

T.C.
AH EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KIRGIZISTANDA AÇIKTA SATILAN SÜTLERİN
***Brucella sp.* PREVELANSININ SAPTANMASI**

DENİZ ANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KIRGIZI 2017

T.C.
AH EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KIRGIZISTANDA AÇIKTA SATILAN SÜTLERİN
Brucella sp. PREVELANSININ SAPTANMASI

DENİZ ANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Hatice ÖZÜTCÜ

KIRGIZI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlü ü'ne

Bu çalı ma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK L SANS TEZ olarak kabul edilmi tir.

Ba kan

Akademik Ünvanı, Adı-Soyadı

Üye

Akademik Ünvanı, Adı-Soyadı

Üye

Akademik Ünvanı, Adı-Soyad

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen ö retim üyelerine ait oldu unu onaylarım.

... / ... /
2017

Prof. Dr. Levent KULA

Enstitü Müdürü

TEZ B LD R M

Tez içinde bütün bilgilerin etik davranı ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek yazıldı nı, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalı mada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kayna ına eksiksiz atf yapıldı nı bildiririm.

DEN Z ANLI



KIR EH R L NDE AÇIKTA SATILAN SÜTLER N
***Brucella* sp. PREVELANSININ SAPTANMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Deniz ANLI

Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

MAYIS 2017

ÖZET

Bruselloz, insan ve hayvanlarda görülen *Brucella* cinsine ait bakterilerin neden olduğu kronik, bulaıcı ve subakut olan zoonotik hastalıklardan birisidir. Hastalık ayrıca hayvanlarda (sığırcı, manda, koyun, keçi, domuz vs.) ve memeli hayvanların diilerinde genital organlarına yerleşerek yavru atma, infertilite, mastitis, erken doğum, plasenta retensiyonu ve metritise, erkeklerde orkit (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 Agglütinasyon 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 Agglütinasyon testi sonucunda ise; 202 inek sütü örneğinin 35 adedi (% 17.32) üşheli olarak belirlenmiştir.

Ara tırmamızda üpheli çıkan örneklerin *Brucella* Agara ekimi yapılmı tır. Ekim sonucunda 202 inek süt örne inin 35 adedinden (%17.32) *B. abortus* etkeni izole edilmi tir.

Çalı mamızın sonucuna göre; Kır ehir ili ve köylerinde *Brucella* etkeninin var oldu u tespit edilmi buradan yola çıkarak da süt ve süt ürünlerinin bruselloz bakımından risk olu turabilece i kanaatine varılmı tır.

Anahtar Kelimeler Kır ehir, *Brucella* sp., Süt, MRT, RBT, STA

Sayfa Adedi:146

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Hatice Ö ÜTCÜ

**KIR EH R BUTTERFLY FRUITS FROM *Brucella* sp.
DETECTION OF PREVALENCE**

(Master of Science Thesis)

Deniz ANLI

Ahi Evran University

Enstitute 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 Kır ehir 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 Kır ehir 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: Kır ehir, *Brucella* sp., Milk, MRT, RBT, STA

Number of Pages: 146

Thesis Advisor: : Hatice Ö ÜTCÜ, Assoc. Prof

TE EKKÜR

Çalı malarım esnasında her türlü deste i sa layan ve yardımını hiçbir zaman esirgemeye de erli danı man hocam Doç. Dr. Hatice Ö ÜTCÜ'ye, çok te ekkür ederim.

Kıymetli bilgilerini ve örnekleri toplamamda bana yardımcı olan ve deste ini esirgemeyen de erli hocam Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Ö retim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ülken Tunga BABAO LU ve e ine çok te ekkür ederim.

Yüksek Lisans tezim de bana yardımcı olan arkadaş larım; Caner KARARTI, Ali Turan SUNULU, Sinan KAYA, Ebuzer AKBA , Hidayet ERDO AN, Mesut ARSLAN'a çok te ekkür ederim. Tabi ki de iyi günümde ve kötü günümde de yanımda olan hayatımda ki de erli insan Gamze BORZAN ve Kır ehir de ki ablam Sevil MERTO LU TOPARSLAN Kır ehirde ki evim olan Güvenç ELEKTRON K'e te ekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalı malarımda bana yardımcı olan Ar . Gör. Esin KIRAY'a ve manevi desteklerini esirgemeyen arkadaş larım M. Yunus Emre KARAMAN'a ve Hülya AV AR'a te ekkürlerimi sunarım.

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

Bu çalı ma Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projesi desteklenen PYO-TIP. 4001.15.008. kapsamında desteklenmi tir.

DEN Z ANLI

Ç İNDEK İLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TE EKKÜR.....	V
TABLÖLER DİZİNİ	IX
RESİMLER DİZİNİ	XI
SÖZGEÇ 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. Immünite.....	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 Bulunması.....	32
2.10. Klinik Belirti ve Bulgular.....	33
2.11. Komplikasyonlar.....	36
2.12. Tanı ve Tedavi.....	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 ARA TIRMASI.....	69
3.1. Süt ve Süt Ürünleri.....	69
3.2. Hayvanların Sekresyonları, plasenta, 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 Çözeltisi.....	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. TARTI MA VE SONUÇ.....	111
6.1. Sınırlılık.....	119
KAYNAKLAR.....	120
ÖZGEÇM	146

TABLolar D Z N

<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 Varlı ında Üreme Özellikleri (Akta , 2009)...	10
Tablo 2.3. <i>Brucella</i> Türlerinin Tanımlanması ve Identifikasyonu (Gülbaz, 2011)....	15
Tablo 2.4. <i>Brucella</i> Türlerinin ve Biyotiplerinin Ayırıcı Karakterleri (Ta kın, 2012)	16
Tablo 2.5. Mikroorganizmanın Farklı Ortam ve Ko ullarda Canlı Kalma Süresi (Abdelkareem, 2008).....	26
Tablo 2.6. Fiziko-Kimyasal Özellikler Açısından nek Sütünün Bile enleri (Sertta , 2006).....	29
Tablo 2.7. Süt Ürünlerinde <i>Brucella</i> spp. Ya am Süreleri (Abdelkareem, 2008).....	31
Tablo2.8. Bruselloz - Vaka ve Ölüm Sayıları, Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye, 2006-2015 (T.C. Sa lık Bakanlı ı).....	62
Tablo 4.1. Süt Örneklerinin Toplandı ı Yerlerin isimleri 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), Besiyerine Ekim ve Genel De erlendirme Bulguları.....	104
Tablo 5.4. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel De erlendirme Bulguları (Devamı).....	105
Tablo 5.5. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel De erlendirme Bulguları (Devamı).....	106

Tablo 5.6. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel De erlendirme Bulguları (Devamı).....	107
Tablo 5.7. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel De erlendirme Bulguları (Devamı).....	108
Tablo 5.8. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel De erlendirme Bulguları (Devamı).....	109
Tablo 5.9. Süt Numunelerine Yapılan Testlerin (MRT, RBT, STA), Besiyerine Ekim ve Genel De erlendirme Bulguları (Devamı).....	110
Tablo 6.1. 1 Bazında Sı ır 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 sokulma 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 hazırlanması.....	90
Resim 4.8. Serum fizyolojik tuzlu suyun hazırlanması (NaCL).....	91
Resim 4.9. Peynir mayası.....	92
Resim 4.10. Milk Ring test sonuçları.....	94
Resim 4.11. Süt serumunun çıkarılması.....	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

S MGE VE KISALTMALAR D Z N

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	mmünoglobülin
Kob	Koloni Olu turan Birim
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
S-LPS	Somatik- Lipopolisakkarit
CAT	Katalaz
RTD	Rutin Test Dilüsyonu

RES	Retikülo Endotelial 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	ndirekt Floresan Antikor Testi
IFT	mmünfloresan Testi
IHT	ndirekt Hemaglütinasyon Testi
RIA	Radioimmunoassay
WHO	Dünya Sa lık Örgütü
FAO	Gıda ve Tarım Te kilatı
OIE	Dünya Hayvan Sa lı ı Te kilatı
EU	European Union
ark.	Arkada ları

1.G R

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

Brucella spp.'nin neden oldu u brusellozis; sı ır, manda, deve, at, koyun, keçi, koç, domuz, köpek, a aç ratlarında, deniz memelilerinde vb. gibi hayvanlarda özellikle testis, meme, uterus gibi genital organlara yerle erek yavru atmalara ve infertiliteye neden olan kronik, bula ıcı ve nekrotik, yangısal enfeksiyonlarla ortaya çıkan zoonotik bir hastalıktır. *Brucella* cinsindeki etkenler evcil hayvanlarda önemli ekonomik kayıplara neden oldu u gibi enfekte hayvanların sütleri, süt ürünleri ile insanlara bula arak, insanlarda Malta Humması, Dalgalı Ate , Kayalık Ate i, Kıbrıs Ate i ve Bang hastalı ı olarak bilinen ve halk sa lı ı açısından önem arz eden hastalı a neden olmaktadır (Arda ve ark., 1997; Ta kın, 2007).

Brucella cinsi mikroorganizmalar; küçük, gram negatif, kısa çubuk veya kokobasil ekle sahip, hareketsiz, kirpiksiz spor olu turmayan bakteriler olup, *Parvobacteriaceae* familyasında yer almaktadırlar. Bu cinse mensup mikroorganizmaların boyutları 0,5-0,7x 0,6-1,5 µm civarında olup, flagella ta ımazlar ve hücre içi parazitlerdir. Genellikle kapsül olu turmazlar. Ancak hastalıklı canlıdan yeni izole edilen düzgün (S) karakterdeki kolonilerde, ince bir kapsülün bulundu u ortaya konulmu tur (Arda ve ark.,1992; Güllüce, 1993; Holt ve ark.,1994; Urçar, 2011).

Brucella cinsine ait mikroorganizmalar; aerofilik, karboksifilik ve oksidatiflerdir. Uygun artlar oldu unda, karbonhidratlı ortamda çok az fermentatif reaksiyon gösterirler. Aside dirençli de illerdir ve ekzotoksin olu turmazlar. Besiyerlerine karaci er 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 yava üreme gösterirler. Bu cinse mensup yedi tür bulunmakla birlikte (*Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella*

suis, *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.catacae*) 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 agarında gelişemediği, >%6 NaCl içeren karaciğer agarında 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 sırdan ve mandadan enfekte edilmesine rağmen bufalo, deve, geyik, köpek, at, koyun ve insanlarda da enfeksiyona neden olmaktadır. Ayrıca bu mikroorganizma yavaş yayılım gösterir ve yumuak huylu enfeksiyonlara neden olur (Sertta, 2006).

Brusellozis antropozoonozis (hayvanlardan insanlara bulaşan) bir hastalıktır. Bununla birlikte, insanlardaki brusellozis'in kaynağı hayvanlardır. Çalınan alan hayvansal endüstri kollarında olan insanlarda, hastalığın ortaya çıkması çoğunlukla enfekte hayvanların sütleri ve bu sütlerden hazırlanan ürünlerin tüketilmesi ile olmaktadır.

Türkiye’de beyaz peynir, tereya ı, krema (kaymak) ve dondurma gibi süt ve süt ürünleri sevilerek çok fazla tüketilmektedir. Özellikle krema, taze peynir ve tereya ı gibi ürünlerin pastörize edilmemi süttten üretildi i bölgelerde, bu durum önemli bir bula ma yoludur. Yine ülkemizde özellikle kaynatılmamı süttten yapılan peynir ve krema tüketiminin bir alı kanlık halinde devam etti i bir gerçektir ve bundan dolayı brusellozis olma riski çok fazladır (Akcan Kale, 2009).

Bruselloz; Birle mi Milletler Gıda ve Tarım Te kilatı (FAO), Dünya Sa lık Örgütü (WHO) ve Dünya Hayvan Sa lı ı Te kilatı (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonoz olarak kabul edilmi tir. Dünyada birçok ülkede bruselloz ile mücadele kampanyaları ba latılmı ve birkaç ülke sı ır brusellozunu büyük ölçüde mücadele etmeyi ba armı olmasına kar ın, koyun ve keçi brusellozu ise ba ta geli mekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir ekilde devam etmektedir. Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ülkeleri, Avustralya ve Yeni Zellanda’da yıllar süren yo un çabalarla bruselloz hastalı na kar ı büyük ölçüde özen gösterilmi tir. Buna kar ın bazı Güney Avrupa ülkelerinde, özellikle Akdeniz Bölgesi, Orta Do u, Batı Asya’nın geli mekte olan ülkelerinde, Hint Yarımadası, Afrika, Orta ve Güney Amerika’nın bir kısmında insan ve hayvanlarda yaygınlı nı sürdürmektedir. Akdeniz ülkelerinde ise bu enfeksiyon bir çok hastalık arasında ön sırada yer almaktadır. Türkiye’de ise hayvan bruselloz prevalansı sı ır popülasyonunda %1.43, koyun popülasyonunda %1.97 olarak tespit edilmi tir (Abdelkareem, 2008).

Türkiye’de 1984 yılından beri sürdürülmekte olan kontrol ve a ılıma programlarına ra men bazı illerde enfeksiyon oranının oldukça yüksek oldu u, hastalı nın yeterince kontrol altına alınamadı ı ve yaygın oldu u görülmektedir. Kesin tanı için; laboratuvar testlerine ihtiyaç duyulması, bildirim sistemi yetersizli i ve bildirimdeki duyarsızlık nedeniyle, Türkiye’de brusellozis prevalansını kesin olarak saptamak mümkün olmamakla birlikte son yıllarda bildirimlerde ve yapılan çali maların daha düzenli ve kontrollü olarak yapılması daha çok önem ta ımaktadır. Gerek hastalı nın sa lık açısından çok riskli olması ve gerekse günlük hayatta ciddi anlamda sorun olması çali maların önemini arttırmı tır (Abdelkareem, 2008).

Bruselloz daha çok kırsal kesimde, hayvancılıkla uğraşanlarda, mezbaha işçilerinin de, kasaplarda, veterinerlerde ve laboratuvar çalışanlarında görülmektedir. Ayrıca kaynatılmamış süt içme ve kaynatılmamış süttten yapılan taze peyniri yemeye alışık kanlıkları 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 alınmamasından 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 immün 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 ve tahsızlık, 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 Mİllattan 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 (Ata , 2006; Aydın, 2007).

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

1895 yılında Veteriner Hekim Bernard Bang Danimarka'da düşük etkeni olarak *Bacillus (Brucella) abortus*'u izole etmeyi başarmıştır (Ata , 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 oldu unu ve hastalı ın insanlara bula masında kaynatılmamı süt ve süt ürünlerinin sorumlu oldu unu saptamı tır (Gültekin, 2012).

Amerikalı bir bakteriyolog olan Alive Evans 1918 yılında, Malta Ate i ve Bang hastalı mın etkenlerinin birbiriyle yüksek oranda benzer oldu unu göstermi tır. Daha sonra bu iki türün kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri kıyaslanarak gerçekleştirilen çalı malar sonucunda bunların aynı cins içinde oldukları saptamı ve Sir David Bruce'nın anısına ithaf ederek bu cins bakteriler *Brucella* olarak adlandırılmı tır (Kara, 2011).

Ülkemizde ilk defa 1915 yılında Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi gören bir askerde *B. melitensis* izole edilmi tır. Hastalık ilk olarak Malta adasında tespit edildi inden “Malta Humması” veya “Akdeniz Humması” olarak adlandırılmı , klinik gidi teki tipik ate trasesi nedeni ile “dalgalı humma” da denilmi tır. Ülkemizde etkenin hayvanlardan insanlara bula ması nedeniyle bu hastalık “koyun hastalı ı” ya da “mal hastalı ı” gibi isimlerle de anılmaktadır (Kara, 2011; Gültekin, 2012).

1931 yılında sı ırlarda bruselloz ilk kez Zühtü Berke tarafından tespit edilmi tır. Koyun ve keçilerden 1943 yılında Golem, 1944 yılında da Köylüo lu ve Aktan *Brucella* cinsi bakterileri tespit etmi lerdir (Bilgehan, 2000). Ülkemizde insanlarda *B. canis*'in neden oldu u enfeksiyon ise ilk kez 1984 yılında köpeklerden yapılan izolasyon çalı ması ile belirlenerek bildirilmı tır (Ta kın, 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 uzunlu unda küçük, gram negatif ve daha çok iki er iki er uç uca durma alı kanlı nda olan kok, basil veya kısa

çomakçıklar eklindedir. Küçük oldukları için moleküler hareketlerle yerlerinde titrerler ki buna Braunien Hareketi denir. Kapsül ya da spor olu turmazlar, flagellaları yoktur. Hastalıklı canlıdan yeni izole edilen S tipi kolonilerde ince bir kapsülün bulundu u, pasajlarda ve R tipi kolonilerde bu kapsüllerin kayboldu u da saptanır. Bakteriyolojik boyalarla kolayca boyanırlar. Jelözdeki 2-3 günlük kolonileri küçük, yuvarlak, kabarık, saydam, kaygan, S (smooth) eklindedir. Eski kültürlerdeki kolonileri yassı, daha büyük çapta, mat, granüllü bir yüzeye sahip, R formundadır. Bu iki ana S ve R (rough) formundan ba ka, intermedier (i) ve mukoid (M) özellik gösteren koloni varyasyonları da bulunmaktadır. Ayrıca *Brucella* türlerinin antibiyotik ve kimyasal maddelerden etkilenmeleriyle L formlarında meydana geldi i saptanmıştır (Ata , 2006; Ta kın, 2007; Parın, 2008; Araso lu, 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 de eri ise 6.6-7.4 aralı ıdır. inkübasyondan 2-3 gün sonra koloniler görülebilir, 4-5 gün sonra 2-3 mm büyüklü e ula ır. Hemoliz yapmazlar ve pigment olu turmazlar. effaf besiyerlerinde çok açık bal sarısı, konveks, düzgün kenarlı, effaf, küçük, su damlası gibi, parlak koloniler olu tururlar. *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 de ildir ve ekzotoksin olu turmazlar. Organik kükürtlü bile ikleri parçalamaları sonucunda H₂S olu tururlar. *B. suis* 3-5 gün (uzun süre) ve en fazla miktarda olu tururken, *B. abortus* 2 gün (ortalama süre) ve normal miktarda, *B. melitensis* ise 1 gün (az süre) ve en az miktarda H₂S olu turdu u ya da bazen hiç olu turmadı ı belirlenmiştir (Özgür, 2006; Ta kın, 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 Laktöz fermantasyonu	-	-	-	De i ken	De i ken	-
Glukozlu agarda asit üretimi	-	-	-	-	De i ken	+
Kanlı agarda hemoliz	-	+	-	De i ken	De i ken	-
Katalaz	+	+	+	De i ken	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	-	-
Üreaz	+	+	-	De i ken	De i ken	+
Nitrat üretimi	+	+	+	De i ken	-	+
Sitrat kullanımı	-	+	-	-	De i ken	-
<i>S-Brucella</i> antiserum ile agglütinasyon	+	-	-	-	-	+
<i>R-Brucella</i> antiserum ile agglütinasyon	+	-	-	-	-	-

2.2.3 Antijenik Yapısı

Somatik-lipopolisakkarit (S-LPS) antijenleri ve dış membran proteinleri hariç *Brucella* antijenleri tüm su larda ortak komponentlere sahiptirler *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis*' in lipopolisakkaritlerinin A (*abortus*) ve M (*mellitensis*) olarak adlandırılan 2 farklı antijenik determinanı vardır. Bu determinantlar etkenlerin identifikasyonunda kullanıldı ı 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 epitoplarna spesifik monoklonal veya poliklonal antikolar 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 oldu u 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 oldu u gibi; en içte sitoplazma membranı, bunu çevreleyen sert peptidoglikan tabakası ve fosfolipid-LPS-proteinleri (OMP) içeren dış membrandan (OM) meydana gelir. Bazı su larda ayrıca yüzeyel L zarf antijeni varlı ı ortaya konmu tur. 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 özelli i 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 hacindedir. Bu farklı yapılar üç lokulusun arasındaki olası iki rekombinasyon ürünlerine bağlı olabilir (Young ve ark.,1991; Boschirolu ve ark.,2001; Akta , 2009).

Brucella genusunda plazmite rastlanmaz ancak konjugatif transferden sonra konağın plazmitlerinden etkilenirler. DNA'larının G+C içeriği %55-58 mol'dür. DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları %95'in üzerinde homoloji olduğunu 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; Akta , 2009).

Vergler 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 kullanılacak nükleotid farklılıklarını ortaya koyduklarını ileri sürmüşlerdir (Vergler ve ark.,1985; Cloeckert ve ark.,2003; Akta , 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 edildi i halde, thioninden etkilenmez (Güllüce 1993; O uzkaya 1995; Garrido-Abellan, 2001; Araso lu, 2010).

In-vitro ortamda primer izolasyon da *Brucella* türleri, gentamisin, tetrasiklin ve rifamisin antibiyotiklerine kar ı duyarlıdır. lave olarak ampisilin, kloramfenikol, kotrimakzol, eritromisin, kanamin, novobiyosin, spektinomisin ve streptomisin antibiyotiklerine de duyarlılık gösterirler Ancak bunun iddeti türler arasında, biovarlar ve su lar da de i kenlik 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; Araso lu, 2010).

Tablo 2.2. *Brucella* Türlerinin Boya Varlı ında Üreme Özellikleri (Akta , 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 Duyarlı ı

Brucella fajları tarafından yapılan lizis, *Brucella* türlerinin tanımlanması ve do rulanması için kullanılan yararlı bir testtir. Kırkın üzerinde *Brucella* fajının *Brucella* üyeleri için litik oldu u rapor edilerek bildirilmi tir. Bütün fajlar *bu* cins için spesifiktir ve test edilen di er bakterilere kar ı aktivitelerinin olmadı ı onlara özel oldu u 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; Ta ı 2004; Araso lu, 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 sıcaklığı 37°C ve pH 6.6-7.4 tür. Genel besiyerlerinde üremeleri güç olduğundan üremeleri için özel besiyerlerine ihtiyaç duyarlar. Besiyerlerine glukoz, asities, karaciğer ekstresi, kan, serum veya protein katılması üremeleri üzerine olumlu etkide bulunur. Yine çoğalmasını artırıcı bir faktör olarak eritrolde kullanılmaktadır (Gülbaş, 2011).

