Relapse of Brucellosis İn Humans*, Clin. Infect. Dis., **1995**, 5, 1241-1249.
- Ariza, J.; Bosilkovski, M.; Cascio A.; Colmenero, J.D.; Corbel, M.J.; Falagas, M.E.; Memish, Z.A.; Roushan M.R.H.; Rubinstein, E.; Sipsas, N.V.; Solera, J.; Young, E.J.; Pappas, G. *Perspectives for the Treatment of Brucellosis in the 21st Century: the Ioannina Recommendations*, Plos Med, **2007**, 83, 4-317.
- Araj, G.F.; Lulu, A.R., Mustafa. M.Y.; Khateeb, M.I.; *Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic Brucellosis in human beings*, J. Hyg. Camb, **1986**, 97, 457-469.
- Apan, T.Z.; Yıldırım, M.; İstanbulluoğlu, E.; *Seroprevalence of Brucellosis in Human, Sheep and Cattle Populations in Kırıkkale (Turkey)*, Turk. J. Vet. Anim. Sci, **2007**, 48, 75-78.
- Ataş, M. *Sivas İl Merkezinde Satışa Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin Brucella Bakterileri Yönünden İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas, **2004**, 1-72.
- Ataş, M.; Poyraz, Ö.; Alim, A.; Atas, A.D.; Çelik, A. *Sivas İl Merkezinde Satışa Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin Brucella Bakterileri Yönünden İncelenmesi*, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, **2007**, 64, 9-14.
- Avilla-Calderon, E.D.; Lopez-Merino, A.; Sırranganathan, N.; Boyle, S.M.; Contrera-Rodriguez, A. *A history of the Development of Brucella*, **2013**, 713-719.
- Aydın, F.E. *Süt ve Süt Ürünlerinde Brucella Cinsi Bakterilerin Araştırılması*, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin. **2007**, 1-93.
- Ayaşlıoğlu, E.; Kılıç, S.; Aydın ,K.; Kılıç ,D.; Kaygusuz, S.; Ağalar, C. *Antimicrobial Susceptibility of Brucella melitensis Isolates from Blood Samples*, Turk. J. Med. Sci., **2008**, 3, 198-202.

- Aydın, N. *Brucella İnfeksiyonları, Özel Mikrobiyoloji, Bakteriyel İnfeksiyöz Hastalıklar*, A. Ü. Vet. Fak. Yayınları. No: 386 Ankara: A. Ü. Basımevi, **2007**, 8, 24-32.
- Ayaşlıoğlu, E.; Kılıç, S.; Aydın, K.; Kılıç, D.; Ağalar, C. *Antimicrobial Susceptibility of Brucella melitensis Isolates from Blood Samples*, **2008**, 38, 257-262.
- Aznar, M.N.; Samartınol,E.; Humblet, M.F.; Saegerman,C.; *Brucellosis in Argentina and Bordering Countries*,Update. Transbound. Emerg, **2014**, 46, 387-395.
- Baldwin, C.L.;Winter, A.J. *Macrophages and Brucella*, **1994**, 136, 39-66.
- Baek, B.K.; Leebo, Hurj.; Rahman, M.S.; Kakoma, I. *Evaluation of the Sprague-dawley Rat as A Model for Vertical Transmission of Brucella abortus*, **2005**, 11, 23-29.
- Bilgehan, H. *Brucella. Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, 10.baskı, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, **2004**, 157-168.
- Büyükcangaz, E.; Şen, A. *The First Isolation of Brucella melitensis from Bovine Aborted Fetus in Turkey* J. Biol. Environ. Sci., **2007**, 3, 139-142.
- Buğdaycı, K. *Kayseri İlinde Çiğ Sütlerden Yapılan Taze Beyaz Peynirlerde Brucella spp. Aranması*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, **2003**, 1-92.
- Badur, S. *Brucelloz'da Serolojik Tani ve Seroepidemioloji*. Klinik Dergisi, **1990**, 1, 17-20.
- Barrow, G.I.; Path, M.C.; Miller, D.C.; Johnson, D.L.; Hingston, C.W.J. *Brucella abortus in Fresh Cream and Cream Product*. British. Med., **1998**, 2, 596-601.
- Biron, C.A. *Initial and innate responses to viral infections– pattern setting in immunity or disease*, Curr. Opin. Microbiol., **1999**, 4, 374-381.

Bodur ,H.; Balaban, N.; Aksaray, S. *Biotypes and Antimicrobial Susceptibilities af Brucella Isolates*, Biological Weapons Defense: Infectious Disease and Counterbioterroris, **2003**, 35, 337-338.

Bogdanovich, T.; Skurnik, M.; Lubeck, P.S.;Ahrens, P.; Hoorfar, J. *Validated 5' Nuclease PCR Assay for Rapid Identification of the Genus Brucella*, J. Clin. Microbiol., **2004**, 42, 61-63.

Boschiroli, M.; Foulongne, V.; Callaghan, D. *Brucellosis Worldwide Zoonosis*, Curr. Opin. Microbiol., **2001**, 4, 58-64.

Boussau, B.; Karlberg, E.O.; Frank, A.C.; Legault, B.A.; Andersson, E. *Brucellosis Serolojik Tanı*, Klinik dergi, **2004**, 17, 209-210.

Bouza, E.; Torre, M.G.; Parras, F. *Brucella meningitis*, Rev. Infect. Dis., **1987**, 7, 35-38.

Bricker, B.J. *PCR as a Diagnositc Tool for Brucellosis*. Veterinary Microbiology, **2002**, 90, 435-446.

Can, F. *Türkiye'de Brucella abortus ve Brucella melitensis Enfeksiyonlarından Kaynaklanan Finansal Kayıplar ve Alternatif Brucella Kontrol Stratejilerinin Maliyet-Fayda Analizi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Ankara, **2010**, 1-100.

Carvalho, A.V.; Mol, J.P.; Xavier, M.N.; Paixao, T.A.; Lage, A.P.; Santos, R.L. *Pathogenesis of Bovine Brucellosis*, Veterinary Microbiology and Microbial Disease **2010**, 184,146-155.

Celli, J. *Surviving Cinside A Macrophage The Many Ways Of Brucella*, Research in Microbiology, **2006**, 157, 93-98.

Cengiz, A.T. *Brucellozda Korunma ve Tedavi*, Prof. Dr.A. Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Brucelloz Sempozyumu Kitabı, **2000**, 38, 16-22.

- Çetinkaya, B.;Öngör, H.; Muz, A.; Ertas, H.B.; Kalender, H.; Erdoğan, H.M. *Detection of Brucella Species DNA in the Stomach Content of Aborted Sheep Fetuses by PCR*, Vet. Rec. **1999**, 144, 239-240.
- Çelebi,S.; Hacımustafaoğlu, M. *Brucellosis*, Güncel Pediatri, **2004**.
- Çelebi, O.; Atabay, H.I. *Seroepidemiological Investigation of Brucellosis in Sheep Abortions in Kars, Turkey*, Trop. Anim. Health Prod., **2009**, 41, 9-115.
- Çelebi, Ö.; Otlı, S. *Kars Yöresinde Atık Yapmış İnek Sürülerinden Alınan Süt ve Vaginal Sıvı Örneklerinden Brucella Etkenlerinin Bakteriyolojik ve Moleküler Tanımlanması*, Kafkas Üniversitesi, Vet. Fak. Derg. Kars, **2011**, 17, 809-816.
- Cloeckaert, A.; Verger, J.M.; Grayon, M.; Grepinet, O. *Restriction Site Polymorphism of the Genes Encoding the Major 25 Kda And 36 Kda Outermembrane Proteins of Brucella*, Microbiology, **1995**, 141, 211-221.
- Cloeckaert, A.; Verger, J.M.; Grayon, M.; Grepinet, O. *Polymorphism at the DnaK Locus of Brucella Species and Identification of A Brucella melitensis Speciespecific Marker*, J. Med. Microbiol., **1996**, 45, 200-205.
- Cloeckaert, A.;Verger, J.M.; Grayon, M.; Paquet, J.Y.; Garin-Bastuji, B.; Foster, G.; Godfroid, J. *Classification of Brucella spp. Isolated from Marine Mammals By DNA Polymorphism at the Omp2 Locus*, Microbes and Infection, **2001**, 28,123-129.
- Cloeckaert, A.; Vizcaino, N.; Paquet J.Y.; Bowden, R.A.; Elzer, P.H. *Major Outer Membrane Proteins of Brucella spp.Past Present and Future*, Veterinary Microbiology, **2002**, 45,178-186.
- Cloeckaert, A.; Grayon, M.; Grepinet, O.; Boumedine, K.S. *Classification of Brucella Strains Isolated from Marine Mammals by Infrequent Restriction site-PCR and Development of Specific PCR Identification Tests*. Microbes Infect., **2003**, 5, 593-602.
- Chugh, T.D.; Nusrat, H.; Mustafa A.S. *Study of Secreted Cytokine Profile İn Human Brucellosis*, Clinical Microbiology Infection, **2001**.

Colmenero, J.D.; Reguera, J.M.; Martos, F. *Complications Associated With Brucella melitensis Infection, A study of 530 cases*. Medicine (Baltimore), **1996**.

Colmenero, J.D.; Queipo-Ortuno, M.I.; Reguera, J.M.; Baeza, G.; Salazar J.A.; Morata, P. *Real-Time Polymerase Chain Reaction: a New Powerful Tool for the Diagnosis of NeuroBrucellosis*, J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry., **2005**, 76, 27-1026.

Corbel, M.J.; Hendry, D.M. *Urease activity of Brucella species*, Res. Vet. Sci., **1985**, 2, 3- 252.

Corbel, M.J. *Identification of dye Sensitive Strains of Brucella melitensis*, Journal of Clinical Microbiology., **1991**, 29, 1066-1068.

Corbel, M.J. *Brucellosis an Overview. 1st International Conference on Emerging Zoonose, Emerging. Infectious Diseases*, **1997**, 3, 1-15.

Çokça, F.; Meço, O.; Arasıl, A.; Ünlü, A.; *An İntramedullary Dermoid Cyst Abscess Due To Brucella abortus Biotype 3 At T11- L2 Spinal Levels*, Infection **1994**, 22, 359-360.

Davies, G.; Casey, A. *The Survival of Brucella abortus in Milk and Milk Products*, Dergi Park, Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, **1993**, 16 , 58-69.

Dabanlıoğlu, B. *Erzincan ili ve Yöresinde Brucelloz Seroprevalansı ve Seropozitif Olguların Klinik Bulgularla ilişkisi*, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, **2005**, 1-135.

Dizer, U.; Beker,C.M.; Çiçek, H.; Güner, Ö.R.; Zeren, İ; Pahsa, A. *Brucelloz Tanı Yöntemlerinin Etkinliğinin Araştırılması*, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dergisi, **2005**, 2, 87-93.

Debeaumont, C., Falconnet, P.A., Maurin, M.; *Real-time PCR for Detection of Brucella spp DNA in Human Serum Samples*, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., **2005**, 24, 45-842.

Erol, İ. *Gıda Kaynaklı Brucella Enfeksiyonlarının Halk Sağlığı Yönünden Önemi*, Iv. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu (Gıda Kaynaklı Zoonozlar), **1997**, 84, 137-142.

El-Daher, N.T.; Al-Qaderi, S. *The Effect of The Ph of Various Dairy Products on the Survival and Growth of Brucella melitensis*, Ann. Trop. Med. Parasitol., **1990**, 5, 523-528.

Elfaki, M.G.; Uz-Zaman, T.; Al-Hokail, A.A.; Nakeeb, S.M. *Detection of Brucella DNA in Sera from Patients With Brucellosis by Polymerase, Chain. Reaction. Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2005**, 53, 1-7.

Elaldı, N. *Sorunlu Enfeksiyonlar, Tanı ve Tedavide Yeni Yaklaşımlar*, 3. Türkiye EKMUD Kongresi, **2010**, 145-150.

Espy, M. J.; Uhl, J. R.; Sloan, L. M.; Buckwalter, S. P.; Jones, M. F.; Vetter, E. A.; Yao, J.D.C.; Wengenack, N. L.; Rosenblatt, J. E.; Cockerill III, F. R.; Smith, T. F. *Real-time PCR in Clinical Microbiology, Applications for Routine Laboratory Testing*, Clin. Microbiol. Rev., **2006**, 19, 165-256.

EUCOMMISSION, [http://ec.europa.eu/food/animal/liveanimals/bovine/docs/finalReport, Brucellosis.](http://ec.europa.eu/food/animal/liveanimals/bovine/docs/finalReport_Brucellosis.), **2011**.

Ferrero, M.C.; Hielpos, M.S.; Carvalho, N.B.; Barrionuevo, P.; Corsetti, P.; Giambartolomei, G.H.; Oliveira, S.C.; Baldı, P.C., *Key role of TLR2 in the inflammatory response and MHC-II down-regulation in Brucella-infected alveolar macrophages*, Infection and Immunity, **2014**, 82, 215-283.