Brucella etkenlerinin kültürleri için, çoğunlukla katı besiyerleri kullanılır. Bunun sebebi ise katı besiyerleri koloni oluşmasını sağlamasının 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; Atta ve ark.,2000; Gülbaş, 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 ışıkta hafif mavimsi yeşil renkte verirler. Koloniler 6-7 günlük bir inkübasyon sonunda matlaşır ve ayrılmaya başlarlar. R koloni formları 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 mukoid (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 bulundu u da bildirilmektedir. Sıvı besiyerinde üreme hem zor olur hemde yava olur. Bu yüzden sıvı besiyeri çok tercih edilmez üreme olsa bile homojen bir bulanıklık yaparak dipte yumurta akı benzeri tortu olu tururlar (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 ilemeden 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 dışında 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 (Ata , 2006; Rüstemo lu, 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 (Sertta , 2006; Parın, 2008; Rüstemo lu, 2011).

Rutin test dilüsyonunda Tibilisi fajı *B. abortus*'un S kolonilerini tamamen lizise uğratır, *B. melitensis* ve *B. suis* kültürlerinde herhangi bir de i iklik olu turmaz. Tibilisi fajı *B. abortus*, Weybridge fajı *B. abortus* ve *B. suis*, Berkeley fajı ise *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis* üzerinde etkilidir. (Ata ,2006; Rüstemo lu, 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, buffalo) görülmektedir. Sığırlarda yavru atma hastalığının etkeni olup koyun, keçi, domuz ve insanda da enfeksiyon olabilir. Hastalık bir veya daha fazla belirtilerle karakterizedir: yavru atma, plasentanın atılmaması, oritis, epididimitis, bununla birlikte nadir olarak sütle ve uterus akıntılarıyla organizmanın atılımı sonucu arthritis görülür (Gülbaş, 2011)

Bazı biyotipler ilk zolasyonlarda % 10 CO₂'e ihtiyaç duyarlar. Katalaz ve oksidazları pozitifdir. Genellikle H₂S üretirler. Üreyi hidrolize edebilirler, ancak bazıları üreyi hidroliz etmeyebilir. Thionin varlığında üremez iken bazılarında fuksin, metilviyole, pyronin, safranin varlığında ürerler. Nitratları nitrite indirgerler. S tipi koloniler A, M veya hem A hem M yüzey antijenleri içerebilir. Spesifik antiserumları aglutine 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 olabilir fakat sığırları da enfekte edebilir. İnsanlarda da Malta Humması adlı hastalığının 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 karışık olarak tırdınlarda 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 su lara göre de i kenlik göstermektedir. Oksidaz ve katalaz pozitiftir (Aydın, 2007; Rüstemo lu, 2011).

B. ovis; Tipik olarak koçların or itis etkenidir. Koyunlarda da bazen hastalı a neden olmaktadır. Bu türün insanlarda enfeksiyon olu turdu u saptanmamı tır. İlk izolasyonlarında CO₂'e gereksinim duyarlar. H₂S reaksiyonu negatiftir. Katalaz pozitif, oksidaz ise negatiftir (Abdelkareem, 2008). Di er türlerin tersine üreyi hidrolize etmezler. Metil viyole ile inhibe olurlar. Tiyonin ve bazik fuksin varlı nda üremektedirler. Ayrıca nitratı nitrite indirgemezler (Ta kın, 2012).

B. canis; Karakterize olarak köpeklerde enfeksiyon olu turan bu etken, insanlarda da hastalık meydana getirebilmektedir. Üremeleri için CO₂'e ihtiyaç duymazlar ve H₂S testi ise negatiftir. Katalaz ve oksidaz da pozitiftir. Üreyi çok çabuk hidrolize etme özelli indedirler (Abdelkareem, 2008; Ta kın, 2012).

B. neotomae; Karakterize olarak Ratlarda (çöl faresi) bulunan ve Ratlardan enfekte edilen bu etkenin insan ve hayvanlarda hastalık meydana getirdi i henüz bildirilmemi tir. Üremeleri için CO₂'e ihtiyaç duymayan etken H₂S olu turmaktadır. Yine katalaz pozitif, oksidaz ise negatiftir. Üreyi çok çabuk hidrolize ettikleri tespit edilmi tir (Aydın, 2007; Ta kın, 2012).

B.inopinata; Bu türün karakterize olarak konakçısı u denilememektedir. Yapılan son çalı malarda di er *Brucella* cinslerinden farklı oldu u gerek faj duyarlılı ı gerek besiyerlerinde üremesinden *B. inopinata* olarak bildirilmi tir (Foster ve ark., 2007; Whatmore, 2009; Ta kın, 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 ara tırmalara göre bu hayvanlardan izole edilen türlerin, omp2a ve omp2b genlerindeki DNA polimorfizmine göre kara memelilerinden izole edilen türlerden farklı oldukları ortaya konularak bu ekilde deniz memelileri *Brucella* türleri sınıflandırılması yapılmı tır. Bu çalı maya göre 7 adet kara, 3 adet deniz memelisi olarak *Brucella* sınıflandırılması yapılmı tır (Aslan, 2014).

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

Tür	Biyotip	Konakçı	Tanımlayan	Tür identifikasyonu
<i>B.melitensis</i>	1-3	Koyun Keçi Deve	Bruce,1887	Fuksin(+) Thionin(+) Safranin inhibisyonu (-) H2S üretimi (-) Üreaz 24 saatte (+) CO2 üretimi (-) Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (-)
<i>B.abortus</i>	1-9	Sı rır Deve Manda Bufola	Bang,1897	Fuksin(+) (Biyotip 2 hariç) Thionin-(Biyotip 1,2)Safranin inhibisyonu (-) H2S üretimi (+),(Biyotip 5 hariç) 24 saatte üreaz(+), CO2 üretimi (+)(Biyotip 1-4) Tibilis faj lizis (+) Weybridge faj lizis (+)
<i>B.suis</i>	1-5	Domuz Yabanıtav an Ren geyi i Karibu kemiriciler	Traum,1914	Fuksin(-)(biyotip-3 hariç)Thionin(+) Safranin inhibisyonu (+) H2S üretimi (+)(biyotip-1) Üreaz 15 dakikada (+) CO2 üretimi (-)Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (+)
<i>B.canis</i>	--	Köpek giller	Carmichael, Bruner,1968	Fuksin(+,-) Thionin(+) Safranin inhibisyonu (-) H2S üretimi (-) Üreaz 15 dakikada (+) CO2 üretimi (-)Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (-)
<i>B.ovis</i>	--	Koyunlarda	Van Drimmelen,1953	Fuksin(-) bazı türler için Safranin inhibisyonu (-) H2S üretimi (-) üreaz (-) CO2 üretimi (+) Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (-)
<i>B.neotomae</i>	--	Kemirgenler	Stoenner, Lackman, 1957	Fuksin(-) Safranin inhibisyonu (-) H2S üretimi (+) Üreaz15 dakikada (+) CO2 üretimi (-) Tibilis faj lizis (+,-) Weybridge faj lizis (+) B
<i>B.delphini</i> <i>B.pinnepediae</i> <i>B.cataceae</i>	--	Balina Yunus Domuz balı ı Fok	Ewalt, Ross,1994	Fuksin(+) Thionin(+) Safranin inhibisyonu (-) H2S üretimi (-) üreaz (+) CO2 üretimi (-)Pinnepediae CO2 üretimi (+)cetaceae Tibilis faj lizis (-) Weybridge faj lizis (+)pinnepediae Weybridge faj lizis (-)cetaceae

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

Biyotip	Biyotip	CO ₂	H ₂ S	Üreaz	Boyalarda üreme					Aglütinasyon			Tb-RTD, Faj, Duyahlık	Konakçı
					B.Fuksin		Thionin			Anti A	Anti M	Anti R		
					b	C	a	B	C					
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	D	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Koyun, Keçi, insan
	2	-	-	D	+	+	-	+	+	+	-	-	-	
	3	-	-	D	+	+	-	+	+	+	+	-	-	
<i>B. abortus</i>	1	+	+	1-2h	+	+	-	-	-	+	-	-	-	Sı ır
	2	+	+	1-2h	-	-	+	-	-	+	-	-	+	
	3	+	+	1-2h	+	+	-	+	+	+	-	-	+	
	4	+	+	1-2h	+	+	-	-	-	-	+	-	+	Manda
	5	-	-	1-2h	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
	6	-	-	1-2h	+	+	-	+	+	+	-	-	+	
	7	-	+	1-2h	+	+	-	+	+	+	+	-	+	nsan
	8	+	-	1-2h	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
	9	-	+	1-2h	+	+		+	+	-	+	-	+	
<i>B. suis</i>	1	-	+	0-30dk	-	-	+	+	+	+	-	-	-	Domuz, insan, Ren geyi i, 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,, insan

2.4. Bula ma Yolları

2.4.1. Hayvandan bula ma yolları

Hayvanlar arasında bula ma genellikle fetus, fetal membranlar, yavru atan hayvanların vajinal akıntıları, plasenta artıkları ve amniyon sıvılarıyla olmaktadır. enfekte gebe hayvanlar yavru atarken veya do um yaparken, özellikle fetus, fetüse ait sıvılar, amnion ve plasenta aracılı ı ile hastalık etkeninin çevreye yaymasıyla bula maya neden olurlar. nfekte uterus akıntıları ve idrarla bula ık olan kuyruk, di er hayvanların deri ve konjiktivalarına etkeni bula tırabilmektedir. Brusellozli ineklerin ço u yavru attıktan haftalarca ve hatta aylarca sonrasında hastalık etkenini sütleri ile çıkarırlar. Testisleri iltahaplı olan infekte bo alarda, infekte sperma aracılı ı ile sa lam di ilere etkeni dölenme yoluyla bula tırabilirler. Hastalı ın naklinde sinek, sivrisinek, tahtakurusu, kene, pire gibi böcek grubu ve bunun yanı sıra yabani tav an, sıçan gibi hayvanlarında rolünün oldu u bildirilmektedir (Sertta , 2006; Ta kın, 2007; Parın, 2008; Rüstemo lu, 2011).

Enfekte gebe sı ırların uterus içeri i ile fötüs ve fötal zarlarda yo un bir ekilde bulunan etken (genellikle *B. abortus*), do um sırasında plasenta, fötal sıvılar ve süt aracılı ı ile çevreye yayılır. *B. abortus* gebe sı ırlarda enfeksiyondan sonra yakla ık 11. günden itibaren çevreye yayılmaya ba layarak, do umun veya dü ü ün ardından 15. güne kadar yayılmaya devam eder (Philippen ve ark., 1970; Aslan, 2014).

Sı ırlarda bula ma ise genelde deri, konjunktiva, solunum sistemi mukozası ve gastrointestinal sistemin kontaminasyonu ile gerçekte mektedir (Neta ve ark. 2010). *Brucella* ile enfekte ratların, sı ırlara ve insanlara bula mada önemli bir kaynak oldu u rapor edilerek bildirilmi tir (Baek ve ark., 2005; Aslan,2014).

Ara tırcılar ratlar arasında bula manın özellikle enfekte erkek ratlardan, enfekte olmayan di i ratlara çiftle me yolu ile gerçekte ti ini saptamı lardır (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 peynir 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 aının kazayla konjüktivaya sıçramasıyla da *Brucella* bulaşması gerçekleşebilir (Sertta, 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 fetal 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 sınırlı 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. mmünite

Brucella enfeksiyonlarına karşı geli en do al ba ı ıklıkta Toll benzeri reseptörler (Toll-like Receptors/TLRs) lipit, protein, lipoprotein, glikan ve nükleik asitler gibi patojen ili kili molekül desenleri (Pathogen-Associated Molecular Patterns/PAMPs) tanıyarak, proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesi ve kostimülatör moleküllerin açıklanmasında etkili oldu u bildirilmi tir (Takeuchi ve Akira, 2010; Aslan, 2014).

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

B.abortus TLR2 geni silinmi (knock out) farelerde, TLR-2 ile immün sistemin uyarılması by-pass edildi i için TLR-4 ile Omp16 dı membran proteini etkile erek immün sistemi uyarır. TLR-6'nın in-vivo olarak immün yanıtın tetiklenmesinde, dentritik hücrelerin aktivasyonunda ve TNF- ile IL-12 sitokinlerinin salınmasında gerekli oldu u rapor edilmi tir (Aslan, 2014).

Yapılan deneysel enfeksiyon çalı malarında, 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) ile IL-12 sitokinlerinin salınımını uyararak reseptörlerden biri oldu u belirlenmi tir. NOD (Nükleotid-Ba lama Oligomerizasyon Domaini) benzeri reseptörler (NOD1, NOD2) *B.abortus*'un mikrobiyal yapılarının tanınmasında görevli sitolitik hücre içi reseptörlerdir Yapılan çalı malarda NOD1 ve NOD2 gen bölgeleri silinmi farelerin dalaklarında bulunan bakteriyel yükün, normal fareler ile aynı oldu u saptanmı tır. Bu durumu ara tırıcılar NOD benzeri reseptörlerin *Brucella* enfeksiyonlarına karşı immün cevapta sinyal olu turdu unu fakat in-vivo olarak enfeksiyona karşı geli en konakçı savunmasında esansiyel rol oynamadıkları ekinde yorumlayarak rapor etmi lerdir (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, do al öldürücü (Natural Killer/NK) hücreleri aktive olurlar ve IFN-

salgılamaya ba larlar. NK hücreleri immün yanıtta önemli olan IFN- salgılama ve enfekte hedef hücrelerin öldürülmesi özelliklerine ra men, farelerde yapılan deneysel *B.abortus* enfeksiyonlarının erken safhasında NK hücrelerinin önemli bir rol oynamadı ı bildirilmi tir (Fernandes ve ark., 1995; Biron, 1999; Aslan, 2014).

Brucella enfeksiyonlarında NK hücrelerinin poliklonal antikor olu umuna katkı sa ladı ı fakat bu katkının direkt B hücrelerini etkileyerek mi yoksa indirekt bir etki ile mi ekillendi i tartı ılmaktadır. Takip eden yıllarda yaptıkları çalı malarında NK hücrelerinin direkt olarak B hücreleri ile etkile ime girdi ini ve poliklonal IgG uyarımını sa ladı mını belirlemi lerdir. *B. abortus*'un ASH fonksiyonları üzerine etkilerinin belirlenmesi için yapılan çalı malarda bakterinin in-vitro olarak insan monositlerinden TNF- , IL- ve IL-6 salgılanmasını tetikleyerek uyardı ı saptanmı tır (Huang ve ark., 1999;Gao ve ark., 2008; Gao ve ark., 2011; Aslan, 2014).

B.abortus ile enfekte edilen farede, dentritik hücreler dala ın T hücrelerden zengin kırmızı pulpasına göç eder. Bu bölgede IL-12 salgısına enfeksiyonun ardından yakla ık 2 saat sonra rastlanırken, en yüksek seviyeye 8. saatte ula tı ı ve 24. saatte ise tespit edilemedi i rapor edilerek bildirilmi tir (Golding ve ark., 2001; Aslan, 2014).

Brucella etkenlerinin vücutta persiste (virüsün ya am boyu elemine edilememesi) kalarak kronik enfeksiyona yol açma mekanizmaları pek çok ara tırcı tarafından incelenmi tir. In-vitro çalı malarda insan hücrelerinde *Brucella* etkenlerinin ASH hücrelerin fonksiyonlarını de i tirerek immün sistemden kaçtı ı saptanmı tır. Akut *Brucella* hastalarında makrofaj hücrelerinin antijene cevap amaçlı kemotaksisinin azaldı ı, fagolizozom füzyonun baskılanarak *Brucella* içeren vakoullerin olu umunun arttı ı ve fagositozun engellendi i belirlenmi tir. Bunun yanında T hücrelerine antijen sunumu ile TNF- ve IL-12 üretimi baskılanmaktadır (Oliveira ve ark., 2012; Gomes ve ark., 2012; Aslan, 2014).

Brucella enfeksiyonlarında geli en Th1 immün cevabında antijen spesifik CD4+/CD8+ T lenfositlerinden salgılanan IFN- ve IL-2 miktarı kronik enfeksiyonlarda azaldı ı gözlemlenmi tir (Oliveira ve ark., 2012; Aslan, 2014).

Son yıllarda yapılan çalı malarla immün sistemin yeni hücre alt tipleri ke fedilmi tir. 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 ekillenmesinde Treg hücrelerin önemli bir yeri oldu u belirlenmi tir. Treg, IL-10'un *Brucella* ile enfekte makrofajların proenflamatuar sitokin salınımını azaltarak *B.abortus*'un hücre içinde ço almasını, persiste kalmasını ve kronik enfeksiyon olu turmasını sa ladı ı yapılan çalı malarla tespit edilmi tir (Xavier ve ark., 2013; Aslan, 2014).

Brucella enfeksiyonlarında patojen-konakçı etkile imi üzerine yapılan çalı malarda, microRNA (miRNA) olarak adlandırılan küçük endojen (ribonükleik asit) RNA moleküllerinin post-transkripsiyonel safha ile apoptozis ve otofaji gibi programlı hücre ölüm mekanizmalarında etkin rol oynadı ı belirlenerek bildirilmi tir (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, kona ın fagositik hücreleri içerisinde ço alabilirler. Etkenin fagositik hücreler içinde ya ayıp ço almasında etkili oldu u ileri sürülen savunma mekanizmaları arasında fagolizozom füzyonunun engellenmesi (hücre duvarında bulunan LPS'lerin olu turdu u adenin ve guanin monofosfat gibi maddeler aracılı ıyla) lizozomal enzimlere direnç göstermeleri, konaktan hidrojen peroksit (H₂O₂) üretiminin önlenmesi ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitesine sahip olmaları ile reaktif oksijen metabolitlerini uzakla tırarak oksidatif yıkımlara kar ı koymaları etkileri arasında sayılabilir. Hücre içerisinde üremekte olan bakteri, aynı zamanda antikor tehtidinden ve kullanılan antimikrobiyal ajanlarda uzun süre korunmu 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; Ta kın, 2012).

Brucella bakterileri enfekte etti i konakta hem hücrenel hem de hümoral immün yanıt meydana getirir. Humoral immünite enfeksiyona kar ı korunmada etkili iken, bakterisidal fazda, hücrenel immünite daha önemli bir görev almaktadır. Enfeksiyonun kontrolü ve yok edilmesi, T lenfositlerden salgılanan lenfokinlerin makrofajları aktive etmesi ile sa lanır. Hastalı ın 7-10. günlerinden itibaren duyarlı lenfositlerden salınmaya ba lanan lenfokinler makrofajları uyarmakta, intrasellüler mikroorganizma öldürme i lemi hızlanmakta ve gecikmi tipte a ırı duyarlılı ın da geli imi ile organ granülomlarında meydana gelmektedir (Ta kın, 2012).

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

Mide asidini nötralize edici ilaç veya diyetler ile midenin pH'sı de i ti i durumlarda, mikroorganizma geçi i benzer ekilde gerçekleşir. *B.ovis*'in üreaz negatif oldu u, bu nedenle hayvanlar arasında bula manın genellikle cinsel temas ile gerçekleşti i bildirilmektedir (Corbel ve Hendry, 1985; Aslan, 2014).

Mide'yi geçen *B. abortus*, ba ırsak mukoza epitelinde bulunan ve transepitelyal membran transportunda aktif role sahip M-hücrelerine (Microfold Cells) affinite duyar. Bir ara tırmada *B. abortus*'un, BALB/c ve C57BL/6 farelerinde M-hücreleri apikal yüzeyinde bulunan hücrenel prion proteini (PrPC) bir reseptör olarak kullandı ı ve konak hücreye bu yolla girebildi i yaptı ı çalı mayla tespit ederek bildirmi tir. ntra-epitelyal fagositler *B. abortus*'un lamina propria ve submukozasına trans-epitelyal göçünü ve ta ınmasını sa lar. Oponize olan *B. abortus* komplemant veya Fc reseptörleri ile, oponize olmayan *Brucella* ise lektin ve fibronektin reseptörleri aracılı ı ile etkile ime 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) etkile imi sonucu bakteri konak

hücre içine girerek, erken fagozomu oluşturur. Opsonize bakterilerde, aktif makrofaj içerisinde erken fagozomlar, lizozomlar ile birleşerek fagolizozomları oluştururlar. Fagolizozomların asidik yapısı opsonize 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, attenué *Brucella* strain 19 (S19) suunun hücreleri enfekte edebilmesine rağmen, etkin enfeksiyonun geçiş amaçlarında *Brucella* içeren kompartmanların lizozom ile birleşmesi sonucu oluşan otofagozomlar içerisinde yıkılırlar. Opsionize olmayan *Brucella*, LPS'in O zinciri ile makrofaj yüzeyinde bulunan lipit 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 retikulümda 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 ekillenmeye 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 Tsohis, 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 baskıladıysaptanmıştır. Bu etkiler ile *Brucella* interferensi sağlanırken, hücre içi çoğalma ve in-vivo persistenli in desteklendiği rapor edilmiştir. Bu amaçla *Brucella* içeren vakuol

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

Olmuş endoplazmik retikuluma bağlı kompartmanlar, *Brucella*'nın makrofaj, epitel hücre hatları ve plasental trofoblastlarda hücre içi replikasyonu için uygun alanlar oluşur. *Brucella* bu mekanizma ile retikuloendotelial sistemin fagositik hücreleri ile fagositik hücre özelliğini 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 aldehyd 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. Ayrıca ara tırcılar *B. abortus*'un virülens ve patogeneğinde etkili olduğunu tespit ettikleri BetB geni silinmiş mutant *Brucella* suyunun Brusellozisin kontrolünde canlı ağı olarak kullanılabilirliğini rapor edilerek bildirmişlerdir (Lee ve ark., 2014; Aslan, 2014).

Brucella etkenleri sıyrırlarda 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 sıyrırl trofoblastik hücrelere, lenf düğümleri, gebe uterus, testisler, tendon 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 yırtılmaları eklenir. Sıyrırların ve mandaların fetal zar ve plasental trofoblast hücrelerinden gebeliğin son trimesterinde salgılanan ve 4-karbon aldehyd yapılarındaki 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 deşiklikler meydana getirdiği belirlenmiştir. Meydana gelen deşiklikler sonucu fetusun beslenme ve gelişmesi engellenerek fetal

ölüm ve dü me vakaları gerçekte ir (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 olu an dejenerasyon ve yıkımlanma sonucu meydana gelen fibrinopurulent eksudat fetal ve maternal zarlar arasındaki ba lantının gev emesine ve fetal membranın ayrılmasına neden olur. Böylece fetusun dü mesi gerçekte ir. nsan plasentasında eritritol bulunmaz ve bundan dolayı insanlarda, *Brucella* enfeksiyonlarına ba lı dü melerin meydana gelmedi i rapor edilerek bildirilmi tir (Aslan, 2014).

2.7. Dirençlilik

Brucella türleri ısı ve dezenfektanlara kar ı dayanıksız olup, 60°C' de ısıtmakla 10 dakikada, 72°C'de 15 sn. içinde 100°C'de ise hemen ölürlür. laveten %2'lik formol, %1'lik lizol eriyi inde 15 dakikada ölmektedirler. Pastörizasyon esnasında çabuk ölmelerinin epidemiyolojik de eri vardır. Bu yüzden usulüne uygun olarak yapılan pastörize sütlerden hazırlanan peynir, tereya ı, krema gibi süt ürünlerinden bruselloz bula ma riski en aza indirilmi 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, so utulmu etlerde 14 gün ya adı ı, tereya ında 142 gün canlı kaldı ı bilinmektedir. Koku mayla canlılıklarını kısa sürede kaybederler. Tuzlanmı domuz etinde 3 hafta, çeme suyunda 8°C'de 57 gün, 25°C'de ise 10 gün canlılı ını korudu u, insan idrarında en az 7 gün, hayvan dı kısında açıkta 100 gün, ahırların duvar ve dö emesinde 4 ay canlı kaldı ı bildirilmi tir. Güne görmeyen toprakta 10 haftadan, gübrede 2 yıldan, 48°C'de saklanan keçi peynirinde ise 6 aydan daha uzun süre ya adı ı bildirilmi tir (Arda, 1997; Ta kın, 2007; Ta kın, 2012).

Brucella kültürleri ise buzlukta 3-6 ay kadar canlı kalabilir. Dü ük yapmı hayvan fetüsünde 75 gün, enfekte kaynatılmamı süttten yapılmı dondurmada 30 gün ya ayabilir. Tulum ve ka ar peyniri uzun süre bekletildi i için, yo urt ise asiditesi fazla oldu undan hastalı ı bula tırma riski çok dü üktür ya da bula tırmazlar. 0°C'de 2.5 yıl, dondurulmu dokularda birkaç yıl, nemli toprakta 60 gün ve 20°C'de % 40 nemli ortamda 144 gün canlı kalabilir. Etlerin normal dinlendirilmesi süresince

olu an pH de i ikli i (asitlik) ette bulunabilecek *Brucella* mikroorganizmalarını yok edilmesinde etkili ve yeterli oldu u bildirilmektedir (Arda,1997; Bilgehan, 2004; Ta kın, 2007; Ta kın, 2012).

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

ORTAM	Canlı kalma süresi
Çe me suyu 8 C PH 6,5	2 ay
Dondurulmu Doku	Birkaç yıl
Nemli Toprak	2 ay
drar	1 ay
Dı kı	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 Varlı ı

Günümüze kadar yapılan çalı maların sonuçlarına göre; *Brucella* türlerinin de i ik süt ve süt ürünlerinde farklı iç ve dı faktörlere ba lı olarak kalma sürelerinin de i ti i ve uzun süre canlılıklarını devam ettirdi i ve bu yönüyle relatif dirençli bakteriler oldukları bildirilmi tir. *B. melitensis*'in sütte 11–15°C'de 15 gün, kıımızda 3 gün; *B. abortus*'un sütte 0°C'de 18 ay, dondurmada 30 gün, tereya ında 142 gün, kremada 4°C'de 6 hafta, Cheddar türü peynirlerde 6 ay canlı kalabildi i gözlenmi tir. Peynir çökelek halinde bekletildi i zaman *Brucella*'nın ya am süresi peynire göre daha fazla oldu u 3 aya kadar uzadı ı bildirilmi tir. *Brucella* sp.'nin, keçi sütünden yapılan peynirlerde 100 günden fazla canlı kaldı ı, 4.4°C'de depolanmı peynirlerde 6 ay ile 1 yıl arasında canlı kaldı ı belirlenmi tir. Koyun ve keçi sütlerinde bulunan *Brucella* daha uzun süre ya adı ı ve yok etme i lemi bu yüzden de uzun sürmektedir. *Brucella* spp.'nin, sütte haftalarca, tereya ında 4 ay ve beyaz peynirde 2.5-3 ay canlı kalabildi i belirtilmektedir (Akcan Kale, 2009; Urçar, 2011).

ngiltere’de yapılan bir çalı mada *B. abortus* ile enfekte süte kısa süreli yüksek Isı (High Temperature Short Time) pastörizasyon uygulaması sonucu etkenin canlılı ını kaybetti i belirlenmi tir. Ayrıca, oda sıcaklı ında bekletilen kaynatılmamı sütlerde *B. abortus* varlı ı belirlenmi ve süt serumunda zaman içinde pH d mesine ba lı olarak, etkenin 4 gün içinde yıkımlandı ı tespit edilmi tir. Ancak, kaynatılmamı sütler 5°C’de saklandıklarında pH d mesinin yava geli mesine ba lı olarak etkenin ya am süresinin 6 gün, sitrik asit/fosfat buffer (pH 4.0 ve üzeri) solüsyonunda depolandıklarında etkenin ya am süresinin 8 günden fazla oldu u saptanmı tir (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 olgunla tırılan beyaz peynirlerde etkenin 46 gün, ayrıca % 17 tuz içeren salamurada olgunla tırılan peynirlerde 30 gün canlı kalabildiklerini bildirmi tir. Böylece beyaz peynirlerin en az 60 gün süre olgunla tırılması ile canlılıklarını yitirdiklerini yapılan çalı malarda tespit etmi lerdir.

Balıkesir bölgesinde üretilen krema ve beyaz peynirlerde *B. melitensis*’in canlı kalma süresi ile ilgili yapılan bir çalı mada; fermente olmu peynirlerin *Brucella* içerdi ini ve imalattan 90 gün sonrasına kadar bu peynirler ile kobayların enfekte edilebildi i bildirilmi tir. Kaynatılmamı sütten yapılan peynirlerde *Brucella* etkenlerinin 90 güne kadar canlı kalabildi i tespit edilmi tir. Kaynatılmamı sütle hazırlanan gıdaların en az 120 gün so uk depolarda bekletildikten yani kaynatılmamı sütten yapılan ürünün dinlendirilmesiyle ve dinlendirildikten sonra tüketime sunulması durumunda insanların bu hastalıktan etkilenme riskinin daha az oldu u ya da hastalıktan korunabilece i de saptanmı tir. Ayrıca e itli süt ve süt ürünlerinde bulunan *B.melitensis* türlerine pH’nın etkisini de incelemi lerdir. Çalı mada pH 5.5 ve üzeri broth’larda *B. melitensis*’in 4 haftadan daha fazla sürede ya adı ı, pH 4.0’dan daha dü k broth’larda geli emedi i bildirilmi tir. Özellikle yumu ak peynirlerde 72 saat sonra *B. melitensis* varlı ı tespit edilirken, di er süt ürünlerinde (süt, yo urt ve yayık ayranı) 96 saat sonra etken gzlenememi tir. Yine Kaynatılmamı sütten yapılan taze peynirlerde *Brucella* etkenlerinin 90 güne kadar canlı kalabildi i belirlenmi tir (nel ve ark., 1968; Urar, 2011).

nek sütüne oranla kaynatılmamı koyun sütünden yapılan peynirlerin brusellozis yönünden insan sa lı ını daha çok tehdit etti i ve yok edilmesinin daha zor oldu u bildirilmi ve bu durumun özellikle Akdeniz ülkelerinde hala sorun oldu u saptanmı tır (Urçar, 2011).

nsanlarda gözlenen *B. abortus* enfeksiyonunun % 60'ının brusellozis'e yakalanmı hayvanlarla temas sonucunda, % 40'ının ise hastalıklı hayvanların sütlerinin içilmesi veya bu sütlerden hazırlanan ürünlerin tüketilerek enfeksiyon olu turdu u belirlenmi tir (Akcan Kale, 2009).



Tablo 2.6. Fiziko-Kimyasal Özellikler Açısından Sütünün Bileşenleri (Sertta , 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, lanosterol, 7-dehidrokolesterol	0.1 g
1.4	Gliseridler Monogliseridler, Digliseridler	0.15-0.22 g
1.5	Ya da 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 -Kazein, α -Kazein, β -Kazein	28-32g
2.2	Albümin -Laktalbümin, Serumalbümin Laktoglobulin-A, Laktoglobulin-B	1.3g
2.3	Globulin	0.3g

Euglobulin, Pseudoglobulin

Yağ globülin proteinleri

2.4 Enzimler

Katalaz, Peroksidaz, Ksantinoksidaz, Fosfataz

Aldolaz, Amilaz, Lipaz, Proteaz

3. Gerçek çözelti halinde olanlar

3.1 Karbonhidratlar 47-48g

-laktöz-hidrat, -laktöz

Glukoz, Galaktoz, Disakkaritler

3.2 Katyonlar 0.10-1.25g

Kalsiyum, Magnezyum

Sodyum, Potasyum

3.3 Anyonlar

Hidrojenfosfat, Dihidrojenfosfatlar

Fosfat, Sitrat, Klor, Hidrojenkarbonat, Sülfat

3.4 Suda çözünen vitaminler 0.4-1.2m

B1 vitamini, B2 vitamini, B6 vitamini

B12 vitamini, C vitamini, Niasin, inositol

Pantotenik asit, Folik asit, Biotin

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

Ürün	<i>Brucella</i> spp.	Ya am 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	-
Tereya ı	<i>B.abortus</i>	142 gün	8	-
Peynir (çe itli)	<i>B.abortus</i>	6-57 gün	-	-
Peynir (çe itli)	<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	-	-
Kesilmi süt serumu	<i>B.abortus</i>	<4 gün	17-24	4.3-
	<i>B.abortus</i>	>6 gün	5	5.9

2.9. Di er Gıdalarda *Brucella* Türlerinin Bulunu u

Brusellosis, insanlara ço unlukla kontamine et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi sonucu sindirim yoluyla veya laboratuvar çalı ması yapılırken solunum yoluyla geçmektedir. Türkiye'de özellikle bilgilendirmeden mahrum kalan, özellikle kırsal kesimlerde kaynatılmamı süttten yapılan peynir, krema, tereya ı, dondurma önemli enfeksiyon kayna ıdır. Kaynatılmamı süttten yapılan kremlerin santrifüj i lemi, etkenlerin süt ya ında yo unla masına ve ya ın koruyucu fonksiyon göstermesine ba lı olarak'ta büyük risk grubunu olu turmaktadır. Kasaplık hayvan etleri *Brucella* içerse de, olası az sayıda etkenin uygulanan ısı i lemi ile yıkımlanmasına ba lı olarak *Brucella* enfeksiyon olu um riskinin az oldu u belirlenmi tir. Yo urt yapım teknolojisine göre sütlerin pastörize edilmesi ve yo urt mayasının süttü asitlendirmesi sebebiyle *Brucella* cinsi bakterilerle yo urt tüketimine ba lı olarak bula ma görülmemektedir. Enfekte hayvan dı kısının tarlada gübre olarak kullanılmasına ba lı olarak, sebzelerin kontamine olup hastalı ın insanlara bula ma riskini artıracak ı bildirilmi tir. Bundan dolayı döngü de hastalı ın bula ma riski artmaktadır (Sözen, 1996; Erol, 1997; Ta ı, 2003).

Kaynatılmamı süttün tereya , krema, krem anti gibi süt ürünlerinin i lemeden önce daha uzun süre saklanabilmesi ve süttteki mikroorganizma sayısını azaltmak amacıyla 57°C ile 68°C arasında en az 15 dakika süre ile ısıtıldı ı, bu sütlerin alkali fosfataz testinde pozitif reaksiyon gösterdi i süttteki patojen mikroorganizmaların vejetatif formlarının tamamının, di er mikroorganizmaların büyük bir kısmının sayıca indirgenmesi amacıyla pastörizasyon i lemi yapılmaktadır.

Tüm mikroorganizmalar ve sporların yok edilmesi amacıyla sterilizasyon i lemlerinin yapılması gerekti ini, Brusellosis tesbit edilmi hayvanlarla birlikte aynı sürüde bulunan sa lıklı hayvanlardan elde edilen süttün ancak ısı i leminden sonra pastörize edilmesine ba lı olarak süt ve süt ürünleri üretiminde kullanabilece i ifade edilmektedir (Akhan ve Akova, 1996; Ta ı, 2003)

2.10. Klinik Belirti ve Bulgular

Brusellozis bulgularında bakterinin inkübasyon süresi, etkenin giri yolu, sayısına ve hayvanın duyarlılığına ba lı olarak yakla ık 15-150 gün arasında de i mektedir. Sı ırlarda görülen ba lıca klinik bulgular dü ürme, döl tutmama, or itis ve mastitis'dir. Gebelik süresince hayvanlarda klinik belirti görülmez. Dü ürme vakaları gebeli in her döneminde olu abilse de genellikle gebeli in son aylarında 5-8. ayları arasında meydana gelir. Daha geç veya erken dü ük vakalarıyla da kar ıla ılmaktadır. Genellikle ilk kez enfekte olan ve a ılanmamı ineklerin %30-80'inde dü me gözlenmektedir. Buna ra men *Brucella* ile enfekte ineklerin takip eden gebeliklerinde tekrar dü ük yapma oranları %10-25 arasında de i iklik gösterdi i belirlenmi tir. Ayrıca ineklerde *Brucella* kaynaklı dü melerden sonra retensiyon sekundinarum ve metritis (buza ılamayı takiben görülen önemli bir puerperal hastalıktır, ineklerde RS rastlantı sıklığı (% 2-39), i letme ve yöreler arasında farklılıklar göstermekle birlikte di er hayvanlara göre daha fazladır) olgularına sıklıkla rastlandı ı bildirilmi tir (Acha ve Szyfres, 2003; Aslan, 2014).

Brusellozis salgınlarında ineklerde süt veriminde önemli azalma, somatik hücre sayısında artı ile dü ük ve metritis vakaları meydana gelmektedir. Dü ürme fetusta otoliz ekillenirken abdominal organlar fibrinle kaplıdır. Pnömoni ve peritonit semptomları dü ük fetusunda tespit edilen di er lezyonlardır (Xavier ve ark., 2010; Aslan, 2014).

Enfeksiyonun erkek hayvanlarda olu turdu u en önemli klinik semptom ise or itistir. Akut dönemde testislerde adezyon ve fibrozis sonucu meydana gelen atrofinin erkek sı ırlarda kısırlık olu umuna neden oldu u belirlenmi tir. Erkek sı ırlarda testiste meydana gelen or itis, unilateral ekillenmesine ra men her iki testisin de enfekte oldu u bilinmektedir. Di er bir çalı mada erkek sı ırlarda *B. abortus* S19 a ılamasından 10 gün ve 7 ay sonra or itis, epididimitis ve seminal vezikülitis semptomları gözlenmi tir. *Brucella* enfeksiyonlarında artritis olguları da gözlenebilmektedir. *B. abortus* S19 su u ile deneysel enfeksiyon çalı masında buza ıllarda eklem sıvısında fibrin artı ı, kıkırdak eklem yüzeylerinde a ınma ve erozyonlar ekillenirken, eklem sıvısının irinli olmamakla birlikte bulanık

görünümde oldu u yapılan çalı malar sonucu saptanmı tır (Johnson ve ark., 1994; Rhyan ve ark., 1997; Megid ve ark., 2010; Aslan, 2014).

Brusellosis, organizmadaki birçok organı ve sistemi etkiledi i için, oldukça büyük bir semptomlar toplulu u ve polimorfizmine sahiptir. Hastalı nı iddeti; sorumlu olan bakterinin türüyle, ki inin duyarlılı ı ve ki inin ba ı ıklık sistemiyle, altta yatan ba ka bir hastalı nın olup olmaması ve hastanın geçmi iyle de ilgilidir. Hastalı n kuluçka süresi, bir haftadan birkaç aya kadar de i mekle birlikte, genelde 7-21 gün kadardır. Hastalı n, asemptomatik enfeksiyon (ambulan tip), akut enfeksiyon, subakut enfeksiyon (ondülan tip), kronik enfeksiyon olmak üzere birbirinden farklı 4 klinik tablosu oldu u bilinmektedir (Özgür, 2006).

Asemptomatik enfeksiyon; ancak yapılan serolojik taramalarla ortaya çıkarılabilen ve belli ba lı bir hastalık tablosu ve yakınmaya ba lı olmayan ba ka bir duruma yol açmamaktadır. Daha çok hayvanlarla sık temasta bulunan çiftlik çalı anı, hayvan sahibi, çoban, veteriner hekimin yüksek risk grubunda oldu u saptanmı tır. Ki i bakteriyi ta ır ve ancak ba ı ıklık sistemi baskılandı nda belirgin enfeksiyon tablosu geli ir (Aslan, 2014).

Akut enfeksiyon; hastalı nın tipik ve klasik formudur. Bakteri alındıktan sonraki ilk 3-4 hafta olup genellikle ö leden sonraları kendini gösteren huzursuzluk hissi, kırgınlık, güçsüzlük, halsizlik, bulantı, i tahsızlık, ba a rısı, artralji, miyalji gibi genel enfeksiyon belirtileri ile sinsi olarak ba lamaktadır Ak am saatlerinde ü üme ve titreme ile ate yükselmeye ba lar, her gün birkaç derece artarak 8-10 günde 39°C - 40°C' ye ula an bir ate le karakterizedir (Aslan, 2014).

Subakut enfeksiyon; hekimler için önemli tanısal yanılgılara yol açan, hafif ate , halsizlik, kırgınlık ve i tahsızlık gibi yakınmalarla genellikle grip oldu u sanılan bir klinik tablodur. Hastanın uygun ve yetersiz tedavi aldı ı veya yanlış tedavilerin devreye girdi i klinik tablo olarak tanımlanır. Birkaç tekrar sonrasında asemptomatik enfeksiyon tablosuna geçebildi i gibi akut enfeksiyon tablosuna da dönü ebilir (Sırmatel ve ark., 2000; Aslan, 2014).

Kronik enfeksiyon; en az altı ay ile bir yıl arası bazen bir yıldan daha fazla süren semptomların görüldü ü olgulardan ibarettir. Bu olguların büyük ço unlu unu,

hastalığın başlangıcında uygun protokollerle tedavi edilmemesi tablonun tam olarak teşhisinin yapılmamasından kaynaklanmaktadır. Bundan dolayı kemik, eklem, karaciğer ve dalakta fokal süperatif tutulumu olan hastalıklar olmaktadır. Daha çok 40 yaş üstü kişilerde görülmektedir. Olguların 1/5'inde hiçbir akut enfeksiyon anamnezi ve aktif enfeksiyon kanıtı olmaksızın, psikiyatrik veya romatolojik hastalıkları anımsatan, ve hatalı tanımlara 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 sıklıkla episklerit ve üveit gibi göz patolojileri gelişebilmektedir. Bu tanının konulduğu hastaların çoğunluğu günümüzde Kronik Yorgunluk Sendromu ya da Kronik Lyme hastalığı tanımları alan hasta grubunda gözlemlendiği bildirilmiştir (Ariza, 1995; Özgür, 2006).

Birkaç saat süren ateş, sabaha doğru bol terleme ile normale döner. Erişkin tanı konmaması ve tedaviye başlanmaması ise ateşin tekrar her gün kademeli olarak düştüğü ve 2. haftanın sonunda hastanın normal ateş değerlerine ulaşması bildirilmiştir. Hastada geçici bir iyilik hali başlamakla birlikte, 8-10 gün sonra aynı ateşli dönem tekrar başlar. Tarif edilen bu ateş ekli, brusellosis için tipik olup "Ondülan Ateş Trasesi" olarak tanımlanır ve pratikte sık rastlanmamaktadır. Brusellosis 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 iyilikler görülebilir. Olguların % 60'ında 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. Orta, bazı olgularda tek başlangıç bulgusu olabilir gibi, sıklıkla bir refakat bulgusu da olabilmektedir. Bazı nadir olgularda ise hasta tipik bir menenjit tablosuyla hekime başvurur. Özetle, brusellosis 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 yumu ak ve hafif a rılıyken, tedavisiz olgularda zamanla sert ve dayanılmaz a rılara neden olurlar. Olguların 1/5' in de ise servikal ve inguinal bölge ba ta olmak üzere lenf büyümesine neden olabildi i bildirilmi tir (Sözel, 1996; Özgür, 2006).

Brucella enfeksiyonları sonucu insanlarda akut ve ate li bir hastalık tablosu meydana gelir. Hastalık kronik forma dönü tü ünde 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 çalı malarda insan ba ı klık yetmezlik virüsü (*Human Immunodeficiency Virus/HIV*) ile enfekte insanlar da *B. canis* etkeninin izole edildi i ve bunun besledikleri evcil köpeklerden bula tı ı tespit edilmi tir. Ara tırcılar bu durumun insan popülasyonunda *Brucella* enfeksiyonunun yaygınla tı ını ve sıklıkla görüldü ünü daha da artarak ilerleyen dönemlerde ara tırılması ve çalı ılması gerekli olan zoonotik hastalıkların ba ında geldi i ve bu konunun da önemli oldu unu bildirmilerdir (Lucero ve ark., 2010; Lawaczek ve ark., 2011; Aslan, 2014).