Fernandes, D.M.; Benson, R.; Baldwin, C.L. *Lack of A Role of Natural Killer Cells In Early Control of Brucella abortus*, Infection and Immunity, **1995**, 63, 4029-4033.

Fernandez- Guerrero, M.L. *Zoonotic endocarditis. Infect Dis Clin North Brucella abortus*, Journal. List. Korean.Circ. J., www.e-kcj.org, **1993**, 7, 135-152.

Fındık, D. *Brucelloz Tanısında Sorunlar, Klimik 2005 XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı*, **2005**, 102-105.

Fekete, A.; Bantle, J.A.; Hailing, S.M. *Detection of Brucella by Polymerase Chain Reaction in Bovine Fetal and Maternal Tissue*, Vet. Diag. Invest., **1992**, 4, 216-227.

Fidancı, H.A.; Akın, S.; Alabay, M.; Güvener, N. *Sığırlarda Brucella abortus'a Karşı Oluşan Antikorları Saptamada ELISA ve Diğer Serolojik Tekniklerin Karşılaştırılması*, A.Ü. Vet. Fak. Dergisi., **2005**, 42, 553-557.

Funk, N.D.; Tabatabai, L.B.; Elzer, P.H.; Hagius, S.D.; Martin, B.M.; Hoffman, L.J. *Indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Detection of Brucella melitensis-specific Antibodies in Goat Milk*, J. Clin. Microbiol., **2014**, 23,132-138.

Foster, G.; Osterman, B.S.; Godfroid, J.; Jacuoues, I.; Cloeckaert, A. *Brucella ceti sp. Nov. and Brucella pinnipedialis sp. Nov. For Brucella Strains With Cetaceans and Seals As Their Preferred Hosts*, Int. J. Syst. Evol. Microbiol., **2007**, 57, 2688-2693.

Franco, M.P.; Mulder, M.; Gilman, R.H.; Smits, H.L. *Human brucellosis*, Lancet. Infect. Dis., **2007**, 47, 777-780.

Garrido- Abellan, F.; Duran- Ferrer, M.; Macmillan, A.; Minas, A.; Nicoletti, P.; Vecchi, G. *Brucellosis in Sheep and Goats (Brucella melitensis)*. Scientific Committee On Animal Health and Animal Welfare, Ed: R.Ahl. European Commission, Health and Consumer Protection Directorate General, **2001**, 1-89.

Gaon,S.; Jennings, P.; Yuad, D.; *Requirements for the Natural Killer Cell-Mediated Induction of Igg1 And Igg2a Expression in B Lymphocytes*. Int. Immunol, **2008**, 20, 645-657.

Gaon,S.; Jennings, P.; Guo, Y.; Yuad, D., *Regulatory Role of Natural Killer (NK) Cells On Antibody Responses to Brucella abortus*, Journal. List.HHS. Author. Manuscripts., **2011**, 17, 152-163.

Genç, O.; Otlı, S.; Şahin, M.; Kamber, U. *İnek Atıklarından İzole Edilen Brucella abortus Suşlarının Biyotiplendirilmesi*, 5.Ulusal Veteriner Kongresi., **2002**, 55, 573-576.

Genç, O.; Kamber, U. *Biotyping of Brucella Strains Isolated From Abortions of Cows In Kars Province*, The Indian Veterinary Journal., **2004**, 81,1164-1166.

Genç, O.; Otlu, S.; Şahin, M.; Aydın, F.; Gökçe, H.İ. *Seroprevalence of Brucellosis and Leptospirosis in Aborted Dairy Cows*, Türk. J. Vet. Anim. Sci., **2005**, 29, 359-366.

Geyik, M.F. *Brusellozun Klinik Formları*. Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AB Dalı, Diyarbakır, **2003**, 41, 213-225.

Giambartolomei, G.H.; Zwerdling, A.; Cassataro, J.; Bruno, L.; Fossati, C.A.; Philipp, M.T. *Lipoproteins, Not Lipopolysaccharide, are the Key Mediators of the Proinflammatory Response Elicited By Heat-Killed Brucella abortus*, Journal .List. Am. J. Pathol., **2004**, 173, 4635-4642.

Gupta, V.K.; Deepak, K.V.; Rout, P.K.; Singh, S.V.; Vihan, V.S. *Polymerase Chain Reaction (PCR) For Detection of Brucella melitensis in Goat Milk*. Small Rumin. Res., **2013**, 65, 79-84.

Güler, L.; Gündüz, K. *Comparison of Polymerase Chain Reaction and Bacteriological Culture for the Diagnosis of Sheep Brucellosis Using Aborted Fetus Samples*, Vet. Microbiol., **2003**, 93, 53-61.

Güllüce, M. *Bölgemiz Sütlerinin Bakteriyolojik ve Antibiyotik Yönünden İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Kars, **1988**, 1-65.

Güllüce, M. *Kars ve Çevresinde Sığırlarda Brucella abortus'a Karşı Oluşan Antikorların ELISA Ve Dier Serolojik Yöntemlerle (RBPT, SAT, MRT) Saptanması ve Sonuçların Karşılaştırılması*., Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Kars, **1993**, 1-86.

Güllüce, M.; Leloğlu, N. *Kars ve Çevresinde Süt Sığırlarında Brucella abortus'a Karşı Oluşan Antikorların ELISA Ve MRT İle Saptanması, Sonuçlarının Karşılaştırılması*, Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences., **1996**, 20, 251-255.

Güllüce, M.; Adıgüzel A.; Algur, Ö.F. *Erzurum Bölgesinde Temin Edilen Çeşitli Peynir Örneklerinde Brucella Antiijenlerinin ELISA ile Saptanması*, Türk Mikrobiyol. Cem. Dergisi, **2003**, 33, 356-360.

Gürtürk, K.; Alan, M.; Boynukara, B.; Solmaz, H. *Van ve Yöresinde Koyun ve Sığır Brucellozis'inin İnsidensi Üzerinde Sero-Epidemiyolojik Araştırması*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Vet. Fak. Dergisi, **1994**, 5, 121-125.

Gülbaz, G. *Kars Yöresinde Satışa Sunulan Çiğ Süt, Peynir ve Tereyağında Brucella Türlerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Moleküler Tekniklerle Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars, **2011**, 1-73.

Gültekin, E. *Brucelloz Ön Tanılı Hastaların serumlarında Brucella Antikorlarının Belirlenmesi Amacıyla Kullanılan Çeşitli Serolojik Yöntemlerin Karşılaştırılması* Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, **2012**, 1-52.

Godfroid, J.; Cloeckaert, A.; Liautard, J.P.; Kohler, S.; Fretin, D.; Walravens, K.; Garin-Bastuji, B.; Letesson, J.J. *From the Discovery of the Malta Fever's Agent To The Discovery of A Marine Mammal Reservoir, Brucellosis Has Continuously Been A Re-Emerging Zoonosis*, Vet. Res., **2005**, 90, 260-313.

Gorvel, J.P.; Moreno, E. *Brucella Intracellular Life from Invasion To Intracellular Replication*, **2002**, 90, 281-297.

Gomes, M.T.; Campos, P.C.; Dealmeida, K.; Oliveira, F.S., Costa, M.M.; Marim F.M.; Pereira, G.S.; Oliveira, S.C. *The Role of Innate Immune Signals in Immunity to Brucella abortus*, Histomorphology and Innate Immunity, **2012**, 2, 1-130.

Golding, B.; Scott, D.E.; Scharf, O.; Huang, L.Y.; Zaitseva, M.; Lapham, C.; Eller, N.; Goldhig, H.; *Immunity and Protection Against Brucella abortus*, **2001**, 3, 43-48.

Gross, A.; Terraza, A.; Ouahrani-Bettache, S.; Liautard J. P.; Dornand, J. *In Vitro Brucella suis Infection Prevents the Programmed Cell Death of Human Monocytic Cells*, **2000**, 9, 898-900.

- Hadad, J.J. *Isolation of Brucella From Buffalo Milk and Gaymar in Ninevah Province, Iraq. Iraqi. J.Vet. Sci.*, **1998**, 12, 136-142.
- Hamdy, M.E.R.; Amin, A.S. *Detection of Brucella Species in the Milk of Infected Cattle, Sheep, Goats and Camels By PCR. Veterinary Journal.*, **2002**, 163, 299-305.
- Heck, F.C.; Williams, J.O.; Pruett, J.; Sanders, R.; Zink, D.L. *Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detectory Antibodies to Brucella abortus*, **1998**, 12, 2081-2084.
- Xiang, Z. *Bioinformatics Analysis of Brucella Vaccines and Vaccine Targets Using, Violin. Immun.*, **2010**, 21, 40-48.
- Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, T.T.; Williams, S.T. *Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology . 9th. Edi. Baltimore, USA.*, **1994**, 547-557.
- Hughes, M.L., *Mediterranean, Malta Or Undulant Fever.*, Macmillan, London, **1997**, 102-106.
- Huang, L.Y.; Krieg, A.M.; Eller, N.; Scott, D.E. *Induction and Regulation of Th1-Inducing Cytokines By Bacterial DNA, Lipopolysaccharide, and Heat Inactivated Bacteria*, **1999**, 67, 6257-6263.
- İlhan, Z.; Solmaz, H.; Aksakal. A.; Gülhan, T.; Ekin, I.H.; Boynukara, B. *Detection of Brucella melitensis. DNA in the Milk of Sheep After Abortion By PCR Assay, Arch. Med. Vet.*, **2008**, 46, 60-141.
- İlhan, Z.; Solmaz, H.; Ekin, I.H. *In Vitro Antimicrobial Susceptibility of Brucella melitensis Isolates From Sheep in An Area Endemic for Human Brucellosis in Turkey.*, J. Vet. Med. Sci. **2013**, 75, 1035-1040.
- Islam, M.A.; Khatun, M.M.; Baek, B.K.; *Male Rats Transmit Brucella abortus Biotype 1 Through Sexual Intercourse, Veterinary Microbiology*, **2013**, 165, 475-477.
- Jain, N.; Boyle, S.M.; Sriranganathan, N. *Effect of Exogenous Erythritol On Growth and Survival of Brucella*, Vet. Microbiol., **2012**, 160, 513-516.

Johnson, B.; Mosier, D.A.; Morton, R.J.; Confer, A.W. *Experimental Brucella abortus Strain 19 Arthritis in Young Cattle*, Journal. List. Braz. J. Microbiol., **1994**, 6, 56-61.

Kara, R. *Geleneksel Bir Peynir, Afyon Tulum Peynirinin Karakterizasyonu ve Deneyisel Olarak İnokule Edilen Brucella abortus ve Brucella melitensis Suşlarının Üreme ve Canlı Kalma Yeteneklerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, **2011**, 1-139.

Kaya, O. *Brucella Suşlarında MIC Yöntemiyle Duyarlılık Araştırması*, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta, **2005**, 13, 22-26.

Kaya, S. *Brucelloz ve Tedavi Sorunu*, Enfeksiyon Dergisi, **2006**, 227-233.

Kasımoğlu, A. *Determination of Brucella spp. in Raw Milk and Turkish White Cheese*, in Kırıkkale, Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., **2012**, 109, 324-328.

Karasoy, M.H. *Brucellosis’li Koyunlardan Elde Edilen Sütlerle Yapılan Peynirlerde Brucella melitensis’in Dayanma Süresi Üzerine Araştırmalar*, Ankara Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Enfeksiyon Dergisi, **2001**, 83-89.

Kasab, S.; Fagır, M.R.; Yousef, S.; Khan, M.A.; Ribeiro, P.A.; Nazzal, S.; Zaibag, M. *Brucella infective endocarditis*, J. Thorac. Cardiovasc. Surg, **1998**, 325-347.

Kato, Y.; Masuda, G.; Itoda, I.; Imamura, A.; Ajisawa, A.; Negishi, M. *Brucellosis in A Returned Traveler and His Wife: Probable Person-To-Person Transmission of Brucella melitensis*, Int. J. Infect. Dis., **2007**, 14, 343-345.

Karagiannis, I.; Mellou, K.; Gkolfinopoulou, K.; Dougas, G.; Theocharopoulos, G.; Vourvidis, D.; Ellinas, D.; Sotolidou, M.; Papadimitriou, T.; Vorou, R. *Outbreak Investigation of Brucellosis in Thassos, Greece*, Euro Surveill, **2012**, 11, 6-17.

Kaoud, H.A.; Zaki, M.M.; Shima, A.R.D.; Nasr, A. *Epidemiology of Brucellosis Among Farm Animals*, Nature And Science, **2010**, 5, 1-8.