2.11. Komplikasyonlar

Erkenden tanı konmu veya tam olarak tedavisi uygulanmı *B. abortus* ve *B. suis* enfeksiyonlarında komplikasyon riski %3' in altındadır. Geç tanı konulmu veya yanlış tanı konmu komplikasyonlar da ise bu oran artar. Brusellosis de pek çok organ tutulumu geli ebilir ve tutulan bölgeye göre fokal semptom ya da bulgular ortaya çıkabilir .530 olgunun ele alındı ı prospektif bir çalı mada olguların %35'inde fokal komplikasyonların geli ti i bildirilmi tir.Tanı konulmadan önce 30 günden uzun süreyle semptomların devam etmi olması, fokal hastalık geli imi yönünden majör bir risk faktörü olu turabilir En sık lokalizasyon bölgeleri öyle sıralanabilir: Osteoartiküler, özellikle sakroileit % 20-30 genitoüriner, özellikle epididimoor it % 5-35 nörobruselloz, genellikle menenjit % 2 endokardit %1 hepatik abseler %1 Çok daha az sıklıkla ortaya çıkan di er 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).

skelet- kas sistemi; ba ta *B. melitensis* infeksiyonları olmak üzere brusellosis de, olguların % 25- 75' in de osteoartiküler tutulum belirlenmiştir. Ate le beraber en önemli ve en sık görülen ikinci bulgu kas ve eklem ağrılarıdır. Hastalının ilerleyen dönemlerinde hastalığı karakterize olan ate ve terleme azalırken, ikinci karakterize olan hareket sistemi bulguları ön plana çıkar. Hastalının geç dönemlerinde, yakınmaların nonspesifik olması nedeniyle hastaya tanı koymak güçtür. Hastaların bir kısmı nörotik oldukları düşünülerek bazı kliniklere özellikle psikiyatri kliniklerine gönderilebilirler. Kas ağrıları bazen erken dönemde çıkarak tek bulgu olabilmektedir. Eklem bulguları ise genellikle hastalının 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 spondilittir (% 9). Sakroileit, hastalarda erken dönemde başlayabildiği gibi, tek başına veya yaygın artrit ve ate atakları ile birlikte olabilir. Sakroileit çoğunlukla tek taraflıdır, gece ağrısı ve Laseque pozitifliği tipiktir. Artrit çocuklukta 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 hastalının 1-2. ayından sonra ortaya çıkar ve genellikle ate le ilgili değildir. Spondilit brusellozlu 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 lokal olumsuzluk dikkat çekmelidir. Nadiren eklem protez infeksiyonu etkeni olarak tanımlanmıştır. Brusellosis' deki kemik-eklem tutulumunun belirlenmesinde kemik sintigrafisi, normalde yapılan düz filmlerden çok daha duyarlı ve daha net

de erler verdi i yapılan çalı malar sonucunda bildirilmi tir (Sözen,1993; Özgür, 2006).

Sinir sistemi; hastaların bir kısmında kas ve eklem a rılarının yanı sıra ba a rısı da bulunmaktadır. Meningoensefalit, miyelit, parezi, parestezi, depresyon, kronik yorgunluk sendromu, psikoz ve nadiren de Guillain- Barré sendromu geli imi ba lıca nörolojik komplikasyonlardır. Olguların % 2-10 unda MSS (Merkezi sinir sistemi) tutulumu belirlenmi tir. Ancak, meningoensefalite ra men olguların sadece 1/3'ünde ense sertli i belirlenebilir. BOS tetkikinde lenfositik pleositoz, protein artı ı vardır. Glukoz düzeyi normal veya azalmı tır. Nörobrusellosis tanısında, BOS kültüründe etkenin üretilmesi mümkündür, ancak BOS' da *Brucella* IgG, IgM ve IgA antikorlarının ELISA ile ara tırılması oldukça de erlidir. Kronik brusellosis olgularında, hastanın yatkınlı ı da varsa psikoz geli ebilir (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 geli en vakalarda ölüm oranı yüksektir. Genellikle tanısı gecikmi , 3 aydan eski olgularda görülmektedir. Aort kapa ı en sık etkilenir, mitral kapak tutulumu ikinci sıklıkta görülür. Ekokardiyografide vejetasyonlar ve emboli geli imi gözlenmektedir. Ölüm nedeni, progressif konjestif kalp yetmezli idir. Tek ba ına antibiyotik ile tedavinin ba arı ansı 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 karaci er tutulumu gözlenerek belirlenebilir. Bulantı, kusma, karın a rısı, mide krampları, diyare veya konstipasyon gibi genel belirtiler görülmektedir. Brusellosisli hastalarda dalak ve karaci er büyüklü ü genellikle birlikte bulunur. Özellikle *B. abortus* enfeksiyonlarında hücresel ba ık yanıt mekanizmalarının aktivasyonu sonucunda granümatöz hepatit geli imine rastlanmaktadır. *B. melitensis*' de granümatöz hepatit görülmekle birlikte, granülsüz diffüz hepatit de gözlenmektedir. Periportal mesafelerde mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra akımının bozulması ve sarılık geli imi söz konusu olabilir. Karaci er fonksiyon testleri yükselebilir. Hepatik abse ve kolesistit

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

Hematolojik sistem; brusellozis, 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 düğüm yapan hayvanların plasentasını çıkarmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının ön kollarında brusellozise 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 geçmişi ya antısı çok iyi sorgulanmalı ve iyi rapor edilmelidir. *Brucella* hücre içi bakteri olduğu nedeniyle 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 üphe uyandırsa da kesin te hise 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 ba lıca 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, ndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHT), ndirekt Floresan Antikor Testi (IFA), mmunfloresan test (IFT), Radioimmunoassay (RIA), Süt Ring Testi,(MRT) EnzymeLinked Immunosorbent Assay (ELISA), *Brucella* Capt' dır (Alaçam ve ark., 1997; Fidancı ve ark.,1995; Ta kın, 2012).

nsanlarda bu hastalıktan üphelenildi i zaman te his genellikle serolojik yöntemlerle yapılmaktadır ve Oligo Polisakkarit (OPS)'e kar ı direkt antikorların belirlenmesine dayanır. Çok sayıda serolojik tekni in geli tirilmesine ve test edilmesine ra men, altın standart olarak bilinen Standart Tüp Aglütinasyon testi daha çok kullanılır. Tüp Aglütinasyon testini do ru yorumlamak için uzun zamana ve deneyime ihtiyaç vardır. Bu test için indirekt Coombs testi dahil, Rose Bengal ve Slide Aglütinasyon testleri geli tirilmi tir (Young ve ark.,1989; Nielsen ve ark., 2002; Gülbaz, 2011).

Mikroorganizmaları kümele tirmede kullanılan serum yeterlili ini ölçen test, anti-O-polisakarit antikorun varlı ını yansıtır. Monomerler içindeki IgM'yi ayırmak için 2mercaptoethanol ya da dithiothreitolile serum tedavisinden sonra tüp aglütinasyon testin kullanımı IgG antikorunu meydana çıkarır. 1/40 ve 1/60 titreleri ve yukarısı hastalı ın varlı ı için pozitif dü ünülmektedir. Hastaların ço u zaten klinik sunum sırasında yüksek titrelere sahiptir. Bu yüzden, titrede 4 katı bir artı gözükebilir. IgM hastalı ın erken safhalarında yüksektir ve ba arılı bir tedaviden aylar, hatta yıllar sonra bile 1/40 altı gibi dü ük seviyelerde kalmaya devam edebilir (Büyükcangaz, 2007; Gülbaz, 2011).

Serum testi, dü ük seyreltmelerde ortaya çıkabilece i için, her zaman 1/40, 1/60, 1/80, 1/160, 1/320 gibi seyreltmelere do ru gitmektedir. Tüp aglütinasyon testi *B.*

canis antikorlarını meydana çıkarmaz, çünkü pürüzlü organizmanın yüzeyinde O-polisakarit yoktur. immunoenzimatik yöntemler (mesela enzime ba lı immunosorbent yöntemleri (ELISA) *B. canis* ile birlikte kullanım için geli tirilmi tir, ancak iyi bir ekilde standartla mamı tır (Hamdy ve ark., 2002; Gülbaz, 2011).

Brusellozun laboratuvarda tanılanmasında uygulanacak i lemler iki grupta incelenir;

- Rutin Laboratuvar Ara tırmaları
- Özgül Laboratuvar Ara tırmaları

2.12.1. Rutin Laboratuvar Ara tırmaları

Bu incelemede sedimantasyon yüksekli i, anemi, lökopeni, lenfomonositoz, trombositopeni, hemolitik anemi, pansitopeni gözlemlenebilir. Karaci er yerle iminde karaci er fonksiyon testlerinde bozulma gibi lokal tutulumlara ba lı bulgular da genelde görülmektedir (Solomon ve ark., 1992; Altay ve ark., 2008).

2.12.2. Özgül Laboratuvar Ara tırmaları

- Direkt Tanı Yöntemler
- ndirekt Tanı Yöntemleri

2.12.2.1. Direkt Tanı Yöntemleri

Hastalı a 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 azlı ı nedeni ile genellikle ba arısız sonuçlar alınmaktadır ve bu yüzden çok tercih edilen bir tanı yöntemi de ildir (Arabacı, 2011).

Kültür

Etkenin varlığını saptamada altın standart test olarak kabul edilen kültür işlemi ile bakteriler izole edilir. Ancak hastalık prevalansının çok düşük olduğu ülkelerde ve bölgelerde etkenin tanınmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Ayrıca çok zaman alması, laboratuvar çalışmaları bulaşma riski, kontamine olma, riskli 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 ekinde, renksiz, nonhemolitik koloniler ürerse ve mikroskopide ince, solgun boyanan gram negatif kokobasiller görülürse *Brucella* düşünülmeli ve klinisyen uyarılmalıdır. Numuneyi inceleyen herkes enfeksiyonun aerosol bulaşma riskinin yüksek olduğunu bilmelidir. Bu yüzden çalışmaları 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 yanı sıra dalak, karaciğer, apse örneklerinden ve florali bölgelerden de nadiren izolasyon yapılabilmektedir. Florada 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, birçokunun da tiamin, niasin, nikotinik asit, biotin ve serum gibi maddelerin varlığında ürediyi 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 dekstrose agar, vetripticase soy agardır. Bazı türlerin ise MacConkey agar, Thayer Martin, MartinLewis besiyerlerinde de ürediyi belirtmiştir (Fındık, 2005; Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

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

E-Test Yöntemi (AB Biodisk, İsveç)

Yayılmaya dayanarak, plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiyal ajanın MIC değerini saptanabilen bir duyarlılık yöntemi olarak bilinmektedir. Stripin bir tarafında ilaç, belirli ve sürekli bir konsantrasyon değeri olacak şekilde bulunurken diğer yüzünde de antimikrobiyal ajanın stripin ucundan olan uzaklığı 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 MIC değeri olarak belirlenir. E-test stripleri -20°C'de saklanır ve kullanılmadan 30 dakika önce çıkarılıp oda sıcaklığına ulaştırılmaya kadar bekletilir (Tarkin, 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 tanısında çok yararlı bir teknik olmasına rağmen rutin olarak kullanılmamaktadır (Altay, 2008; Tarkin, 2012).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemi ile 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 artırlarda 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 değerleri yardımıyla çoğaltılmasına dayanmaktadır (Leal Klavezes ve ark., 1995; Colmenera ve ark.,2005; Espy ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

PCR yöntemi ilk olarak 1987 yılında Mullis 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 üretilen bakteriyel 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'in önemli avantajlarıdır. Farklı hedef genler, primer çiftleri, uygulama teknikleri ve ekstraksiyon yöntemleri içeren farklı PCR yöntemleri, hem hayvan hem de insan *Brucella* enfeksiyonlarının tespitinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Navarro ve ark., 2004; Elfaki ve ark., 2005; Pappas ve ark., 2005; Gülbaz, 2011).

Brucella varlığının belirlenmesi için günümüze kadar birçok test yöntemi geliştirilmiştir 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), 16S 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. Birçok tür ya da 16S rRNA geni, 16S-23S gen arası bölge, 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 çoğunda, 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 geli tirilmi hassasiyetini, spesifitesini ve hızını sunar. Farklı kimyasal maddeleri kullanan birkaç Real-Time PCR deneyi olu turulmu tur. Ara tırmacılar, Real-Time PCR'nin klinik örnekler için çok hassas bir yöntem oldu unu saptamı ve onaylamı lardır (Redkar ve ark., 2001; Debeaumont ve ark., 2005; Kubista ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

Bununla beraber kullanılan standart serolojik ve bakteriyolojik yöntemlerle kar ıla tırıldı nda, do al olarak enfeksiyon kapmı olan ineklerden alınan kan, süt ve lenf örneklerinde Real-Time PCR kullanımında hiçbir avantajının olmadı ı tespit edilmi tir (Learly ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

Real-Time PCR kullanılarak bruselloz tanısıyla ilgili ilk çalı ma Redkar ve ark.(2001) tarafından yapılmı tır. 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 sa lamak için ısı dü ürülür. Sonra ki a amada polimeraz enzimi yardımıyla tek zincir DNA kalıplarına ba lanan primerler 5'-3' yönünde uzatılmaktadır (Redkar ve ark., 2001; Gülbaz, 2011).

Real-Time PCR'da amplifikasyon sonrasında elde edilen ürünlerin varlı mın saptanması, çift zincirli DNA arasına giren bir floresan boya veya floresan ile i aretli problr aracılı ıyla yapılır. Bu amaç için Syber Green veya floresan problr kullanılmaktadır. PCR ile bruselloz tanısında Taqman probunun, jel elektroforeze göre daha özgül oldu u belirlenmi tir (Altay, 2008; Gülbaz, 2011).

Günümüzde gıda kaynaklı patojenlerin tespitinde Real-Time PCR'a dayalı uluslararası standart metotların geli tirilmesi için yo un çalı malara yer verilmi tir. Hatta bazı patojenlerin tespitinde kullanılan ticari Real-Time PCR kitleleri piyasaya

sunulmu tur. Real-Time PCR tekniklerinin kültürel yöntemler ve geleneksel PCR tekniklerine kıyasla, hızlı ve multipleks özelli e sahip olmaları ve uygulama kolaylı ı gibi birçok önemli avantajlara sahip oldu u 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).

Di er yandan, Real-Time PCR oldukça dinamik bir teknik olmasının yanısıra ortamdaki canlı ve ölü hücre ayırımını yapamamaktadır. Real-Time PCR'ın bir di er dezavantajı ise ekonomik açıdan pahalı olması ve bu yüzden temin edilmesinin zorlu udur. Ancak bildirilen tüm dezavantajlarına ra men Real-Time PCR, sonsuz açılımı olan ve giderek kendine yeni kullanım alanları bulan bir tekniktir. Bu ba lamda patojen bakterilerin tespiti de bu alanlardan birisidir. Dolayısıyla Real-Time PCR'ın çe itli gıdalarda patojen mikroorganizmaların tespitinde ve gelecekte önemli çalı maların vazgeçilmez bir yöntemi olaca ı dü ünülmektedir (Colmenera ve ark., 2005; Queipo-Ortuno ve ark., 2005; Kubista ve ark., 2006; Gülbaz, 2011).

2.12.2.2. ndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler)

Brucella'nın serum ya da sütteki belirli antikorların ortaya çıkarılması te hisin temelini olu turmaktadır. Bu amaçla serolojik testlerden yararlanılır. En etkili yöntem genellikle enfeksiyon kapmı hayvanlarda, etkeni belirlemek için spesifite ve hassasiyeti yüksek, ucuz ve hızlı bir test kullanarak ortaya koymaktır. Anti-*B.abortus* serumunun kullanılmasına kar ı standardize edilmi antijenler kullanmak kesinlikle esastır. Uygun kalite kontrol serasının her test grubunu kapsaması gerekir ve e er kalite kontrol kriterleri kar ılanmıyorsa testler tekrarlanmalıdır (Hamdy ve ark., 2002; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Serolojik sonuçlar; hastalı ın sıklı ına, hayvanda a ı kullanımına ba lı olarak ve di er mikroorganizmalarla enfekte olmaları gibi yanlı pozitif reaksiyonların ortaya çıkmasına göre de erlendirilmelidir. Bu yüzden çalı malara özen gösterilerek dikkatli çalı lmalıdır. Laboratuvara dayalı te hisle birlikte, tek tek hayvanların denetim izni, numune numarası ve hayvan ile sonuç arasındaki ba ın tam ve kesin olması bir yanlı lı ın olu maması için test sonucunun do ru bir ekilde 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 testlerinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır (Hamdy ve ark., 2002; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

RBT; boyanmış antijen damlalarının ve serumun bir plak veya lam üzerinde karıştırılması ve aglütinasyonun pozitif bir reaksiyon anlamını ortaya çıkararak basit bir nokta aglütinasyon testidir. Bu test mükemmel bir görüntüleme testi olmasına rağmen özellikle ağırlıklı olarak hayvanların test edilmesi için yüksek derecede hassasiyet isteyen bir testtir. Yine bu testin çok sayıda numuneyi işlemek için gerekli malzemelerin tam ve dikkatli yapılması gerekmektedir (WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Test "Rose Bengal" boyası ile muamele edilmiş ölü *B.abortus* 99 S suyunun tamponlu eriyikteki (pH:3.65) süspansiyonlarından yararlanılarak yapılan lam aglütinasyon testi (RBT) dir. Küçük miktar 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*'ün 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 süspansiyonunun kullanıldığı bir aglütinasyon testidir. İnsan brusellozunun tanısında bu yöntem önerilse de diğer testlere göre insan brusellozunda çok kullanılmayan bir testtir ve günümüzde de yetersiz olduğu da düşünülmektedir (Altay, 2008; Taşkın, 2012).

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) teknolojisi günümüzde çok çe itli insan ve hayvan hastalıklarını te his etmede yararlanılan bir testtir. ELISA testleri; basit, hassas ve spesifiktir. Aynı zamanda insan ve hayvan türlerinden alınan her türlü serum ve gıdalar için kullanılabilse de sonuçları kullanılan metodolojiye ve laboratuvarlara göre de i iklik gösterebilmektedir. Sı ır, koyun ve keçi sütlerinde *Brucella* antikor varlı ının ELISA yöntemiyle belirlemesi için birçok ara tırmacı tarafından çalı ma yapılmı tır (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 oldu u enfeksiyon kapmı hayvanları ortaya çıkarmada yeterli bir test olmayabilir (WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

Brucella etkenlerinin te hisi amacıyla kullanılan ELISA tekni inde antijen olarak *Brucella*'ların tüm hücreleri, lipopolisakkaritleri, tuzla ekstrakte edilen proteinleri, nativ hapten polisakkariti ve dı membran proteinleri kullanılabilir. Serumda brusellozun ba langıcında 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 geni kitlelerin taranmasında en uygun yöntem olarak bilinmektedir. ELISA yöntemiyle brusellozun seyri sırasında IgG, IgM, IgA antikor titrelerindeki de i iklikler 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 kar ı olu an antikorların serumda saptanmasında yeni tanı yöntemleri ile birlikte de erlendirildi inde STA, *Brucella* aglütininlerini saptamada yapılması en kolay, altın standart test olarak kabul edilir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmı tır (Altay, 2008; Ta kın, 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 aşılamaya ve gerekse enfeksiyon sonrası oluşan spesifik antikorları belirler, ancak ayrımlarını yapamaz. Düğümlerden hemen sonra kandaki antikorları direkt olarak saptayamaz ve kronik olgularda ise bazen negatif sonuç verebilir. Ayrıca, kullanılan antijenin hazırlanmasında ve uygulanmasında ya da anacak 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 kümeleme şeklinde görülmesi pozitif olarak kabul edilmektedir (Bilgehan, 2004; Taşkın, 2012).

Akut bruselloz belirti ve bulguları olan hastaların tanınmasında STA testi uygun bir testtir. Ancak inkübasyon döneminde, kronik brusellozda ve özellikle aşılanma 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 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 immünglobulinlerin varlığında,

antijen-antikor birleşmesi gerçekleşirken, 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 inkomple antikorların aglütinasyonu provoke edilir) üç kez yıkanan çökeltilerde, Coombs reaktifi ilavesi sonucu aglütinasyon olup olmadığına bakılır. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitiflerin 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 yıkılması ve ortadan kaldırılması mümkündür. Bu işlemi takiben saptanacak pozitiflik IgG'lere bağlı olarak gelecektir (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 antikorlarının varlığı araştırılır. Bu şekilde işlem görmüş serumlarla yapılan aglütinasyon testinde olumlu sonuç elde edilmesi IgG antikorlarına bağlı olup, hastalığın kronikleştirmiş anlamına gelmektedir. 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 karşılaştığı zor bir yöntemdir. Yine hassasiyet ve spesifitesi yüksek, ancak, uygulanması için donanımlı laboratuvar olanakları ve eğitimli 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* aısı ile aşılandıktan sonra ortaya çıkan antikorlara nispeten duyarsız olup hastalığı karşı olan 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 aglutinasyon 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 değerlendirilmekte 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 aglutinasyon testlerinden daha yüksektir fakat bu spesifikite 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 i letmelerinde 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 sa lar. Yayık ya da süt tankındaki sütlerde, sürü içindeki enfeksiyon kapmı hayvanları ortaya çıkarmak için kullanılabilir ve daha sonra kan testi uygulanılarak de erlendirilebilir. Bu te his yöntemi, çok etkilidir ve genellikle süt i letmecili inin yapıldı ı 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 ısıtılmı , kaynatılmı , bozuk, pastörize, mastitli hayvanların sütlerine uygulanmaz. Uygulansa bile test hata vermekte ve genellikle taze kaynatılmamı inek sütlerinde çalı labilmektedir (Alton ve ark., 1975; Ta kın, 2012).

Bir damla haematoxilin boyalı antijen, bir bardak ya da plastik bir tüp içinde küçük bir miktar süt ile karı tırılır. E er sütte spesifik bir antikor var ise antijene ba lanarak sütün üzerinde kremayla birlikte mavi bir halka ekinde görülür. Bu test hassas olmasına ra men büyük bir sürü içindeki az sayıda enfeksiyon kapmı hayvanın belirlenmesinde ba arısız olabilir. Yine bu testin spesifitesi dü ük olmasına ra men hızlı, basit ve ucuz bir yöntemdir. Bu nedenle hatalı sonuçların yüzdesi yüksek olabilmektedir. Uygun ko ularda ve imkanlarla düzenli ekilde çalı ılırsa hata yüzdesi dü ürülebilir. Çiftliklerde veteriner hekimlerin büyükba hayvanlara taze kaynatılmamı inek sütlerinde uyguladıkları ilk yöntemdir Bu testin yanında alternatif di er testlerde uygulanarak sonuçlar kar ıla tırılmaktadır ve testin do rulu u bu ekilde belirlenmektedir (Alton, 1975; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

ndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHT)

Bakterinin lipopolisakkarit (LPS) kısımları ile kaplı, tannik asitle muamele edilmi koyun eritositlerinin kullandı ı bu testte çözülmü antijenlerden yararlanılır.