Keskin, D.; Atay, O.; Kırkan, S.; Gökdağ, Ö.; Tekbıyık, S.; Kaya, O.; Eren, V. *Detection of Brucella melitensis in Milk of Hair Goat (Capra Hircus) By Polymerase Chain Reaction (PCR)*, The Journal of The Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas, **2009**, 15, 1-157.

Köprülü, N. *Kahramanmaraş İl Merkezinde Brucelloz Hastalığının Seroprevalansı*, Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, **2008**, 1-63.

Koçoğlu, E.; Karabay, O.; İnce, N. *Brucelloz İçin Serolojik Taramanın Değeri*, Türk Mikrobiyoloji, Cem. Dergisi, **2008**, 38, 23-26.

Kocagöz, S.; İlçin, G.; Biberoglu, K.; Süleymanlar, G. *Brucellosis İç Hastalıkları*, Güneş Kitabevi, **2005**, 2, 3202-3206.

Kınık, Ö.; Gönç, S.; Akalın, S. *Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar*, 1. Baskı, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, **1998**, 1-13.

Kılıçturgay, K. *Brucellosis Hastalığının İncelenmesi Brucellosisin Kliniği* 24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kayseri, **1999**.

Khosravi, D. Z.; Abassi, E.; Alavi, M. S. *Isolation of Brucella melitensis and Brucella abortus from Brucellosis Patients By Conventional Culture Method and Polymerase Chain Reaction Technique*, Pak. J. Med. Sci., **2006**, 4, 396-400.

Küplülü, O.; Sarımehtetoğlu, B. *Isolation and Identification of Brucella spp. In Ice Cream*, Food Control., **2004**, 7, 511-514.

Kubista, M.; Andrade, J.M.; Bengtsson, M.; Forootan, A.; Jonák, J.; Lind, K.; Sindelka, R.; Sjöback, R.; Sjögreen, B.; Strömbom, L.; Ståhlberg, A.; Zoric, N. *The Real-Time Polymerase Chain Reaction*, Molec. Aspects .Med., **2006**, 27, 95-125.

. Lang, R.; Banai, M.; Lishner, M.; Rubinstein. E. *Brucellosis*. International Journal of Antimicrobial Agents, **1995**, 5, 203-208.

- Lawaczek, E.; Toporek, J.; Cwikla, J.; Mathison, B.A. *Brucella canis* in A HIV-infected Patient. *Zoonoses Public Health*, **2011**, 58, 150-152.
- Leal Klevezas, D.S.; Martinez-Vazquez, I.O.; Lopez-Merino, A.; Martinez-Soriano, J.P. *Single Step PCR For Detection of Brucella spp. From Blood and Milk of Infected Animals*, *J. Clin. Microbiol.*, **1995**, 33, 3087-3090.
- Leal Klevezas, D.S.; Martinez –Vazquez, I.O.; Garcia-Cantu, J.; Lopez – Merino, A.; Martinez-Soriano, J.P. *Use of Polymerase Chain Reaction to Detect Brucella abortus Biovar 1 In Infected Goats*, *Vet. Microbiol.*, **2000**, 75, 91-97.
- Leary, S. O.; Sheahan, M.; Sweeney, T.; *Brucella abortus* Detection By PCR Assay in Blood, Milk and Lymph Tissue of Serologically Positive Cows. *Research. Veterinary Science*, **2006**, 81, 170-176.
- Lee, J.J.; Kim, J.H.; Kim, D.G.; Kim, D.H.; Simborio, H.L.; Min, W.G.; Rhee, M.H.; Lim, J.H., Chang, H.H.; Kim, S. *Characterization of Betaine Aldehyde Dehydrogenase (Betb) As an Essential Virulence Factor of Brucella abortus*, *Vet. Microbiol.*, **2014**, 168, 131-140.
- Llosa, M.; Roy, C.; Dehio, C. *Bacterial Type IV Secretion Systems in Human Disease*, *Int. J. Infect. Dis.*, **2009**, 73, 141-151.
- Lucero, N.E.; Maldonado, P.I.; Kaufman, S.; Escobar, G.I.; Boeri, E.; Jacob, N.R. *Brucella canis* Causing Infection in An HIV-Infected Patient, *J. Clin. Pathol.*, **2010**, 10, 527-529.
- Luboni, M.; Shardo, D.; Helin, I. *Cadiac Manifestations in Brucellosis*, *Arch. Dis. Child.*, **1996**.
- Martin, I.; Sanchez, E.; Martinez, M.; Fresnadillo, J.; Rodriguez, A. *In Vitro Activites of Six New Flouroquinolones Against Brucella melitensis*, *Brazilian Journal of Microbiology*, **1999**.
- Marston, J.A. *Report On Fever (Malta)*. *Army Medical Department Reports*, **1999**, 7, 405-414.

- Megid, J.; Mathia, L.A.; Robles, C.A. *Clinical Manifestations of Brucellosis in Domestic Animals and Humans*, The Open Veterinary Science Journal, **2010**, 4, 119-126.
- Mendez, K.F.; Shaw, E.B. *Comparison of Morphologic, Cultural and Biochemical Characteristics of Brucella abortus and Brucella melitensis*. Studies on Genus Brucella, **2015**, 80, 2849-2859.
- Mesner, O.; Riesenber, K.; Billar, N.; Borstein, E.; Bouhnik, L.; Peled, N.; Yagupsky, P. *The Many Faces of Human-to-Human Transmission of Brucellosis, Congenital Infection and Outbreak of Nosocomial Disease Related to An Unrecognized Clinical Case*, Clin. Infect. Dis., **2007**, 45, 3327-3338.
- Metzger, D.W.; Buchanan, J.M.; Collins, J.T.; Lester, T.L.; Murray, K.S.; Vancleave, V.H.; Vogel, L.A.; Dunnick, W.A. *Enhancement of Humoral Immunity*, Journal List. HHS. Author Manuscripts, **1996**, 795, 100-115.
- Minas, A. *Control and Eradication of Brucellosis in Small Ruminants*, Article in Small Ruminant Research, **2006**, 62, 101-107.
- Monis, P.T.; Giglio, S. *Nucleic Acid Amplification-Based Techniques For Pathogen Detection and Identification*, Infect. Genet. Evo., **2006**, 6, 2-12.
- Moreno, E.; Moriya, N.; Dworkin, M.; Falkow, S.; Rosenberg, E.; Schleifer, K.H.; Stackebrandt, E. *The Prokaryotes the Genus Brucella* in Handbook on the Biology of Bacteria, **2006**, 90, 209-227.
- Nakato, G.; Hase, K.; Suzuki, M.; Kimura, M.; Ato, M.; Hanazato, M.; Tobiume, M.; Horiuchi, M.; Atarashi, R.; Nishida, N.; Watarai, M.; Imaoka, K.; Ohno, H. *Brucella abortus Exploits A Cellular Prion Protein on Intestinal M Cells As An Invasive Receptor*, Infect. Immun., **2012**, 189, 4-154.
- Navarro, E.; Cassao, M.; Solera, J. *Diagnosis of Human Brucellosis Using PCR*, Expert Rev. Mol. Diagn., **2004**, 4, 115-123.

Neta, A.; Mol, J.; Xavier, M.N.; Paixao, T.A.; Lage, A.P.; Santos, R.L. *Pathogenesis of Bovine Brucellosis*, Vet. J., **2010**, 184, 146-155.

Nicoletti, P. *Brucellosis Past Present and Future Contributions Section of Biological and Medical Sciences*, Macedonian Academy of Sciences and Arts, **2010**, 31, 21-32.

Nielsen, K. *The Epidemiology of Bovine Brucellosis*, Veterinary Microbiology. Vet. Microbiol, **2002**, 90, 447-459.

Obied, A.I.; Bagadi, H.O.; Mukhtar, M.M. *Mastitis in Camelus dromedarius and the Somatic Cell Content of Camels' Milk.*, Res. Vet. Sci., **1996**, 61, 55-58.

Queipo-Ornuto, M.I.; Morata, P.; Ocon, P.; Manchado, P.; Colmenero, J.D. *Rapid Diagnosis of Human Brucellosis By Peripheral Blood PCR Assay*. J. Clin. Microbiol. **1997**, 35, 2927-2930.

Otlu, S.; Şahin, M.; Unver, A.; Çelebi, Ö. *Detection of Brucella melitensis and Chlamydophila abortus Antibodies in Aborting Sheep, Kars Province of Turkey*. Bull Vet. Inst. Pulawy., **2008**, 77, 21-117.

Oğuzkaya, M. *Brucellozun Serolojik Tanısında Uygulanılan Wright Aglutinasyon, Rose-Bengal ve Coombs Testlerinin Karşılaştırılması*, Uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, **1995**, 1-47.

Oliveira, S.C.; Dealmeida, K.; Carvalho, N.B.; Oliveira, F.S.; Lacerda, T.L. *Update on the Role of Innate Immune Receptors During Brucella abortus Front Cell Infect Microbiol*, **2012**, 148, 129-135.

Önay, H. *Sığır Ve Koyun Serumlarının Brucellosis Yönünden Tüp Aglutinasyon Testi ve Elisa İle İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim dalı, Aydın, **2009**, 1-35.

Özgür, E. *Düzce Bölgesinde Hayvan ve Hayvansal Ürünlerle Uğraşan ve Uğraşmayan İki Farklı Grupta Brucella Seropozitifliğinin Araştırılması*, Yüksek

Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bolu, **2006**, 1-47.

Özgüven, V. *Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları*, Atlas Kitapçılık, **2004**.

Patır, B.; Dinçoğlu, A.H. *Elazığ'da Tüketime Sunulan Taze Beyaz Peynirler ile Tulum Peynirlerinde Brucella spp.'nin Varlığı Üzerine Araştırmalar*, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi, **2001**, 1, 15-22.

Pappas, G.; Akritidis, N.; Bosilkovski, M.; Tsianos, E. *Brucellosis Araştırılması*, N. Engl. J. Med., **2005**, 352, 2325-2336.

Pappas, G.; Papadimitriou, P.; Akritidis, N.; Christou, L.; Tsianos, E.V. *The New Global Map of Human Brucellosis*, Lancet. Infect. Dis., **2006**, 6, 91-99.

Pappas, G.; Panagopoulou, P.; Chriatou, L.; Akriüdis, N. *Brucella As A Biological Weapon Cell*, Mol. Life Sci., **2006**, 63, 36-222.

Parin, U. *Sığırlarda Brucella ve Leptospira Türlerinin Multiplex Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İle Tanımlanması*, Yüksek lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, **2008**, 1-58.

Peker, E.; Doğan, M.; Albayram, S.; Bektaş, M.S.; Öner, A.F. *Brucellozda Akciğer Tutulumu*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Selçuk Tıp Dergisi, **2010**, 31, 7-16.

Philippen, A.; Renoux, G.; Plommet, M. *Experimental Bovine Brucellosis. III. Vaginal Excretion of B. abortus Before and After Calving*, Partners in Health, **1990**, 1, 215-224.

Porte, F.; Naroeni, A.; Ouahrani-Bettache, S.; Liautard, J.P. *Role of the Brucella suis Lipopolysaccharide O Antigen in Phagosomal Genesis and in Inhibition of Phagosome-Lysosome Fusion in Murine Macrophages*, Infect Immun., **2003**, 71, 1481-1490.

Poester, F.P.; Samartino, L.E.; Santos, R.L. *Pathogenesis and Pathobiology of Brucellosis*, Rev. Sci. Tech., **2013**, 32, 105-115.

Rüstemoğlu, H. *Tokat İli Ve Çevre Köylerinden Elde Edilen Sütlerden Brucella Cinsi Bakterilerin Varlığının Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Osmanpaşa Üniversitesi, Biyoloji Anabilim dalı, Tokat, **2011**, 1-44.

Redkar, R.; Rose, S.; Bricker, B.; DelVecchio, V. *Real-Time Detection of Brucella abortus, Brucella melitensis and Brucella suis*, Mol. Cell. Probes, **2001**, 15, 43-52.

Renukaradhya, G.J.; Isloor, S.; Rajasekhar, M.; *Epidemiology, Zoonotic Aspects, Vaccination and Control/Eradication of Brucellosis*, Department of Public Health Sciences, **2002**, 90, 183-195.

Refai, M. *Incidence and Control of Brucellosis in the Near East Region*, Vet. Microbiol., **2002**, 93, 81-110.

Robinson, R.; Batt, A.; Patel, D. *Encyclopedia of Food Microbiology in Brucella*, Academic Press, London, **2008**, 89, 2851-2863.

Roop, R.M.; Gaines, J.M.; Anderson, E.S.; Caswell, C.C.; Martin, D.W. *Survival of the Fittest How Brucella Strains Adapt to Their Intracellular Niche in the Host*, Med. Microbiol. Immunol., **2009**, 198, 221-238.