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

İmmünofloresan Test (IFT)

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

Radioimmunoassay (RIA)

Testte kullanılan anti-human antikorlar iyot ile işaretlenir ve *Brucella*'ya karşı olan antikorlar saptanır. Bu testin hasasiyeti oldukça yüksektir. Fakat karışıklık olması ve çalınmalarda radyoaktif madde kullanılması nedeniyle tehlike oluşturmakta ve bu yüzden de *Brucella* ile çalınan kişiler tarafından yaygın olarak kullanılmamaktadır (Ta kın, 2012).

Brucellacapt

Kuyucuklarda gerçekte en 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; Ta kın, 2012).

Brucellergen Deri Testi

Hücre sel immüniteyi gösterir. Özellikle hastalığın erken dönemlerinde, belirgin antikor yanıtı bulunmayanlarda *B.abortus* kolonilerinden hazırlanmış brucellergen

deri testlerinden yararlanılmaktadır. Alerjik tanı için bakterilerden elde edilmiş ve saflaştırılmış "Brusellergen" (nükleoprotein kompleksinden oluşur) deri içine uygulanarak test uygulanan bölgedeki deride 24 saat içinde kızamık, ödem ve sertlik şeklinde görülen reaksiyon sonucu pozitif kabul edilmektedir. Bu tür testlerin *Brucella*'lara karşı duyarlı oldukları belirtilerinin görülmesiyle anlaşılır (Bilgehan, 2004; Taşkın, 2012).

2.13. Hayvan Deneyi

Hayvanların derisinde *Brucella* bakterilerinin bulunduğu düşünülen ve doğrudan hastadan alınan 5-10 ml miktarında kanın, koyunların deri altı kas veya peritonu içine enjekte edilerek yapılmaktadır. *Brucella* var ise hayvanlar 2-4 haftada ateş ve sepsis belirtileri ile hastalanır ve gebe hayvanlar yavrularını düşürürler. Öldürülen hayvanların büyümlerini lenf ganglionları, kan ve dalaklarından yapılan preparatlarda *Brucella*'ları görmek ve kültür yöntemleri ile üretmek mümkündür. Zor, zaman alıcı ve yanlış 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 açıklarındaki *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, boğazda epididimitis ve oritise, ineklerde döl tutmama ve yavru atmaya neden olan bakteriyel bir etkidir. *Brucella* etkenleri ökaryotik *-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 ya da Hipokrat tarafından Yunanistan'a bağlı Tazoz 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 gözlemlenen 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 ekinde 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 alınarak 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 sırtırlardan 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 inaktif 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 inaktif olmaktadır. Süt içinde *B. melitensis*, *B. abortus*'a göre ısı uygulamalarına daha dirençlidir. Örneğin 60°C'de *B. abortus* 175 sn'de inaktif 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 barındırdığı ahırların tozlarında 6 hafta, atık yapımı hayvan fetusunda 75 gün, nemli toprakta 60 gün, musluk suyunda 48°C'de birkaç ay, güne görmeyen toprakta 70 gün, suda 35 gün, donmuş doku ve organlarda birkaç yıl, idrarda 30 gün yaşayabilmektedir (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 antibiyotiklere 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 olduğu saptanmıştır. Dokular arasında yüksek konsantrasyonlarda daılımı, 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 olduğu 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 olduğu bildirilmiştir (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 olduğu, 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; Ayalıoğlu 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 enfeksiyonunun tedavi süresi diğer birçok enfeksiyon hastalığının tedavi süresine göre daha uzun sürmektedir ve kabul görmüş tedavi protokollerine rağmen belli oranlarda tedavi dayanılmaz, iyileşmemiş, geç iyileşmiş 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 eğerinin de hastalık riski olması göz önünde bulundurularak mutlaka kontrolden geçirilmeli, sağlıklıysa eğerinin 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 bulunmasıdır. *In-vitro* çalışmalarda birçok antibiyotik *Brucella* suşlarına karşı etkili olması belirlenmesine karşın, bu bakterilerin makrofaj ve retikuloendotelial 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 özellikle olmalıdır (Özgür, 2006; Taşkın, 2012).

Brusellozis, kombine antimikrobiyal kullanımının gerekli oldu u hastalık türlerinden biridir. laçların hepsi ancak kombinasyon halinde kullanılır. Brusellozis tedavisinde tercih edilen antibiyotikler; tetrasiklin, doksisisiklin, streptomisin, rifampisin, ko- trimoksazol, kinolonlar, sefriakson, kloromfenikol ve makrolid grubu antibiyotiklerdir. Tek antibiyotik ile tedaviye kalkı mak hem bakterinin antibiyoti e kar ı direnç kazanmasına ve hem de tedavinin ba arılı sonuç vermemesine neden olabilmektedir. Tek tedavide relaps (bir ki inin yakalandı ı hastalı ı tekrarlaması olayı) %10- 40 arasında görölmektedir (Arriza ve ark., 1993; Akova ve ark., 1993; Özgür, 2006).

Günümüze kadar Bruselloz tedavisinde kullanılan antibiyotikler unlardır;

Tetrasiklin, Bakteriyostatik olarak bruselloz tedavisinde etkili olan bir antibiyotiktir. Tek ba ına kullanılırsa relaps önemli bir problemdir ve çocuklarda etkisi yeti kinlere göre daha azdır (Badur, 1990; Altay, 2008; Ta kın, 2012).

Tetrasiklin-streptomisin kombinasyonu, Dünya Sa lık Örgütü (WHO)' nün önerdi i ilk rejimdir. Bazı ara tırmacılar yaptı ı çalı malar sonucu bu kombinasyonunun tedavide daha ba arılı oldu unu ve bu tedavi uygulandı ında relapsın daha az görüldü ünü savunmaktadırlar (Dabanlıo lu, 2005; Ta kın, 2012).

Ko-trimoksazol, Çok yüksek relaps, nedeniyle hiç önerilmemektedir (Dabanlıo lu, 2005; Ta kın, 2012).

Rifampisin, Hücre içine çok iyi penetre olup, yüksek anti-*Brucella* aktivitesi göstermekle birlikte, relaps geli imi nedeniyle tek ba ına kullanımı çok fazla önerilmemektedir (Tosyalı, 2008; Ta kın, 2012).

Doksisisiklin, 1970'li yılların ba ında denenmi ve % 35'e varan relaps nedeniyle kullanımına son verilen antibiyotiklerdendir (Dabanlıo lu, 2005; Tosyalı, 2008; Ta kın, 2012).

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

kombinasyonunu, doksisisiklin ve rifampisin kombinasyonu tedavisine göre daha ba arılı bulduklarını yayınlamı lardır (Young, 2005; Ta kın, 2012).

Rifampisin-tetrasiklin kombinasyonu, Hastaya 3-5 hafta verilebilir. Ancak Rifampisin-tetrasiklin kombinasyonu bazı hasta gruplarında denenmi olmasına ra men yeterli sonuca varılamamı tır (Altay, 2008; Ta kın, 2012).

Rifampisin-ko-trimoksazol kombinasyonu, Bu kombinasyonun etkili oldu una dair az sayıda çalı ma olmakla birlikte, genellikle önerilen ve uygulanan bir tedavi de ildir (Dabanlıo lu, 2005; Ta kın, 2012).

Rifampisin- ofloksasin kombinasyonu, Türkiye’de yapılan bir çalı mada daha önce ba arısı kanıtlanmı olan bu kombinasyonun, doksisisiklin-rifampisin kombinasyonu kadar etkili oldu u bildirilmı tır (Badur, 1990; Ta kın, 2012).

Bilinen, genel kabul görmü bu kombinasyonlara ve uzun süren ara tırmalara ra men bruselloz enfeksiyonun tedavi süresi di er birçok enfeksiyon hastalı na göre daha geç iyile mekte ve di er enfeksiyon hastalıklarından tedavisi daha uzun sürmektedir Tek antibiyotik ile tedaviye kalkı mak hem bakterinin antibiyoti e direnç kazanmasına hem de tedavinin i e yaramamasına neden olmaktadır. Bu nedenle kombine antibiyoterapinin uzun süre uygulamaları gerekmekte, aksi takdirde relapslar gözlenebilmektedir. (Korkmaz, 2006; Tosalı, 2008; Ta kın, 2012).

2.16.Epidemiyoloji

Relaps oranlarında gözlenen artı ve yan etkiler nedeniyle tüm dünyada oldu u gibi ülkemizde de bruselloz tedavisinde yeni antibiyotik arayı ları sürmekte ve uygun seçeneklerin belirlenmesi amacıyla yapılmı ve yapılmakta olan geni olgu serilerinin sa landı ı çok merkezli, kontrollü çalı malar yapılmaktadır

Dünyanın en geni 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, spanya, Güney Fransa, talya, Yunanistan, Türkiye ve Kuzey Afrika ülkelerinin yer aldı ı Akdeniz havzası ile Arap Yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika’da görülmektedir.

ngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük ço unlu u, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloza hayvanlar arasında tamamen son verilmesine ra men ülkemizde özellikle Ankara ovasında, Konya yöresinde, Güneydo u Anadolu'da Diyarbakır veanlıurfa yörelerinde, Do u Anadolu'da hayvanlar arasında oldukça yaygın görülen bir hastalıktır (Gültekin, 2012).

Güney ve Orta Amerika'da, Karayipler ve Meksika önemli insan ve hayvan bruselloz kayna ı olarak yer almaktadır. Hayvanlarda bruselloz Güney Amerika boyunca varlı ını sürdürmektedir. Ancak hastalık insanlarda yerle ik de ildir. Güney Amerika'da ba ta Peru ve Batı Arjantin'de insan brusellozunda *B.melitensis*'in yaygın oldu u ve Do u Arjantin ve di er Güney Amerika bölgelerinde de *B.abortus*'un yerle ik bir etken oldu u dü ünülmektedir. Amerika Birle ik Devletleri'nde 1960'lara kadar, insanlardaki bruselloz vakalarının *B. abortus*'tan kaynaklandı ı ve 1947'de 6321 vaka ile bruselloz düzeyinin çok yüksek seviyelere çıktığı bildirilmiştir. Brusellozun yok edilmesi için ba latılan ortadan kaldırma kampanyası insanlarda ve hayvanlarda hastalık vakalarında önemli bir oranda dü ü yakalanmıştır (Godfroid ve ark., 2005; Gülbaz, 2011).

Ancak ABD'de bizonların ve geyiklerin ya adı ı vah i ya am alanları enfeksiyon oda ı olarak kalmıştır. Sı ırlarda enfeksiyonun bu habitat çevrelerinden yayıldı ı rapor edilmiştir (Pappas ve Papadimitriou, 2006; Gülbaz, 2011).

Avrupa Birli i tarafından, sveç, Danimarka, Finlandiya, Birle ik Krallık (Kuzey rlanda hariç), Avusturya, Hollanda, Belçika ve Lüksemburg brusellozsuz bir bölge olarak kabul edilmiştir. Ayrıca Norveç ve sviçre'de brusellozsuz ülkeler olarak kabul edilmektedir. Kuzey rlanda'da 1998'den sonra, toplam 98 vaka ile bir *B.abortus* salgını geli miştir. Akdeniz havzası da bir endemik insan brusellozu bölgesi olarak tanınır. Hastalı ın ilk görüldü ü Malta'da ise bugünlerde birkaç tane vakanın görüldü ü bildirilmektedir. Fransa ba arılı bir ortadan kaldırma programı uygulamıştır. spanya'da her ne kadar insan brusellozunun azaltılmasında çok büyük ilerleme sa lanmış olsa da, hala yılda en fazla vaka görülen Avrupa ülkelerindedir. 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 Do u Avrupa ülkelerinde yerle ik de ildir.

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 yerle ik bir bölge olarak düşünülmü tür. Çünkü on ülkeden beş bu bölgedeki en yüksek insan brusellozu oranına sahiptir. Suriye, OIE’den alınan bilgilere göre endemik 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 olmaktadır. Kuzey Afrika’da bruselloz için yerle ik 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 Bulaıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı ve Laboratuvar Rehberine göre; bildirim zorunlu hastalıklar dört gruba ayrılmakta ve Brucella “Bildirim 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.Sa lık Bakanlı ı)

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 hastalı ı olmakla birlikte, sıklık sırasına göre en çok Güneydo u Anadolu, Do u Anadolu ve ç Anadolu bölgelerinde görülmektedir (Kaya, 2006).

Türkiye’de hayvanlarda brusellozun prevalansını belirlemek amacıyla yapılan Tarım ve Köyi leri Bakanlı ı, Ara tırma Projesi ile 1998-1999 yıllarında 79 ilden tesadüfi örnekleme ile alınan toplam 34.958 adet sı ır kan serumu ve 30.433 adet koyun kan serumu incelenmi tir. Hastalı ın prevalansı sı ırlarda % 1.43, koyunlarda ise % 1.97 olarak tespit edilmi tir. Bu çalı ma bulguları daha önceki yıllarda oldu u gibi, hayvan hareketlerinin fazla olmadı ı ve yavru atma vakalarının nadir oldu u Orta ve Do u Karadeniz, Ege ve Akdeniz bölgesinin illeri dı ında, ülke genelinde hastalı ın yaygın oldu unu göstermektedir (Aydın, 2007).

insan brusellozu 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 doğrudan tahmin edilememesinden veya tahmin için gerekli izinlerin alınmaması ve resmiyete verilmemesinden kaynaklanmaktadır (Aydın, 2007).

Hastalığı, ülkemizde ortadan kaldırmak amacıyla; Tarım ve Köylere 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 artış kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Ülkemizde hastalık bildirimlerinin hala yeterli düzeyde olmadığı dikkate alınırsa, gerçek bruselloz 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).

Brusellozis 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 brusellozdan etkilendiği hesap edilmiştir. Yine ülke çapında 1989 yılında bölgelere göre yapılan serolojik tarama sonuçları % 0-10 oranındaki hastalık prevalansı, sığırlar ve koyunlarda

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

Türkiye’de bruselloz epidemiyolojisi konusunda en kapsamlı çalışma Çetin ve arkadaşları tarafından 1984-1987 yıllarında yapılmıştır. TÜB TAK destekli olan bu çok merkezli çalışmada 70.009 serum örneğinin incelendiği, normal popülasyonda % 1.8, riskli gruplarda % 6.0 oranında seropozitiflik saptandığı bildirilmiştir, 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 Adana 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 ekilmiş sütü yiyenlere hastalık kolayca geçer. Yavru atımı sırasında, güç doğumlarda ve son doğu erken 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 ülkelerde gelişmekte olan ülkelere oranla daha iyi bilinmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde kültüre bağlı olarak göçebe hayatı devam ettirilmekte ve bu nedenle hayvanlarla daha iç içe yaşamaktadır. 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 alıkanlıklara göre, süt ve süt ürünlerinin tüketilme şekline ve hazırlanma amasına bağlı olmaktadır. Sütün kaynatılmama veya kaynatılma sıcaklığının yetersizliği 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).

Sırtı yeti tiriciliğinde *Brucella* kaynaklı enfeksiyonların tespiti ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi, ekonomik açıdan ve hayvan sağlığı yönünden önemlidir. Bununla birlikte halk sağlığını tehdit eden bu tür zoonoz enfeksiyonları ile mücadelede yeti tirilen hayvanlara ait bilgileri içeren veri tabanları ve takibi risk altındaki personelin (mezbahe işçileri, et paketliyecileri, laborantlar, veteriner hekimler, hayvan bakıcıları) koruyucu ahsî 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 kolların % 2'lik kuarternere 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 mezbahe 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 aşılanması, kitlesel tarama testleri kullanılması ve pozitif hayvanların tespit edilerek sürüden uzaklaştırılması ile brusellozisin yayılımının önlenmesini engellemek için yapılacak tedbirlerin başında 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 arınımı saf sağlıklı hayvanlardan olumsuz 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 aşıdır. Bu aşı sığırları % 50–75 oranında enfeksiyon ve diğer olgularından koruyabilmektedir. *Brucella* aısının 4–8 aylık buzaşılara ve 18 aylık seronegatif tespit edilen diüvelere uygulanması genelde veteriner hekimler tarafından tavsiye edilen sonuçlardır. *B. abortus* S 19 aısı günümüzde yetiştirme çaında, hastalık etkeni düşük titrede bulunan ve gebe hayvanlara da uygulanmaktadır. Bazı ülkelerde S 19 aısının düşük dozda kontrol amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Bununla birlikte, günümüzde sığırların 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 erygen bölgesinde 702bp'lik kısmının delesyonları ile hazırlanmıştır. S19 aısı uygulamasının ardından, yüksek ateş, anoreksi, halsizlik, süt veriminde düşme ve enjeksiyon bölgesinde şişlik gibi çeşitli reaksiyonlar gözlemlenmektedir. Bunun yanında S19 suşunun gebe sığırlarda diümelere, boğalarda oritise ve insanlarda dalgalı ateşe neden olduğu bilinmektedir. 1996 yılında Amerika'da S19 aısı yerine *B. abortus* RB51 aısı kullanılmaya başlanmıştır. *B. abortus* RB51 aısı *B. abortus*

2308 su undan hazırlanan ve LPS O-zincir antijeni silinmi mutant bir canlı a ıdır. RB51, S19'un aksine daha güçlü bir Th1 cevabı tetikledi i ve komplement fiksasyon, tüp aglütinasyon, floresan antikor gibi serolojik testlerde yanlı pozitifli e neden olan anti-LPS antikor yanıtın olu umunu uyarmanı belirlemi tir (Stevens ve ark. 1994; Sangari ve ark. 2007; Aslan, 2014).

Canlı *B. melitensis* a ı su u olan Rev-1, 1957 yılında vah i *B. melitensis* 6056 su unun streptomisin içeren medyundan streptomisine dirençli kolonilerinden elde edildi i bildirilmi tir. Rev-1'in gebe keçilerde güvenilir olmadı ı ve bununla a ılanan laktasyondaki keçilerin bazı vakalarda süt ile etkeni yaydıkları belirlenmi tir. Canlı *B. suis* S2, dü ük yapan domuzdan izole edilen etkenin seri pasajlar ile atenüe edilmesi ile elde edilen ve Çin'de kullanılan bir a ıdır (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 a ı çalı ması gerçekte tirilmi tir. Bunun dı nda BP26, Omp16 ve Omp31 proteinleri kullanılarak üretilen vektör a ı lar ile Omp31, L7/L12, Omp16, P39 ve bscp31 gibi antijenlerin aynı anda açıklanabildi i DNA a ı çalı maları literatürde yer almaktadır. *Brucella* enfeksiyonlarına kar ı geli tirilen kontrol ve yok etme programları 20. yüzyılın ikinci yarısında pek çok ülkede uygulamaya ba lanmı tir. Ba ta Arjantin, Portekiz, Mısır, ran, srail, Suriye ve Yunanistan gibi ülkelerde yo un bir ekilde 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 çalı malar sı ırda *B. abortus* için 1930 yılında ba latılmı tir. Brusellozisi yok etmeye yönelik mücadele 1984 yılından itibaren 4-8 aylık sı ırlar ve 3-8 aylık kuzu ve o lakların a ılanması ekinde ba latılarak halen devam etmektedir. Yapılan kitlesel a ılamalar ardından etkilerinin gözlemlenmesi yapılmaktadır. *Brucella* enfeksiyonlarının insanlarda tedavisi için Dünya Sa lık Örgütü 1986'da altı hafta doksisisiklin (200 mg/oral) + rifampisin (600-900 mg/oral) kombinasyonunu önermi tir. Gebelerde ise

tetrasiklin ve streptomisin kullanımının toksik etkilere neden oldu u, bunun yerine 40 gün süre ile rifampisin kullanılabilce i bildirilmi tir (Refai, 2002; Aslan, 2014).

Sonraki yıllarda insanlarda etkenin doksisiklin ve rifampisin yanında streptomisin, trimetoprim sulfametoksazol ve siprolaksin gibi antibiyotiklere duyarlı oldu u ve tigesiklinin tedavide kullanılabilcek alternatif ajan olabilece i rapor edilmi tir. Hayvanlarda tedavide kullanılan antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik çalı maları sınırlı sayıda olmak ile birlikte, insan brusellozisinin endemik oldu u bölgelerde ya ayan koyunlardan izole edilen *B.melitensis*'in streptomisin, siprofloksasin ve gentamisine % 7.5 rifampine % 9.8 oranlarında dirençli oldu u belirlenirken, en yüksek dirençlili in ise trimetoprim sulfametoksazola (% 46.3) kar ı geli ti i yapılan çalı malarda tespit edilerek bildirilmi tir (Parlak ve ark., 2013; lhan ve ark., 2013; Aslan, 2014).

2.18. Hastalı n Halk Sa lı ı ve Ekonomik Yönden Önemi

Brusellozun Dünya üzerinde en yo un olarak görüldü ü ülkeler; Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Afrika, Asya, Orta Do u ve Akdeniz ülkeleridir. Birçok ülkede hastalı a kar ı önlemler alınmasına ra men, brusellozis hem insanlarda hem de hayvanlarda dü ü e ilimi göstermemektedir. Hastalı ı kontrol altına almı olan ülkelere bu konuda çalı maları çok önem verilerek yo un bir ekilde devam ettirilmektedir. Bruselloz ekonomik kayıplara neden olmaktadır. nsanda uzun süren tedavilere ve hastalıktan kaynaklanan güç kaybı nedeniyle sürekli çalı amaması, gebe hayvanlarda ise yavru atma, ergin hayvanlarda kısırlık, süt veriminin dü mesi ve canlı a ırlık kayıpları gibi olgular hem çiftçiler için hem de ülke ekonomisi açısından çok fazla önem ta ımaktadır (Pappas, 2006; Elaldı, 2010; Boschioli ve ark., 2011; Gülbaz, 2011).

Dünya Sa lık Örgütü (WHO), *Brucella* çalı malarında güvenlik seviyesi en üst düzeyde çalı lması gerekti ini ve kullanılan araç ve gereçlerin tam ve steril olması gerekti ini bildirmektedir. Solunum yolu ile bula ma söz konusu olabilece i için de maske takılmasını ve gerekli tedbirlerin alınmasını zorunlu kılmı tir. Bu konuda çalı an veteriner hekim, biyolog, tıbbi laborantın gerekli özeni göstermesi gerekmektedir (Zervas, 1997; WHO, 2006; Gülbaz, 2011).