Rhyan, J.C.; Holland, S.D.; Gidlewski, T.; Saari, D.A.; Jensen, A.E.; Ewalt, D.R.; Hennager, S.G.; Olsen, S.C.; Cheville, N.F. *Seminal Vesiculitis and Orchitis Caused By Brucella abortus Biovar 1 In Young Bison Bulls From South Dakota*, J. Vet. Diagn. Invest., **1997**, 9, 368-374.

Sangari, F.J.; Seoane, A.; Rodriguez, M.C.; Agüero, J.; Garcialobo, J.M.; *Characterization of the Urease Operon of Brucella abortus*, Infect Immun., **2007**, 75, 774-780.

Sammartino, L.E.; Gil, A.; Elzer, P. *Capacity Building For Surveillance and Control of Bovine and Caprine Brucellosis. Capacity Building For Surveillance and Control of Zoonotic Diseases FAO/WHO/OIE Expert and Technical Consultation*, Proceeding Book, **2005**.

Salehi, M.; Pishva, E.; Salehi, R.; Rahmani, M. *Isolation of Brucella abortus Using PCR-RFLP Analizis*, Iranian. J. Pub. Health., **2006**, 4, 22-27.

Serttaş, B. *Isparta İl ve İlçelerinde Çiğ Sütlerde Brucella abortus'a Karşı Oluşturulan Antikorların ELISA ve RİNG Testleri ile Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, **2006**, 1-49.

Seleem, M.N.; Boyle, S.M.; Sırranganathan, N. *Brucellosis A Re-Emerging Zoonosis*, Vet. Microbiol., **2010**, 140, 392-398.

Sırmatel, K.; Bozkurt, A.İ.; Türker, M. *Brucelloziste Klinik ve Laboratuvar Bulgularının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi*, Anadolu Tıp dergisi, **2000**, 4, 17-23.

Sözen, T.H. *Brucelloz*. N. Tuna ed. Romatizmal Hastalıkları, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, **1993**.

Sözen, T.H. *Brucelloz Enfeksiyon Hastalıkları*, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, **1996**, 486-491.

Sözen, T.H. *Brucellozda Çeşitli Sistem Bulguları*, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Brucelloz Sempozyumu, **2000**, 47-49.

Solmaz, H.; Tütüncü, M.; Gülhan, T.; Ekin, İ. H.; Taşal, İ. *Van Yöresi Süt Sığırlarında Brucellozis'in İnsidensi Üzerine İncelemeler*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Vet. Fak. Dergisi, **2002**, 13, 54-56.

Solomon, H.M.; Jackson, D. *Rapid Diagnosis of Brucella melitensis'in Blood Some Operational Characteristics of the BACT/ALERT*, J. Clin. Microbiol., **1992**, 30, 222-226.

Shapiro, D. S .; Wong, J.D.; Murrey, P. R.;Baron E. P.; Faller, M. A.; Tenover, F. C.; Yolken, R. H.; *Brucella*. Manual of Clinical Microbiology, 7. Edition, American Society For Microbiology, **1999**, 38, 205-206.

Shakerian, A.; Karim, G.; Sharifzadeh, A.; Sadeghy, M. *The Survey of Frequency of Brucella melitensis, Escherichia coli and Staphylococcus aureus of Ewes Fresh*

Traditional Cheese in Shahrekord, Iran. 5th World Congress Foodborne Infections And Intoxications, Abstract Book, Berlin, Germany June, 2015, 37, 358-347.

Starr, T.; Wehrly, T.D.; Knodlerla, J. *Brucella İntracellular Replication Requires Trafficking Through the Late Endosomal/Lysosomal Compartment*, Traffic. Microbiology, **2008**, 9, 678-694.

Şahin, M.; Genç, O.; Ünver, A.; Otlı, S. *Investigation of Bovine Brucellosis in the Northeastren Turkey*, Trop Anim. Health Prod., **2008**, 40, 281-286.

Şahin, T.; Yıldız, A. *Hatay Yöresindeki Koyun ve Keçilerde Brucellozisin Seroprevelansının Araştırılması*, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Dergisi, **2006**, 5, 331-335.

Taşçı, F.; Kaymaz, Ş.; *Ankara’da Tüketime Sunulan Mutfaklık Tereyağı, Krema ve Krem Şantili Pastaların Brucella spp. Yönünden İncelenmesi*, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Fakültesi Dergisi, **2009**, 23, 5-8.

Taşçı, F. *Gıda Kaynaklı Brucellosis ve Önemi*, Uludağ Üniversitesi, J. Fac. Vet. Med., **2004**, 23, 137-142.

Taşkın, N. *Ankara İlinde Tüketime Sunulan Sokak Sütlerinde ve Beyaz Peynirlerde Brucella Varlığının ELISA Yöntemiyle Araştırılması ve Brucella Bakterisinin Kefirde Yaşam Süresinin Tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2007**, 1-63.

Taşkın, H.A. *Sivas ve Tokat İllerinde Tüketime Sunulan Açık Sütlerde ve Süt Ürünlerinde Brucella Antikorlarının Elisa Yöntemiyle Araştırılması ve Brucella melitensis ve Brucella abortus’un Kefirdeki Yaşam Sürelerinin Tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, **2012**, 1-64.

Takeuchi, O.; Akira, S. *Pattern Recognition Receptors and İnflammation Cell*. Microbiology, **2010**, 40, 805-820.

Temiz, H. *Rose-Bengal Testi (+), Serum Tüp Aglütinasyon Testi (-) ve Coombs Testi (-) Olan ve Klinik Olarak Brucelloz Şüpheli Hastaların Serumunda Brucella DNA'nın Real Time PCR Yöntemiyle Aranması*, Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, **2006**, 1-41.

Terzi, G. *Samsun Bölgesinden Toplanan Sütlerde Milk Ring Test ve Aglütinasyon Testi ile Brucella Antikoruğunun Araştırılması*, TAF., Preventive Medicine, Bulletin, **2006**, 3, 196-200.

Tezok, Ö.F.; Sağlam, M.; Gümrükçü, E.; Sözen, T.H. *Türkiye’de İnsan Brucella Enfeksiyonları*, Mikrobiyoloji Bülteni, **1993**, 4, 341-350.

Tizard, I.R. *Veterinary Immunology*, 8th ed, CBS Publishers & Distributors, **2009**, 45, 258-265.

Türütoğlu, H.; Mutluer, M.; Uysal, Y. *Burdur Yöresinden Toplanan Sütlerin Brucella Enfeksiyonu Yönünden Araştırılması*, Turk. J. Vet. Anim. Sci. **2003**, 27, 1003-1009.