3.KAYNAK ARA TIRMASI

Bruselloz, dünyanın birçok ülkesinde insan ve hayvan sa lı ı açısından önemli olan zoonoz hastalıkların ba ında gelmektedir. Hastalık hayvanlarda dü üklere, süt verimi kaybı, infertilite, hastalı a ba lı olarak veteriner ve a ılama masrafları nedeniyle hayvansal üretimde kayıplara sebep olurken, hastalık ta ıyan hayvanlarla direkt temas, kontamine süt ve süt ürünleri tüketimiyle de önemli bir halk sa lı ı problemi olarak görülmektedir. Bruselloz dünyada oldu u gibi ülkemizde de insan ve hayvanlarda sıklıkla rastlanılan zoonoz bir hastalıktır (Gülbaz, 2011).

3.1. SÜT VE SÜT ÜRÜNLER

Yapılan bir çalı mada, Mert (1984) 150 peynir örne inin 29 adedinde (% 19.33) *Brucella spp.* izole etmi tir. Bu peynir örneklerinin 26 adedinde *B. melitensis* (% 90), 3 tanesinde *B. abortus* (% 10) saptamı tir. Çalı mada, pastörize edildi i bildirilen sütlerden yapılan peynirlerde ilk örneklemelede *Brucella* izole edilmezken, 5 gün gibi bir süre geçtikten sonra aynı örneklerden % 20 düzeyinde *Brucella*'nın izole edildi i bildirilmi tir.

Erzurum piyasasından toplanan 30 adet taze peynir örne inin hiçbirisinde *Brucella* tespit edilemedi ini kaydetmi lerdir (Sert ve Kıvanç, 1985).

Do al olarak enfekte olmu inek sütlerinden olgunla tırılmı peynirlerde *B. abortus*'un ya am süresini ara tırılmı tir. Çalı mada standart peynir yapımından 20 gün sonra *B. abortus* varlı ının tespit edilmedi ini, peynir yapımında kullanılan standart uygulamaların laboratuvar ortamında hazırlanmı deneysel uygulamalardan daha hassas ve güvenilir oldu unu vurgulamı lardır (Plommet ve ark., 1988).

El-Daher ve ark. (1990), çe itli süt ürünlerinde bulunan *B. melitensis*'e pH'nın etkisini incelemi lerdir. Çalı mada pH 5,5 ve üzeri sıvı besiyerlerinde *B. melitensis*'in 5 haftadan daha uzun süre ya adı ı görülürken, pH 4,0'ten daha dü ük sıvı besiyerlerinde geli emedi i rapor edilmi tir. Özellikle yumu ak peynirlerde 72 saat sonra *B. melitensis* varlı ı tespit edilirken, di er süt ürünlerinde (süt, yo urt ve yayık ayranı) 96 saat sonra etken belirlenememi tir.

Ankara ilinde semt pazarlarında satılan 66 adet beyaz peynir ve de i ik semtlerdeki marketlerden alınan 34 adet beyaz peynir numunesi *Brucella* yönünden incelenmi , toplam 100 adet numuneden %4'ünde etken izole edilmi tir. zole edilen bu 4 numunenin ise semt pazarlarından temin edilen peynirlerden oldu unu bildirmi lerdir (Uraz ve Yücel, 1992).

Sancak ve ark.(1993), tarafından yapılan bir çalı mada ise, Van ilinde 1992 yılı Mart, Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında 40 adet taze otlu peynir numunesi bruselloz riski yönünden incelenmi tir. Peynir örnekleri Farrel buyyon'lu besiyerine ekim yapılarak %15 CO₂'li ortamda 37°C'de 5 gün inkübe edilmi tir. Sonra Farrel agarda %15 CO₂'li ortamda 37°C'de 3-5 gün süre ile inkübasyona bırakılmı tır. Örneklerden 7 tanesinden *Brucella* türlerini izole ederek ve bunlardan 6 tanesi *B.melitensis*, 1 tanesi ise *B.abortus* olarak identifiye edilmi tir. Ayrıca bu çalı mada kaynatılmamı sütlerden yapılan otlu peynirlerde *Brucella* bakterilerinin 40 güne kadar canlılı mını sürdürdü ü de belirlenmi tir. Bu ara tırmacılar Van otlu peynirlerinde *B. melitensis*'in 40 gün kadar canlı kalmasını salamuradaki tuzun fazla olmasından dolayı oldu unu bildirmi lerdir.

istanbul ilinde 50 de i ik tulum peyniri örne i üzerinde yapılan ara tırmada *Brucella* bakterilerinin varlı ı ara tırlımı ve incelenen örneklerde *Brucella* bakterileri saptanamamı tır. Bu çalı mada ayrıca pastörize edilmemi ve kaynatılmamı sütlerden kontamine edilerek üretilen tulum peyniri örnekleri +4°C'de 90 günlük dönem boyunca olgunla maya bırakılmı ve *B.mellitensis* su larının olgunla manın 30. gününden itibaren ortamdan kayboldu unu, yaptı ı çalı mada tespit edilmi tir (Yıldırıcı, 1993).

Leal-Klevezas ve ark. (1995) *Brucella* türlerini ara tırmak üzere moleküler testlerden biri olan, PCR hassasiyetini kullanarak klinik olarak sa lıklı olan 300 keçiden alınan 23 süt ve kan örnekleri üzerinde yaygın olarak kullanılan bazı serolojik ve bakteriyolojik tekniklere kar ı kıyasladıkları çalı malarında; kan örneklerinin serolojik yöntemde % 60'ı pozitif iken, % 86'sının PCR'da pozitif oldu unu göstermi lerdir. Etkeni sadece bir kan örne inden izole etmi lerdir. Süt örneklerinin % 64'ü PCR'da pozitif bulunurken kültürlerde bakterilerin nadir olarak

üredi ini belirlemi lerdir. Bu incelemeyle, PCR'tekni inin di er serolojik testlere göre daha duyarlı ve spesifik oldu unu bildirmi lerdir.

Ba ka bir çalı mada ise; Romero ve ark. (1995); seropozitif olarak belirlenen 56 süt örne inde izolasyon ile PCR yöntemlerini kar ıla tırdıkları çalı malarında, kültürde pozitiflik oranını % 100 bulurken, PCR'da % 87,5 olarak belirtmi lerdir. Ara tırmacılar PCR' da pozitiflik oranının daha dü ük olmasının nedeninin DNA amplifikasyonunu engelleyen inhibitörlerin neden olabilece ini ileri sürmü lerdir. Bunun ise PCR tekni inden kaynaklandı nı saptamı lardır.

Ülkemizde *Brucella* vakalarının fazla görüldü ü Kars merkez ve ilçelerine ba lı yerlerde yaptı ı çalı mada, *Brucella* enfeksiyonunun oldu u bilinen 22 yerle im biriminden alınan 712 adet inek sütü örne i ELISA ve Milk Ring Test (MRT) ile ara tırılmı , MRT ile %56), ELISA ile %65,59 pozitif sonuç saptanmı tır (Güllüce ve Lelo lu, 1996).

B. melitensis'in üremesinde pH ve tuz oranın önemini belirlemek için, Öztürk ve Nazlı (1996) yaptı ı bir çalı mada *B. melitensis* Rev 1 su u ile kontamine edilen kaynatılmamı inek ve koyun sütlerinden üretilen peynirler de olgunla manın 30. gününden itibaren *B. melitensis* izole edemediklerini ve bu durumu hazırlanan tulum peynirlerinde saptanan pH 5,1–5,2 de erleri ile tuz oranlarının olgunla manın sonuna do ru yükselmesiyle ilgili olabilece ini bildirmi lerdir.

Ba ka bir çalı mada ise, Castell ve ark.(1996), spanya'da 81 adet ev yapımı kaynatılmamı koyun sütünden yapılan peynirde *B. melitensis* varlı nı tespit ettiklerini açıklamı lardır.

Yine Sudan'da yapılan bir çalı mada 153 adet kaynatılmamı deve sütünde % 10.5 oranında *B. abortus* varlı nı saptamı lardır (Obied ve ark.,1996) .

Acedo ve ark.,(1997), Meksika'da 335 adet taze beyaz peynir, 265 adet kaynatılmamı inek sütü ve 24 adet kaynatılmamı keçi sütü örneklerinde *Brucella spp.* varlı nı ara tırmı lardır. Ara tırma sonucunda beyaz peynirlerde % 7,5, kaynatılmamı inek sütlerinde % 2,3 ve kaynatılmamı keçi sütlerinde % 4,2 oranında *B. abortus* ve *B. melitensis* varlı nı saptamı lardır.

Ba ka bir çalı mada, Irak'ın Musul ehri semt pazarlarında satılan 85 adet taze peynirin 8 tanesinde ve 65 adet Kishfa peynir (yöresel koyun peyniri)'inin 3 tanesinde *Brucella spp.* izole edilmiştir (Hadad ve ark., 1997).

Bir yıl sonra Hadad ve ark., (1998) yaptığı ba ka bir çalı ma ise, Irak'ın Musul ehrinde bulunan manda cinsi sınırlara ait süt ve süt ürünlerinden 160 adet örnekte *Brucella* izolasyon çalı ması yapılmış ve % 5 düzeyinde *Brucella* pozitiflik tespit edilmiştir.

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

Brezilya'da yapılan bir çalı mada Langoni ve ark. (2000), serolojik yöntemlerle pozitif olarak nitelendirilen ineklerden alınan süt örneklerine bakteriyolojik kültür teknikleri uygulanmıştır. Çalı ma sonucunda 49 süt örneğinden 15'inin (% 30.61) *B. abortus* açısından pozitif olduğunu tespit ederek bildirmiştir.

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

Ba ka bir çalı mada ise Kalender ve ark. (2001), Elazığ, Tunceli ve Erzincan illerinden toplanan 78 adet taze tulum peyniri örneğinin 16'sından (% 20.5) *Brucella* türlerini izole etmiştir.

Yine Elazığ'da yapılan ba ka bir çalı mada Patır ve Dinçö lu (2001), tüketime sunulan 30 adet beyaz peynir ve 55 adet tulum peynirinde *Brucella* etkenlerinin varlığını araştırmıştır. Sonuç olarak, 1 adet beyaz peynir (% 3,33) ve 1 adet tulum peyniri örneğinde (% 1,18) *Brucella spp.* varlığını tespit etmiştir. 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 bulmuştur.

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

Milk Ring testini (MRT) kullanarak tırmak 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.* varlığını ve kontaminasyon düzeyi araştırılmıştır. Çalışma sonunda 35 tane koyun peynirinin 5 adetinde *B. melitensis* izole edilmiştir. Ancak kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinde ise *Brucella spp.* varlığını saptayamamışlardır (Kasımoğlu, 2002).

Brucella türlerini tespit etmek için yapılan bir çalışmada; 52 sığırcı, 21 koyun, 18 keçi ve 12 deveden topladıkları 103 süt örneğini sırasıyla Standart Tüp Aglutinasyon testi (SAT), Rose Bengal Plate testi (RBPT), Milk Ring testi (MRT) ve Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) teknikleri ile incelemiştir. PCR'la 29 sığırcı, 10 koyun, 13 keçi ve 1 deve süt örneğinden *Brucella* DNA'sı amplifiye edilmiştir. Direkt kültür metoduyla ise 24 sığırcı, 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).

Türütölu ve ark.(2003), yaptıkları başka bir çalışmada ise, Burdur yöresinde sığırcı sütlerinde *Brucella spp.* varlığını ve *Brucella* türlerine karşı olumsuz 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 değişikliğinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Erzurum piyasasından topladıkları çeşitli peynir örneklerinde *B. abortus* antijenlerinin sıklığını ELISA tekniği ile araştıran Güllüce ve ark. (2003), çalışmaları 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

saptamı lardır. Civil peynir ve lor peyniri örneklerinde ise *B. abortus* antijenine rastlamamı lardır.

Kayseri ili ve ilçe semt pazarlarında satılan kaynatılmamı sütlerden yapılmı taze beyaz peynirlerden 100 adet örnek alan, Bu daycı (2003), yaptı ı çalı ma sonucunda örneklerin 13' tanesinde (% 13) *Brucella* yönünden pozitif bildirmi tir.

zmir'de çe itli semt pazarlarında satılan sokak sütlerinin mikrobiyolojik özellikleri üzerine yapılan çalı mada ise. 101 süt örne i toplanmı ve bunlardan 95 adetinin *Brucella* riski bakımından pozitif oldu u tespit edilmi tir (Yetilmez ve ark., 2003).

Eren (2004), Afyonkarahisar'da piyasadan topladıkları 100 adet beyaz peynir örne inin % 2'sinde *Brucella spp.* saptamı tir.

Süt kullanılarak çok sayıda ürün elde edildi i bilinmekte olup bunlardan biriside dondurmalarıdır. Dondurma örneklerinden *Brucella* izolasyonu ile ilgili yaptıkları ara tırmada 80 vanilyalı, 75 çikolatalı ve 62 meyveli olmak üzere toplam 214 dondurma örne ini incelemi lerdir. Yapılan çalı ma sonucunda, çikolatalı ve meyveli dondurmalarından *Brucella* izole edilmez iken vanilyalı olan yani içinde süt bulduran dondurmaların 5 tanesinde *B. abortus* izole ettiklerini bildirmi lerdir (Küplülü ve Sarımehmeto lu, 2004).

Erzurum ilinin bazı köylerinde ineklerden alınan numunelerde *B.abortus* seroepidemiolojisini saptamak amacıyla yapılan ara tırmada; toplanan 560 süt örne i ELISA yöntemi ile çalı ılmı , 96 (% 17)'sında *B.abortus* IgG açısından pozitif bulmu lardır (Adıgüzel ve ark., 2004).

Alim ve Tomul (2005), Sivas il merkezindeki semt pazarlarında satılan taze peynirlerde *Brucella* cinsi bakterilerin ara tırılması amacıyla yaptıkları çalı mada; 2003 yılında toplanan 42 örne in 3'ünde (% 7.1) ve 2004 yılında toplanan 47 örne in 4'ünde (% 8.5) *Brucella* cinsi bakterilerin üredi ini tespit etmi lerdir.

Isparta merkez ve merkeze ba lı ilçelerinde çalı ma yapan Sertta (2006), 500 adet süt örne i üzerinde ELISA ve Milk Ring Testi (MRT) yöntemini kullanmı tir.

Ara tırma sonucunda; MRT testi ile 281 (% 56,1), ELISA testi ile 36 (% 17,2) adet pozitif sonuç elde etmi tir. Buradan yola çıkarak ELISA testinin MRT göre daha duyarlı, spesifik ve yalancı sonuçlar vermedi ini bildirmi lerdir.

Samsun ilinde 50' er adet inek sütü ve keçi sütünde *Brucella* antikorlarının saptanması amacıyla yapılan bir ara tırmada ise, toplam 100 adet süt örne inde Aglütinasyon testi (Whey-AT) ve Milk Ring Test (MRT) ile *Brucella* antikorlarının varlı ı çalı ılmı tır. Milk Ring Test (MRT) sonuçlarına göre inek sütü örneklerinin % 20'si keçi sütü örneklerinin de % 12'si *Brucella* antikorları yönünden pozitif bulunmu tur. Serum aglütinasyon testinde (Whey-AT) belirlenen antikor titrelerine göre; inek sütü örneklerinin % 8'i pozitif, % 6'sı üpheli, % 86'sı ise negatif; keçi sütü örneklerinin ise % 6'sı pozitif, % 4'ü üpheli, % 90'nın da negatif oldu u saptanmı tır (Terzi, 2006).

Ata ve ark.(2007), Sivas il merkezinde satı a sunulan taze ve salamura beyaz peynir örneklerinden aldıkları 135 adet örne in 8'tanesinde (% 5.9) *Brucella* cinsi bakterileri izole etmi lerdir. Bu örneklerden % 2.9'u *B. melitensis*, % 2.9'u *B. abortus* olarak tiplendirilmi tir. Market ve arküterilerde satı a sunulan 120 adet salamura beyaz peynir örne inde ise *Brucella* cinsi bakterilere rastlanmadı ını bildirmi lerdir.

2006-2007 yılları arasında yapılan ba ka bir çalı mada; Mersin ilinin merkeze ba lı 10 farklı köyünden 240 adet kaynatılmamı inek sütü, 122 adet kaynatılmamı koyun sütü, 95 adet kaynatılmamı keçi sütü örne i alınmı tır. Ayrıca Mersin merkezde bulunan 40 farklı pastaneden 105 adet dondurma örne i, semt pazarlarında ve arküterilerde satı a sunulan 102 adet kaynatılmamı süttten yapılmı taze beyaz peynir örne i olmak üzere toplam 664 adet süt ve süt ürünleri örne iyle çalı ma yapan Aydın (2007), *Brucella* cinsi bakterilerin varlı ını ara tırmı tır. Bakteriyolojik de erlendirme sonucunda; 240 inek sütü örne inden ve 105 dondurma örne inden sadece 1'er örnekte *Brucella* cinsi bakteri izole etmi , inek sütünden izole edilen su un *B. melitensis* biovar 1, dondurma örneklerinden izole edilen su un ise *B. melitensis* biovar 3 oldu unu bildirmi tir.

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

İhan 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 geneliğinde 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 karşılaştıklarında, her iki testin sonucunda 8 pozitif ve 78 negatif örnek olduğunu, PCR ile MRT'yi karşılaştıklarında ise 22 örneğin pozitif, 72 örneğin negatif olduğunu açıklamışlardır. PCR ve MRT testlerini karşılaştıklarında aralarında % 96 gibi bir uyum olduğunu ve bu iki testinde *Brucella* ara tırmalarında duyarlı olabileceğine kanaatine varmışlardır.

13 sığırcı ve 40 bufalodan elde edilen toplam 53 adet süt örneği üzerinde çalışmaya yapan Patel ve ark. (2008), PCR ve ELISA teknikleri ile *Brucella* antikörlerini belirlemeyi 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.

Taçcı (2009), Ankara'da tüketime sunulan market, pazar ve pastanelerden alınan 35 mutfaklık tereyağı, 35 krema ve 35 krem antili 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'er 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 örneğini toplamı lar ve PCR yöntemiyle inceledikleri 50 adet süt örneğinde *B. melitensis* saptamı lar dır.

Sı ır sütlerinde *B. abortus*'un te hisi için 50 süt örneğini alınmı ancak sütün artırılma ı leminden sonra 46 örnekte PCR yöntemi kullanılarak direkt DNA ekstraksiyonu yapılp etken saptanmı ve hassasiyeti %92 oranında bulunmu tur. Bunun yanısıra 44 örnekte ise Alkalin DNA ekstraksiyon yöntemini kullanarak hassasiyeti % 88 olarak belirlemi lerdir. MRT ile identifikasyon sonucunda ise 36 örnekte *Brucella* tespit edilerek hassasiyet % 72 olarak belirlenmi tir (Al-Mariri ve ark., 2010).

ran'da Zowghi ve ark. (2012), yaptıkları çalı mada; 6472 adet inekten alınan süt örneğinin 1056 tanesini serolojik olarak pozitif, 6472 süt örneğinin 1632'si ise MRT testi ile pozitif olarak bulunmu tur. Bütün süt örneklerine kültür yöntemi uygulanarak 397 adet *B. abortus* izolatu elde edilmi tir. Bu izolatların 119 tanesinin seronegatif olan ineklerden alındı ı belirlenmi tir.

Geçmi lerinde dü ük yapmı keçilerden toplanan 54 süt örneğini inceleyen Gupta ve ark.(2013), serolojik yöntemlerle sadece % 59 örnekte *B.melitensis* tespit edebilmi lerdir. PCR yöntemi kullanarak ise % 88.8 örneğini pozitif bulmu lar dır. Bundan dolayı PCR'ın yüksek hassasiyet ve özgünlü ünün keçi sütlerinde *Brucella*'nın te hisi için de erli bir araç olaca ı ve *Brucella* ara tırması için PCR'ın daha net sonuçlar vereceğini bildirmi lerdir.

ndirekt ELISA yöntemiyle 147 süt örneğini incelenmi ve 13 örneğinin pozitif oldu u geri kalan 134 örneğinin ise negatif oldu u bildirilmi tir (Funk ve ark., 2014).

Yine ran'da yapılan bir çalı mada; 200 adet pastörize edilmemi koyun sütünden üretilen taze peynirleri kültürel yöntemlerle inceleyen Shakerian ve ark. (2015), sadece bir adet (% 0,5) peynir örneğinde *B. melitensis* tespit etmi lerdir.

spanya' da bir çiftlikte pastörize edilmemi ve kaynatılmamı süttten yapılan 78 adet keçi peyniri ile yapılan çalı mada, 11 adet örnekte *B. melitensis* varlı ı tespit edilmi tir (Mendez ve ark., 2015).

B.abortus'un fermente süt ürünleri ve buzdolabı ısısında canlılıkları ara tırlımı ve *B.abortus* inoküle edilen fermente süt ürünlerinde bu bakterilerin canlı kalabilece i bildirilmi tir. Ayrıca pastörize edilmeyen kontamine fermente süttten *Brucella*'nın bula abilece i de belirtilmi tir (Zuniga ve ark., 2016) .

3.2.HAYVAN SEKRESYONLARI, PLASENTA, MİDE İÇERİSİ, ÇİĞ ORGANLAR VE KAN SERUMLARI

Hayvanların; sadece süt ve süt ürünlerinin yanı sıra; plaseanta, mide içeri i, iç organlarından ve kan serumlarından da *Brucella* bula maktta gerek hayvan sahibine, veteriner hekime gerekse tam olarak hayvanın hastalı mını bilmeyip kasaba kestiren ve dolaylı yönden hayvanla temasta olan ki ilere bula ma ihtimali oldukça fazladır.

Fekete ve ark. (1992), yaptıkları çalı mada, anneye ve fetüse ait 105 numuneyi PCR ve bakteriyolojik yöntemlerle incelemi ler ve bu numunelerden 56'sını kültürel metotla, 55'ini PCR ile pozitif bularak hassasiyetin % 97 oldu unu bildirmi lerdir.

Van Belediyesi mezbahasında kesimi yapılan 636 adet koyun ve bölgede atık yapımı 469 koyunun kan serumları ile 518 adet sı ırın sütleri incelenmi tir. Kan serumlarında RBPT ile yapılan serolojik incelemede; mezbahada kesimi yapılan koyunlardan 29'unda (% 4.5), yavru attı ı bilinen koyunların ise 63'ünde (% 13.4) *Brucella* spesifik antikor varlı mını tespit etmi lerdir. Sı ırlardan alınan 518 süt örne inin süt halka testi ile yapılan serolojik incelemesinde 11 tanesini (% 2.1) *Brucella* yönünden pozitif olarak bulmu lardır (Gürtürk ve ark., 1994).

Yine Çetinkaya ve ark. (1999), 16 adet koyun mide içeri ini *Brucella* yönünden kültür teknikleriyle inceleyerek, 5 örne i pozitif olarak belirlemi lerdir. Yine bu örnekler PCR yöntemiyle incelendi inde ise; 4'ünün pozitif, 1 örne in ise negatif oldu u tespit edilmi tir.

Omer ve ark. (2000), 1294 inekten aldıkları 110 (%8.5) örnekte seropozitiflik tespit ederken bunun yanında 62 erkek sı ırdan sadece 1'inde (% 1.6) seropozitiflik oldu unu bildirmi lerdir. Laktasyon ve gebelik durumuna bakılmaksızın yeti kin sı ırlarda seropozitifli in yüksek oldu unu, do um yapmamı genç ineklerde ise seropozitiflik oranını % 3 oldu unu belirtmi lerdir.

B. melitensis ile enfekte oldukları bilinen karantinaya alınmış çiftliklerden serolojik olarak pozitif olan 65 boğa ve 55 koçaya 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 edilmiştir. 120 örneğin tamamına uygulanan direkt PCR metodu ile 7 boğa ve 5 koç semen örneğinde *B. melitensis* saptanmıştır (Amin ve ark., 2001).

Öngör ve ark. (2001), koyun sürüsünde atık yapmış koyunlardan *Brucella melitensis*'e karşı olan antikolları, Enzyme-Linked Immunosorbent 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 saptanmıştır. 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 saptanmıştır. Bu değerler karşılaştırıldığında; ELISA ile CFT, SAT, 2-ME-MAT ve DTT-MAT arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) ancak ELISA ile RBT sonuçları arasında önemli ölçüde az bir farklılık olduğunu bildirmiştir.

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

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

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

Yine ara tırcılar atık sıvı fetüsünden aldıkları örneklerle yapılan çalışmada % 30.03 %58.7 arasında *Brucella* tespit edilmiştir (Güler ve ark., 2003).

Aklanmamı ve 163 dük yapımı sı ır kan serum örneklerinde çalı ma yapılmı ve bu numuneler, Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Complement Fixation Testi (CFT), Rose Bengal Testi (RBT) ve Serum Agglutination Testi (SAT) ile incelenerek ara tırma sonucunda % 62.5- % 68.1 oranında *Brucella* tespit edilmi tir (Genç ve ark., 2004).

Hatay yöresinde ELISA yöntemiyle kan örnekleriyle çalı ma yapılmı ve sonuç olarak 462 koyunun 155'i (% 33.5) ve 458 keçinin 177'sinde (% 38.6) Brusellozis seropozitif bulmu lardır. Dük yapan 72 koyunun 56'sında (% 77.8), 157 keçinin 71'inde (% 45.2) ve dük yapmayan 390 koyunun 99'unda (% 25.4), 301 keçinin 106'sında (% 35,2) hastalı ın seropozitif oldu u ve hem koyun hem de keçilerde dük yapanlardaki seropozitiflik oranlarının, dük yapmayan hayvanlardaki orana göre önemli derecede yüksek oldu unu bildirmi lerdir (ahin ve Yıldız, 2006).

Salehi ve ark. (2006), 95 dük fetüs ve 25 insan kan kültürünü RFLP-PCR analiz yöntemini kullanarak incelemi lerdir. Sonuç olarak 95 fetüs örne inin 92'si (% 97) *B.melitensis* biyotip 1 ve 3 örnek ise (% 3) *B.abortus* olarak bildirilmi tir. Ayrıca 25 insan kan kültürünü incelediklerinde ise; 24 örne i (% 97) *B.melitensis* biyotip1, bir örne i (% 4) ise *B.abortus* olarak saptamı lardır.

Büyükcangaz ve en (2007); 2004 ve 2005 yıllarında Marmara Bölgesinde atık sı ır fetüsünün iç organları ve abomazum (dördüncü midenin yer de i tirmesi) içeriklerinden % 19.5'inde *Brucella spp.* izole etmi lerdir.

Kars ilinin 9 farklı köyünden dük yapımı koyunlardan alınan 167 kan örne ini Serum Aglutinasyon testi (SAT) ile inceleyen ara tırcılar 71'inde (% 40,11) *B.melitensis* pozitif oldu unu belirlemi lerdir (Otlu ve ark., 2007).

301 sı ır ve 503 koyundan alınan toplam 804 serum örne i ile yapılan ara tırma sonucunda RBT ile 52 adet (% 6.47) seropozitiflik gözlemlenmi tir. Pozitif olarak tespit edilen hayvanlar SAT testi ile de aynı sonuçları vermi tir. CFT testi ile yapılan do rulama tayininde sı ırlarda seropozitifli i %1 ve koyunda % 8 olarak saptamı lardır (Apan ve ark., 2007).

Kesime götürülen 162 koyunla yapılan ba ka bir çalı mada ise; izolasyon, PCR ve serolojik bulgu sonuçları kar ıla tırılmı tır. izolasyon sonucunda kandan iki tane, lenf dokusundan 28 tane *B. melitensis*, PCR yöntemiyle ise kanda 45 adet, lenf dokusunda 47 adet pozitif sonuç bulmu lardır. Ayrıca 45 koyunun ise *Brucella* yönünden seropozitif oldu unu saptamı lardır (İhan ve ark., 2008).

Aydın ili çevresinde bulunan sı ırlardan rastgele örnekleme metodu ile toplanan 200 adet sı ır kan örne inin 57'sinde PCR ile yapılan çalı malar sonucunda % 60-%65 oranında *Brucella* tespit edilmi tir (Parin, 2008).

2001-2006 yılları arasında geçmi lerinde dü ük hikâyeleri olan 27 sürüden alınan 626 serum örne i ile yapılan ara tırmada, Rose Bengal testi (RBT), Serum Agglutination Test (SAT) ve ELISA yöntemleriyle *Brucella* türlerini belirlemeye çalı mı lardır. Ara tırma sonucunda % 52-%58 oranında *Brucella* tespit etmi lerdir (ahin 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 incelemi ler 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 saptamı lardır.

26 sı ır, 45 koyun ve 55 keçi sürüsünden topladıkları 1670 serum örnekleri RBT (Rose Bengal Test) ve ELISA testi ile analiz edilmi tir. Ara tırma sonucunda RBT ile koyun sürüsünde % 26.66, keçi sürüsünde % 18.88 ve sı ır sürüsünde % 21.6 *Brucella* prevalansı tespit etmi lerdir. ELISA testi ile koyun sürüsünde %21.20, keçi sürüsünde % 14.5 ve sı ır sürüsünde % 17.22 olarak *Brucella* prevalansını belirlemi lerdir (Kaoud ve ark., 2010).

Çelebi ve Otlı (2011); Kars il merkezi ve Selim ilçesine ba lı köylerde atık yaptı ı bilinen sı ır sürülerinde bulunan ve hastalı a kar ıla ılanmamı 250 inekten aldıkları 500 süt ve vaginal svap örneklerini *Brucella* cinsi bakteriler yönünden kültürel olarak de erlendirmi lerdir. nceleme sonucunda 250 süt örne inin % 4.4'ünden ve 250 vaginal svap örne inin % 6.4'ünden toplam % 5.4 örnekten *Brucella* spp. izolasyonu yapmı lardır. Bu izolatların PCR incelemesinde hepsinin

Brucella spp. ve saha suları olduğu bildirilmektedir. İzole edilen tüm suları *B. abortus* biyotip 3 olarak sınıflandırmışlar, ayrıca bu izolatların RAPD-PCR ile incelenmesi sonucunda DNA profillerinin, *B. abortus* S19 ile homoloji gösterdiğini tespit ederek bildirmektedirler.

3.3. NSAN KAN SERUMLARI

Al-Attas ve ark. (2000), Bruselloz hastalarından alınan 17 kan örneğinde çalışmış ve sadece 14'ünü tedaviye başlamadan önce pozitif bulmuşlardır. Örneklerin incelenmesinde; seroloji, kültürel metotlar ve PCR kullanılmışlardır. Bütün örneklerin Standart Tüp Aglütinasyon testi (STA) ile yüksek titre gösterdiğini ve %57 pozitif olduğunu, PCR ile % 100 hassasiyetlik derecesinde bütün örneklerin pozitif olduğunu bildirmektedirler. 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 bakteriyeye karşı olan antikorların tespitinin, hastalığın tanı ve tedavisinin takibinde anlamlı olduğunu belirtmişler ve hastaların % 18,7'sinde kanda, % 28,1'inde kemik iliğinde üreme olduğunu bildirmektedirler (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).

Koço lu ve ark. (2008), 15 ya ın üstünde olan 67 ki ide *Brucella* antikorlarının varlı nı Rose Bengal Testi (RBT) ve Serum Aglutinasyon Testi (SAT) ile ara tırmı lar ve bunların 67 olgunun 10'unda (% 15) RBT pozitif, 8'inde (% 12) ise SAT pozitif oldu unu bildirmi lerdir.

Kars ilinde 2004-2006 yılları arasında brusellozisin prevelansını ara tırmak için çiftçilerden, veterinerlerden ve sı ırlardan aldıkları kan serum örnekleri üzerinde inceleme yapan ara tırmacılar toplam 407 serum örne ini ve 27 farklı sürüdeki dü ük hikâyesi olan sı ırlardan, 130 erkek, 116 kadın olmak üzere 246 serum örne ini çiftçilerden ve 28 serum örne ini de veteriner hekimlerden toplamı lardır. Bu serum örneklerini RBT, SAT ve ELISA testleriyle *Brucella* antikorları yönünden analiz yapmı lardır. Sı ır serumlarından yapılan analizlerde RBT ile 134 (% 32.92) ve SAT ile 141 (% 34.64) pozitiflik belirlenmi tir. Ara tırmalar 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 bulunmu tur. Cinsiyet bakımından çiftçiler arasında seropozitiflik bakımından önemli bir fark ayırt edilmemi tir. Veteriner hekimlerden alınan 28 serum örne inin serolojik incelemesi sonucunda 13 örnekte (% 46.42) pozitiflik saptamı lardır (Oflu ve ark., 2008).

4. MATERYAL VE METOD

4.1. MATERYAL

4.1.1. Örneklerin Toplanması

Çalı mamızda 2016 yılı Mart ile Eylül ayları arasında Kır ehir il merkezi ile il merkezine ba lı merkez dı ndaki mahalleler ve merkeze ba lı 14 farklı köyden toplanan 202 adet kaynatılmamı inek sütünde *Brucella* cinsi bakteri olan *Brucella abortus* aranımı tır. Örneklerin özellikle *Brucella a ısı* olmamı , mandra sisteminde olmayan hayvanlardan toplanmasına dikkat edilmi , ancak hayvan sahiplerinin bu konuda yeterince bilgi sahibi olmamasından dolayı kesin tespit yapılamamı tır.

Gerek merkezden gerekse köylerden toplanan süt örneklerinin üreticilerin kendi ihtiyaçlarını kar ılamak ya da küçük pazarlarda satı yapmak için üretilenlerden olmasına özen gösterilmi tir. Örnekler alınırken hayvan sahipleri ile konu ulmu ürettikleri süt ve süt ürünlerini nasıl de erlendirdikleri hakkında bilgi de alınımı tır.

Yapılan görü meler ve alınan bilgiler sonucunda genelde hayvan sahiplerinin direkt olarak kaynatılmamı inek sütü tüketiminin olmadı ı fakat kaynatılmamı inek sütünden peynir, çökelek gibi süt ürünlerinin yapıldı ı anla ılmı tır.

nek sütü örnekleri; Kır ehir il merkezi, merkeze uzak 3 mahalle ve 14 farklı köyden toplanımı tır.

202 adet kaynatılmamı inek süt örneklerin toplandı ı köy ve mahalle isimleri örnek sayısı Tablo 4.1. de gösterilmi tir.

Tablo 4.1. Süt Örneklerinin Toplandığı Yerlerin İsimleri ve Sayıları

Merkez/Mahalle/Köy isimleri	Toplanan Örnek Sayısı
Kır ehir/Merkez	64
Be evler Mahallesi	7
Kındam Mahallesi	15
Göhlisar Mahallesi	14
Sevdi in Köyü	6
Çaya zı Köyü	2
Ye illi Köyü	6
Çu un Köyü	10
Taburo lu 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' er ml steril a zı kapalı plastik tüplere alınmıştır. Yine örnekler köylerden alınırken köylünün evindeki inek sayısı baz alınarak her bir ine in sütü ayrı bir steril tüpe konulmuştur. Örnekler so uk 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. neklerden sütleri toplama i lemi



Resim 4.2.Süt rneklerinin laboratuvara so k zincirde getirilmesi



Resim 4.3.Süt örneklerinin uygulanacak testlere hazırlanması

4.1.2. Kullanılan Araç Gereçler

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

- J Mikropipet Uçları
- J Pipet ucu
- J Balon joje
- J Ependorf tüpler
- J Cam i e
- J Deney tüpleri
- J Vial kapaklı tüp
- J Beher glas
- J Kürdan
- J Pamuk
- J Süzgeç ka ıdı
- J 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 (FITika 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

Çalı mada hazır besiyeri kullanılmı tır. Besiyerinden 28,10 gram alınıp 1 litre distile suda çözdürüldükten sonra besiyeri otoklavda (Nüve OT 40L) steril edilmi ve aseptik artlarda steril petrilere dökülüp kontaminasyonunu kontrol etmek amacıyla bir gece 37°C'de etüvde (Nüve EN 500) inkübe edilmi tir. Daha sonra besiyerleri kullanılıncaya kadar buzdolabında +4°C 'de saklanmı tır.



Resim 4.7. *Brucella* agar besiyerinin laboratuvar ortamında hazırlanı 1

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 çözdürülmü tür. Erlenmayere konularak otoklavda steril edildildikten sonra steril tüplere da ıtılmı tır.



Resim 4.8. Hazırlanmı serum fizyolojik (NaCl)

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

Kır ehir merkez arküteri esnafından peynir mayası alınmıştır.



Resim 4.9. Çalı mada kullanılan peynir mayası

4.2. METOD

4.2.1. Milk Ring Testi (MRT)

MRT testi Alton ve arkadaşlarının (1988) bildirdiği yöntemine göre 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 karışması 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.



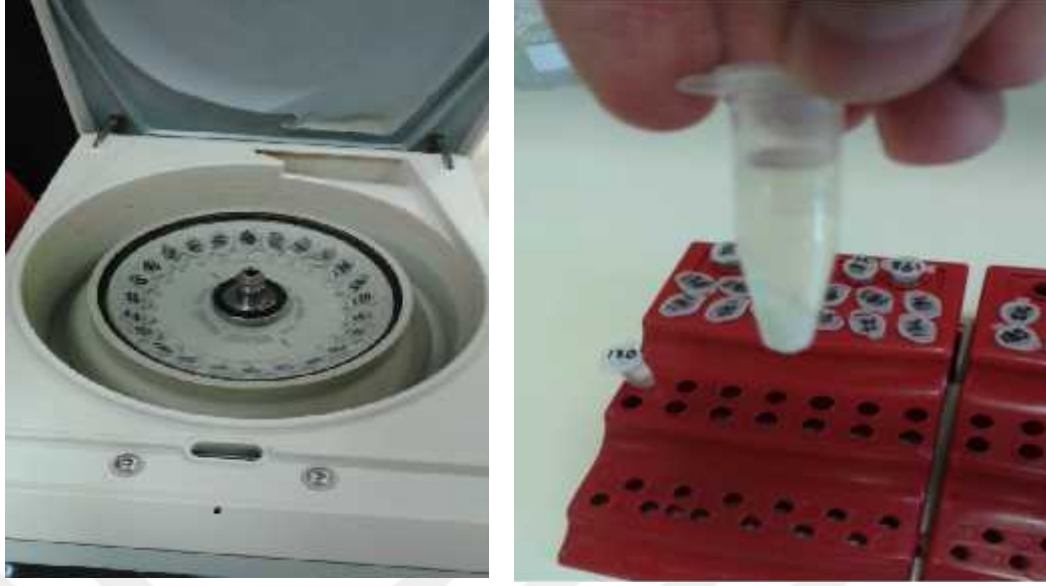
Resim 4.10. Milk ring test sonuçlarının değerlendirilmesi

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. Süttten elde edilen serumlar Rose Bengal test antijenine tabi tutulmuştur.



Resim 4.11. Örneklerden süt serumunun elde edilmesi



Resim 4.12. Süt serum örneklerinin santrifüj i lemi

4.2.3. Rose Bengal Testi (RBT)

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

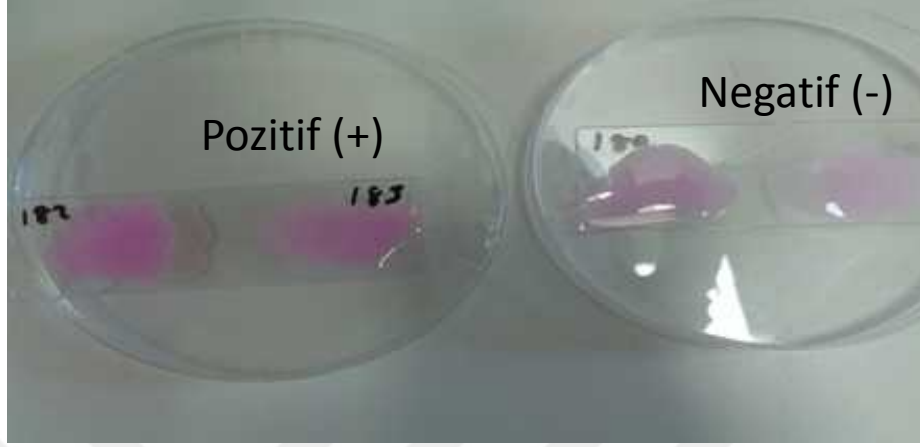
Ön hazırlık

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

Testin uygulanması

- ✓ 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 kümeleme olması pozitif, homojen görünüm ise negatif aglütinasyon olarak değerlendirildi.

Rose Bengal testinde yani te his 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)

Te his 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.

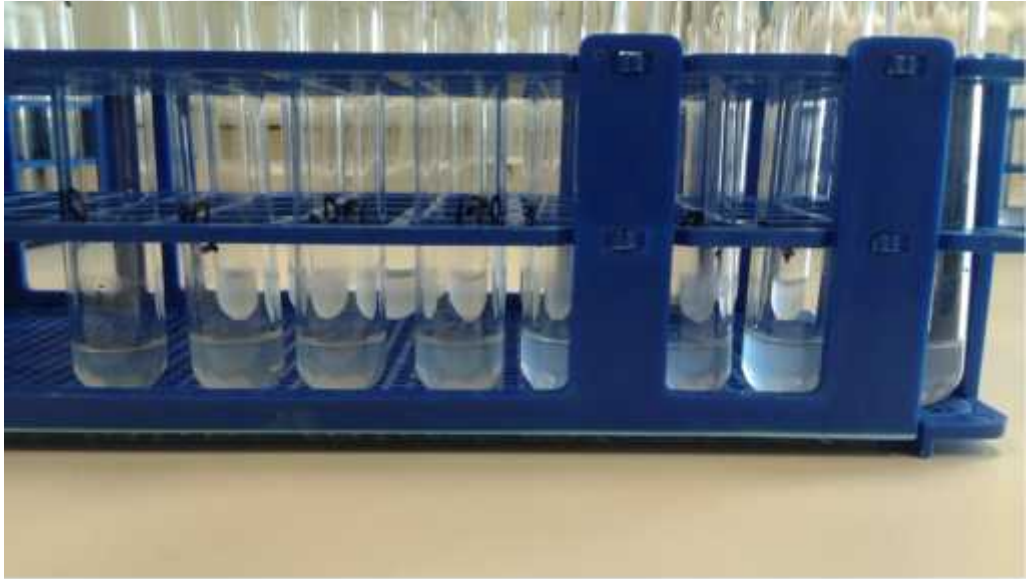
Ön hazırlık

- ✓ 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.

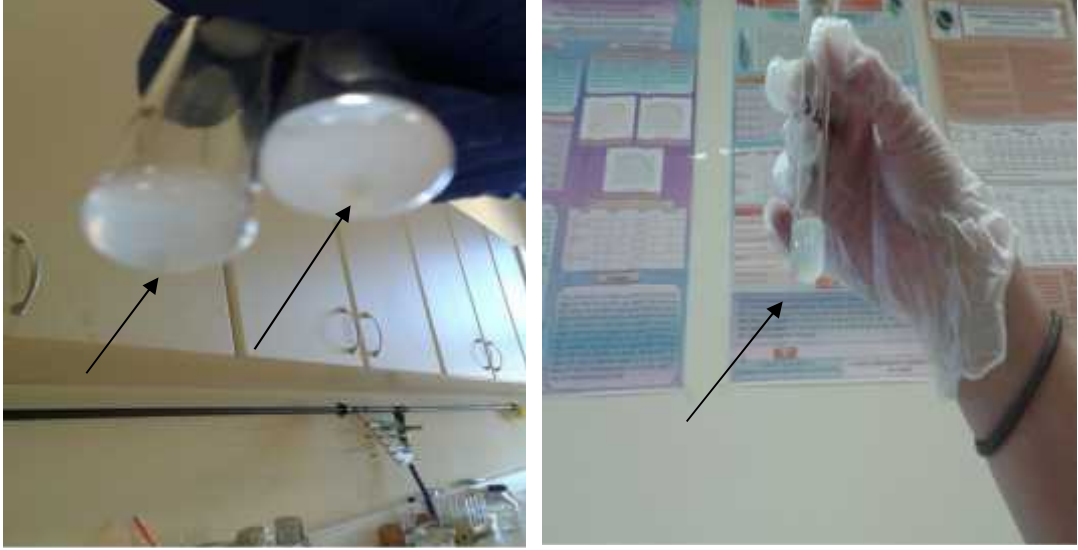
Testin uygulanması

- ✓ 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 işlem 8. tüpe kadar devam edildi ve 8.tüpten 0.5 ml alınıp dıarı 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.
- ✓ inkübasyonu 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 üzerindedir.