Tunçbilek, M. *Ankara Piyasasında Satılan Taze Beyaz Peynirlerin Brucellozis Riski Yönünden İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara, **1992**, 1-59.

Turan, H.; Arslan, H.; Azap, Ö.; Şerefhanoglu, K. *In Vitro Antibacterial Activity of Tigrcycline in Comparison With Doxyxyxline, Ciprofloxacin and Rifampicin Against Brucella spp.*, Journal List. Int. J. Med. Sci. **2007**, 10, 1406-1411.

Tosyalı, E. *Brucella melitensis Enfekte Makrofajlarda Cisplatin Tedavisinin Konak Savunma Sistemi Güçlendirici Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (Vet) Anabilim Dalı, Hatay, **2008**, 1-58.

Töre, O. *Brucelloz Tanısında İlişkin Sorunlar*, I. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, **1987**, 20-23.

Urçar, S. *Erzurum İli Piyasasında Tüketime Sunulan Bazı Peynirlerde Brucella spp. Varlığının Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, **2011**, 1-30.

Uraz, G.; Yücel, N. *Kaynatılmamış Süt Örneklerinde Milk Ring Testi ile Brucella Varlığının Araştırılması*, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Ankara, **1998**, 2, 393-400.

Ünel, S.; Williams, C.F.; Stableford, A.W. *Balıkesir Bölgesinde Süt, Krema ile İmalathane ve Köylü Beyaz Peynirlerinde Brucella melitensis'in Kalma Süresi*, Mikrobiyoloji Dergisi, **1988**, 33, 356-360.

Vanzini, V.R.; Aguirre, N.P.; Valentini, B.S.; Torioni de Echaide, S.; Lugaresi, C.I.; Marchesino, M.D.; Nielsen, K. *Comparison of An Indirect ELISA With the Brucella Milk Ring Test For Detection of Antibodies to Brucella abortus in Bulk Milk Samples*, Veterinary Microbiology, **2001**, 82, 55-60.

WHO, *Brucellosis in Human and Animals*, **2006**.

Whatmore, A. M . *Current Understanding of the Genetic Diversity of Brucella, an Expanding Genus of Zoonotic Pathogens*, Infect Genet Evol., **2009**, 9, 1168-1184.

White, P.J.; Treanor, J.J.; Geremia, C.; Wallen, R.L.; Blanton, D.W.; Hallac, D. E. *Bovine Brucellosis in Wildlife: Using Adaptive Management to Improve Understanding, Technology and Suppression*, **2013**, 32, 263-270.

Wilke, A.; Arman, D.; Başkaya, İ. *Human Brucellosis Presenting With Different Clinical Manifestations*, J. Ankara Med. Sch., **1993**, 6, 1912-1929.

Xavier, M.N.; Paixao T.A.; Denhartigh, A.B.; Tsolis, R.M.; Santos, R.L. *Pathogenesis of Brucella spp.*, RIBA Standard Agreement , **2010**, 4 , 109-118.

Xavier, M.N.; Winter, M.G.; Spees, A.M.; Nguyen, K.; Atluri, V.L.; Silva, T.M.; Baumler, A.J.; Müller, W.; Santos, R.L.; Tsolis, R.M. *CD4+ T Cell-Derived IL-10 Promotes Brucella abortus Persistence Via Modulation of Macrophage Function*, PLoS Pathog., **2013**, 9, 1003-1045.

- Yetilmezer, E. *Siğır Sütünde Brucella ve Listeria Tanısı İçin PCR Optimizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, **2010**, 1-75.
- Yumuşak, N. *Adıyaman Yöresindeki Koyun ve Keçilerde Brucellozis'in Seroprevalansının Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, **2006**, 1-48.
- Yılmaz, M. *Türkiye'de Sık Karşılaşılan Hastalıklar, Enfeksiyon Hastalıkları, Romatizmal Hastalıklar, Afetlerde Ezilme Yaralanmaları Sempozyumu Bildiri Özleri*, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Ocak, **2007**, 215-226.
- Yorulmaz, T.; Sözen, T.H.; Sepici, V.; Ergin, M.; Müftüoğlu, O. *Brucelloziste Hareket Sistemi Bulguları*, Lepra Mecmuası, **1992**, 3, 12-17.
- Young, E.J.; Corbel, M.J. *Clinical Manifestations of Human Brucellosis, in Brucellosis, Clinical and Laboratory Aspects*, **1989**, 12, 97-126.
- Young, E.J. *Serologic Diagnosis of Human Brucellosis: Analysis of 214 Cases By Agglutination Tests And Review of The Literature*, Rev. Infect. Dis., **1991**, 13, 359-372.
- Young, E.J. *An Overview of Human Brucellosis*, Clin. Infect Dis., **1995**, 21, 283-289.
- Young, E.J. *Brucella species*, Mandell, G.L.; Bennet, J.E.; Dolin, R. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th Ed. New York Cuhurchill – Livingstone **2000**, 31, 184-189.
- Young, E. J.; *Brucella species*. Mandell, G.L.; Bennett J.E, Dolin, R. (Ed.). 6th Edition, Philadelphia, **2005**, 35, 2669-2674.
- Zervos, M.J.; Bostic, G. *Exposure To Brucella in the Laboratory*, Emerg. Infect Dis., **1997**, 90, 349-651.

Zheng, K.; Chen, D.S.; Zhang, H.; Chen, C.F.; Chen, H.C.; Liu, Z.F. *Microrna Expression Profile In RAW264.7 Cells In Response to Brucella melitensis*, Int. J. Biol. Sci., **2012**, 8, 1013-1022.

Zuniga, H.; Pishva, E.; Salehi, R.; Rahmani, M. *Update On the Role of Innate Immune Receptors During Brucella abortus*, Veterinary Microbiology, **2016**, 93, 489-512.

Zowghi, E.; Ebadi, A.; Yarahmadi, M. *Isolation and Identification of Brucella Organisms in Iran*. Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases, **2012**, 4, 185-188.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : ŞANLI Deniz
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 07.11.1990 YATAĞAN/MUĞLA
e-mail : denizsanli48@gmail.com

Eğitim

Lise : Ömer Sadık Göçen Lisesi
Lisans : Ahi Evran Üniversitesi
Yüksek Lisans : Ahi Evran Üniversitesi
Yüksek Lisans Tezi : Kırşehir İlinde Açıkta Satılan Sütlerin
Brucella sp. Prevelansının Saptanması

Yabancı Dil : İngilizce