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 çeli en örneklerimizin *Brucella* Agar besiyerine ekimi yapılmı tır.

4.2.5. *Brucella* Agar Besiyerine Ekim

Daha önce aseptik artlarda steril petrielerde hazırlanmı olan *Brucella* Agar'lı plaklara; üpheli ve çeli kili 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 yapılmı tır.

Besiyerine ekimi yapılan örnekler etüvde 37°C' de inkübe edilmı tır. Be inci günün sonunda etüvden çıkarılan besiyerleri incelenmi tır. Ekim yapılan plaklarda *Brucella* bakterisinin üremesi genellikle üçüncü günden sonra ba lar ve maksimal geli me 5-7 günde tamamlanır. Bu süre sonrasında sonuçlar de erlendirilmı tır.



Resim 4.16. *Brucella* kolonilerinin besiyerindeki görüntüleri

Çalı mamız sırasında laboratuvarında uygulanan tüm i lemler a a ıda özetlenmi tir:



Süt örneklerinin tamamına MRT uygulaması



MRT'si pozitif olan numunelerden Brucella Agar 'a ekim



Brucella agarda üreme gösteren koloniler

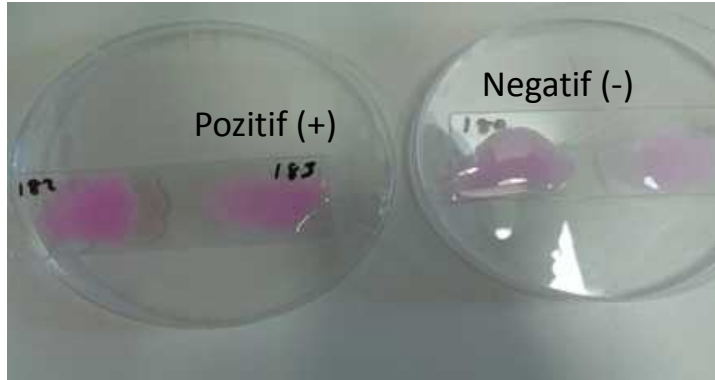




Örneklerden süt serumunun çıkarılması



Süt serumlarının santrifüj i lemi ve sonucu



Süt serumlarına Rose Bengal testinin uygulanması





Standart tüp aglütinasyon testinin uygulanması



STA testi sonrası ekim yapılması



MRT/STA

KAR İLA TIRILMASI



SONUÇ : % 17,32 ÜPHEL (35 ADET)

5.BULGULAR

Bu çalı mada; 2016 yılı Mart ile Eylül ayları arasında, Kır ehir il merkezi ile merkez dı ındaki mahalleler ve merkeze ba lı 14 farklı köyden toplanan 202 inek sütü örne inde *B. abortus* varlı ı ara tırılmı tır.

Çalı maya dahil edilen bütün örneklere Milk Ring testi (MRT) uygulanmı tır. Tablo 5.1.'deki verilere göre; 202 adet süt örne inin Milk Ring testi sonucunda 69 adedi (% 34.15) pozitif olarak gözlemlenmi tir. Geriye kalan 133 örne imiz (% 65.85) ise negatif sonuç vermi tir.

Tablo 5.1.Süt Örneklerinin Milk Ring Testi Sonuçları

MRT SONUÇLARI	
POZ T F	69 ADET (% 34.15)
NEGAT F	133 ADET (% 65.85)

Çalı maya dahil edilen bütün örneklere MRT'den sonra Rose Bengal testi (RBT) uygulanmı tır. MRT ile negatif çıkan 133 örne in RBT ile 2 adedi pozitif bulunmu tur. MRT ile pozitif çıkan 69 örne in ise RBT'de 36 tanesi pozitif olarak belirlenirken, 33 tanesi negatif olarak tespit edilmi tir. Buna göre 202 süt örne inin 38 tanesinin (% 18.81) RBT sonucu pozitif olarak bulunmu tur.

Rose Bengal testine (RBT) göre pozitif sonuç veren örneklerde Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Testi (STA) çalı ılmı tır. RBT pozitif olan toplam 38 süt serum örne inin 3 tanesinin Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyonu testinde titresi 1/40 ve altında çıkt ı için negatif kabul edilirken, 1/40 ve üzeri olan örnekler pozitif olarak kabul edilmi tir. Tablo.5.2. incelendi inde; 35 örne in 25 tanesinin titresi 1/40

çıkarken,10 tanesininde titresi 1/60 olarak belirlenmi tir. Milk Ring testinde pozitif çıkıp Rose Bengal testinde negatif çıkan ya da bu durumun tam tersinden üphelenilen 22 örnekte ise Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Testi çalı ılmı tir. Fakat 22 örne in,11 tanesinin titresi 1/20'de kalır iken 11 tanesinin titresi de 1/10 olarak belirlenmi tir.

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

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

Çalı mamızda 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 yapılmı tir. Bu ba lamda toplam olarak 202 süt örne inin 74 adedinin (% 36.63) besiyerine ekimi yapılmı tir. Ekim sonucunda bu süt örneklerinin 35 adedi (% 47.29) iyi bir ekilde üreme gösterirken, geriye kalan 39 adet süt örne inin (% 53.71) besiyerine ekim sonucu negatif olarak gözlemlenmi tir. Bu numunelerde *Brucella* cinsi bakterilerin olabilece i dü ünülmü tür. Besiyeri ekim sonuçlarımız STA sonuçları ile orantılı olarak çıkmı tir. Bundan dolayı STA ve besiyeri ekiminin birbiriyle uyumlu oldu u da tespit edilmi tir.

Yapılan testler Tablo 5.3.'de incelendi inde; 202 süt örne imizin MRT, RBT ve STA sonuçları kar ıla tırılmı , bu testlerden herhangi birinde pozitif sonuç veren örneklerin besiyerine ekimi yapılmı , üreme olan ve di er testlerle orantılı çıkan özellikle STA testiyle uyumlu olan örneklerimiz genel de erlendirmede üpheli olarak belirtilmi tir. Buna göre 202 süt örne inin 35 adedi (% 17.32) üpheli olarak de erlendirilmi tir.

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

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

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

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

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

61	Kır ehir-Merkez	-	-	-	-	-
62	Kır ehir-Merkez	+	-	-	-	-
63	Kır ehir-Merkez	-	-	-	-	-
64	Kır ehir-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	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
86	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
87	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
88	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
89	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
90	Taburo lu köyü	+	-	-	-	-

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

91	Taburo lu köyü	+	+	+	+	±
92	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
93	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
94	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
95	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
96	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
97	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
98	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
99	Kumarkaç köyü	-	-	-	-	-
100	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
101	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
102	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
103	Taburo lu köyü	-	-	-	-	-
104	Taburo lu köyü	+	+	+	+	±
105	Sevdi in köyü	+	+	+	+	±
106	Sevdi in köyü	+	-	-	-	-
107	Sevdi in köyü	-	-	-	-	-
108	Sevdi in köyü	-	-	-	-	-
109	Sevdi in köyü	-	-	-	-	-
110	Sevdi in köyü	-	-	-	-	-
111	Ye illi köyü	-	-	-	-	-
112	Ye illi köyü	-	-	-	-	-
113	Ye illi köyü	-	-	-	-	-
114	Ye illi köyü	+	+	+	+	±
115	Ye illi köyü	+	+	+	+	±
116	Ye illi 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 De erlendirme Bulguları (Devamı)

121	Çaya zı köyü	-	-	-	-	-
122	Çaya zı köyü	-	-	-	-	-
123	Çu un köyü	-	-	-	-	-
124	Çu un köyü	-	-	-	-	-
125	Çu un köyü	-	-	-	-	-
126	Çu un köyü	-	-	-	-	-
127	Çu un köyü	+	+	-	-	-
128	Çu un köyü	+	+	+	+	±
129	Çu un köyü	+	-	-	-	-
130	Çu un köyü	-	-	-	-	-
131	Çu un köyü	-	-	-	-	-
132	Çu un 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	Hamurlüçler köyü	-	-	-	-	-
143	Hamurlüçler köyü	+	+	-	-	-
144	Hamurlüçler köyü	-	-	-	-	-
145	Hamurlüçler köyü	-	-	-	-	-
146	Hamurlüçler köyü	-	-	-	-	-
147	Hamurlüçler köyü	+	+	+	+	±
148	Hamurlüçler köyü	-	-	-	-	-
149	Hamurlüçler köyü	-	-	-	-	-
150	Hamurlüçler köyü	-	-	-	-	-

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

151	Hamurlüüçler köyü	-	-	-	-	-
152	Hamurlüüçler köyü	-	-	-	-	-
153	Hamurlüüçler köyü	-	-	-	-	-
154	Hamurlüüçler köyü	-	-	-	-	-
155	Hamurlüüçler köyü	-	-	-	-	-
156	Hamurlüüçler 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-Be evler mah.	+	+	+	+	±
168	Merkez-Be evler mah.	-	-	-	-	-
169	Merkez-Be evler mah.	-	-	-	-	-
170	Merkez-Be evler mah.	+	+	+	+	±
171	Merkez-Be evler mah.	+	+	+	+	±
172	Merkez-Be evler mah.	-	-	-	-	-
173	Merkez-Be evler 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 De erlendirme 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	MerkezKındam 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, ± üpheli, oldu unu göstermektedir.

6. TARTI MA VE SONUÇ

Brusellozis; insan ve hayvan sa lı nı etkileyen, hem dünyada hem de ülkemizde enfeksiyöz hastalık olarak önemini sürdürmekte olan zoonotik bir hastalıktır. nekler de; yavru atımı, kısırılık ve süt veriminde azalmaya sebep olması nedeniyle büyük ekonomik kayıplara yol açan bu hastalı nın insanlara da bula arak halk sa lı ı açısından tehlike olu turdu u 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 ara tırmalar giderek önem kazanmaktadır. Yeni endemik bölgelerin tanılanması ve ulusal sınırların ötesinde sıkı yok etme programlarının uygulanması gerekmektedir. Çünkü ara tırmalar yakın gelecekte hastalıkla ilgili ciddi bir artı nın muhtemel oldu unu ve problemin büyüklü ünün de öne çıktı nı yapılan istatistiklerde göstermektedir (Rupesh, 2003; Baddour and Alkhalifa, 2007; Cutler, 2006; Araso lu, 2010).

Özellikle insan brusellozisindeki son yıllardaki artı nın bazı ölkelerde hastalı nın epidemiyolojisindeki de i ikliklerden kaynaklandı ı bildirilmi tir. Bu bilgiler ı ı nda yok etme programları birçok ölkede ba latılmakta olup, ancak ba arı oranı istenilen ölçüde olamamı tir. Bu programlarda; dı etkenlere açık olan hayvanların a ılanması, enfekte çiftlik hayvanların tespiti için ara tırmaların yapılması, müteakip a amada kesim, enfeksiyon tespiti yapılan bölgelerde hareket alanlarının sınırlandırılması önemli basamakları olu turur. Bu a amaların kombinasyonu hastalıktan tamamen ba ımsız yürütölmelidir, ancak ba arı ihtimali, büyük ölçüde birçok farklı grubun uyumlu çalı masıyla ba lantılıdır (çiftçiler, ithalat, ihracat, veteriner hekimler, halk sa lı ı çalı anları, bilim adamları ve hükümet). Bu sa lanamadı ı takdirde ba arı ansı istenilen oranda olamayacaktır (Cutler, 2006, Araso lu, 2010).

Geli mi ölkelerde bile tam olarak yok edilemedi i, fakat çok dü ük düzeylere çekildi i göz önüne alınırsa, ülkemizde Brusellozis etmeninin çe itli kaynaklardan izolasyonu, te hisi ve görülme sıklı ı üzerindeki çalı maların arttırılmasının gere i

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 alıcılığı ve zorluğu, 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 köre tabidir ve günümüzde bakteriyolojik ve serolojik tekniklere dayanmaktadır. Serolojik testler hastalığının indirekt tanısı için önerilen bir metottür. Testler hem kısa sürede sonuç alınabildiği hem de uygun maliyetle temin edilebildiği için *Brucella* ara tırmalarının da çok tercih edilmektedir. Gerek hastanelerde kan serum örneklerinde, gerekse laboratuvar ara tırmalarında 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 doğruluğunu sağlamak amacıyla ve serolojik testlerde birbirini tutmayan çelişkiye düşülen yada üphelenilen örneklere besiyeri ekimi yapılması sonuçların daha güvenilir olmasını sağlarabilmektedir (Önay, 2009; Arasolu, 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 ara tırmalarında zorluklar yaşandığı için Özgül laboratuvar çalışmasında tercih edilmektedir (Leal-Klezevas, 2000; Gupta, 2006; Bounadja, 2009; Arasolu, 2010).

Son yıllarda özellikle süt ve süt ürünlerinde *Brucella* antijen ve antikollarının te hisinde en çok kullanılan testler MRT ve ELISA' dır. MRT'de rol oynayan aglütininler, ya globulinlerine ba lanmı glikoprotein yapısında olup, ısıya ve çalkalanmaya duyarlıdırlar. Bu yüzden MRT'de elde edilen yalancı pozitiflik ve negatifli in en önemli nedeni kaymak tabakasında meydana gelen de i ikliktir. Çok az krema içeren ve hücre sayısı fazla olan donmu , kaynatılmı , pastörize edilmi veya ek imi sütler MRT için uygun de ildir. Esas olarak meme bezlerinde meydana gelen meme enfeksiyonu sonucu olu an IgA antikolları, MRT olu umunda daha aktiftir. IgG, özellikle IgG₁ ya globulinlerine kar ı daha az afiniteye sahiptir. MRT ile di er serolojik testlerde aynı antikor grupları etkin olmadı ından, MRT ile bazı serolojik testlerin uyu mazlı ı bildirilmı tir (Sertta , 2006).

Bu yüzden sadece Milk Ring testi (MRT) sonucuna göre örnekler de erlendirilemez. MRT'den ba ka birkaç test daha numunelere uygulanmaktadır. Örne in; Rose Bengal testi (RBT) ve Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon testi (STA) sonuçları kar ıla tırılarak çeli kiye dü ülen veya sonuçları birbiriyle uyumlu olmayan üphelenilen örneklerin de *Brucella* Agar besiyerine ekimi yapılmaktadır.

Kır ehir ilinde yapılan bu çalı mada sadece kaynatılmamı inek sütü kullanılmı tir. Konakçısı inek olan *B. abortus* aranmı tir. Bunun sebebi ise ç Anadolu bölgesinde büyükba hayvancılı ın, küçükba hayvancılı a göre daha fazla olmasıdır.

Yapılan çalı malar incelendi inde; kaynatılmamı inek sütünde *B. abortus'un* bulunma yüzdesinin, kaynatılmamı koyun ve keçi sütünden daha dü ük oldu u bildirilmektedir. Bu yüzden konakçısı koyun ve keçi olan yani küçükba hayvanlarda bulunan *B. melitensis* insan sa lı ı açısından daha tehlikelidir. Bunun nedeninin de koyun ve keçi sütlerinin fiziko-kimyasal açıdan daha yo un olması ve *Brucella* bakterisinin uzun süre ya amasından kaynaklandı ı dü ünülmektedir. Kaynatılmamı inek sütlerin de bulunan bruselloz büyük ölçüde yok edilmi olmasına kar ın, koyun ve keçi sütlerindeki brusellozun ba ta geli mekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir ekilde devam etti i bilinmektedir. Kır ehir ilinde yapılan bu çalı mada 202 kaynatılmamı süt örne inin 69 adedinin Milk Ring

Testi'nin sonucu pozitif bulunmu tur. Böylece 202 kaynatılmamı 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 yüzdeli in dü mesinin MRT sonuçlarının yalancı pozitif reaksiyonlar verebildi i ba ka çalı malarda da (Sertta , 2006; Araso lu, 2010; Rüstemo lu, 2011) de inilmiştir.

Benzer bir çalı mada; Güllüce ve Lelo lu (1996), Kars bölgesinden topladıkları 712 inek sütü örne inin 401'inde Milk Ring Testi ile % 57.32 oranında *B. abortus* antikorunu pozitif bulmu lardır. Diğer bir çalı mada ise; Uraz ve Yücel (1998), 211 kaynatılmamı süt örne inde yaptıkları çalı mada Milk Ring Testi sonucu örneklerin 32'sinde % 16.17 oranında *Brucella* antikorunu pozitif olarak bulmu lardır.

Yine Alpar ve Tunus (1967), Ankara ve civarından temin ettikleri 31 inek sütü ve 9 karı ık süt örne i olmak üzere toplam 40 örnekte MRT ile % 8.8 oranında *Brucella* antikoru tespit etmişlerdir. Abbaso lu (1988), ise Ankara'nın farklı semtlerinden temin ettiği 32 adet çi süt ve 100 adet pastörize i e ve paket süt örne inde yaptığı çalı mada pastörize i e ve paket sütlerde *Brucella* antikoru bulamazken 32 adet kaynatılmamı süt örne inden bir tanesinde MRT ile *Brucella* antikoru izole etmiştir.

Ba ka bir çalı mada ise; Kenar ve Altındı (2001), Afyon bölgesinden topladıkları 120 süt örne inde yaptıkları Aglütinasyon testi ve Milk Ring testi sonucunda 6 örnekte % 5 oranında *Brucella* antikoru bulmu lardır. Bizim elde etti imiz oran Güllüce ve Lelo lu (1996) tarafından yapılan çalı mada elde edilen orandan daha dü ük, diğer çalı malarda bildirilen oranlardan ise yüksek bulunmu tur. Bunun sebebinin ise bölgelere göre hayvanlarda *Brucella* görülme sıklı ının ve a ılama oranlarının farklı ından kaynaklanabilece i dü ünülmektedir (Tablo 4.3.). Çünkü hem ülkemizde bu konu üzerinde yapılan ara tırma sayısı hem de çalı malarda kullanılan örnek sayısı ile örneklerin sadece belli bir bölgeye ait olması, böyle bir genelleme yapabilmemizi zorla tırmaktadır.

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

di i buza ıların *B. abortus* S19 ile koyun ve kuzuların ise *B. melitensis* REV I ile a ılanması hedeflenmi tir. Projenin uygulanmaya geçirilmesini takip eden 1989 yılında sı ır ve koyun brusellozis sero-prevalansı sırasıyla % 3,56 ve % 1,26 iken bu oranlar 1991 yılında % 1,01 ve % 1,83 olarak de i mi tir. Ancak projenin yürütüldü ü yıllarda insan brusellozis vakalarında bir artı kaydedildi i görülmü tür. 1986'da 100.000'de 3,03 olan insan brusellozis sıklı ı, 1996'da 100.000'de 15,11'e yükselmi tir (Altındı , 2001; Önay, 2009).

Yapılan çalı malar sonucunda ara tırcılar; enfeksiyona yakalanma vakalarındaki artı tan ziyade, tarama çalı malarının kalitesinin ve sayısının artmasına ba lı oldu unu belirtmektedirler. Bu nedenlerle, ister hayvanlar üzerinde, isterse gıdalar üzerinde yapılmı olsun, ara tırmalardan elde edilen bulguların do rudan kar ıla tırılması, ancak çalı maların yapıldı ı ülkelerdeki tarama sayıları ve kaliteleri dikkate alındı ında bir anlam ifade edecektir. Sonuç olarak; yapılması gereken en do ru ey, ülkemizdeki bu tür çalı maların sayı ve kalitesini arttırmaktır. Bu çalı ma bir insidans çalı ması olmamakla birlikte, alınan numune, köy ve hayvan sayılarının % 5'i ile % 10'u oranında olmasına dikkat edilmis tir. Numuneler belirli merkezlerden alınmı olmasına ra men, yerle im birimleri açısından test sonuçları oranı biraz yüksek bulunmu tur. Bu durumun nedeni olarak da hayvan sahiplerinin *Brucella* hakkında yeterli bilgilere sahip olmaması, hayvanların *Brucella*'ya kar ı a ılanmamı olması, hasta hayvanların mezbahaya gönderilerek kesim yapılması ve bu konuda yeterli bilinçte olunmaması, gerek hayvan sahibi ve ailesi gerekse de mezbahadaki ki ilerin duyarsızlı ından dolayı test sonuçlarının di er bölgelere ve geli mi ülkelere göre yüksek çıktı ı dü ünülmektedir.

Bölgelere göre farklılı ın ba ka sebebi olarakta unlarda gösterilebilir;

- Örnek toplama i lemleri esnasında hayvan sahiplerinin hastalık ve bu hastalı a ait a ılama hakkında yeterli bilgiye sahip olmamaları sebebiyle yeterli anamnezin (hasta öyküsü) yapılamamı olması, hayvanların *Brucella* a ısıyla a ılanmı olabilme ihtimalini dü ündürmektedir. Çünkü hayvan sahipleri hayvanların a ılandı ını ancak ne amaçla ve hangi çe it a ıyla a ılandıklarını bilmemektedirler.

- Aynı hayvanlardan belirli aralıklarla süt örneği alınmaması izolasyon yapılamamasının diğer bir ihtimali de olabilir. Çünkü etkenin sütte her zaman bulunmadığı, aralıklı olarak çıktığı birçok kaynakta görülmektedir (Rüstemo lu, 2011).

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

Avrupa ülkelerindeki çalımlar *B. melitensis*'in yanında *B. suis* ve *B. canis* türleri üzerine yönelmiştir. 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 çalımlara, 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 çalımlarında daha fazla yapılmakta, yok etme programları hızlı bir şekilde yürütülmekte ve bu ülkelerde multidisipliner şekilde yürütülmektedir (Önay, 2009; Rüstemo lu, 2011).

Bizim ülkemizde, gelişmekte olan veya gelişmemiş ülkelerde durum daha farklıdır. *B. abortus* çalımları 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 çalımları daha fazla yapılmaktadır. Yapılan çalımlara bakıldığında; 1990'lı yıllara göre günümüzdeki çalımlar daha fazla, daha donanımlı laboratuvar şartlarında, teknolojik gelişmelerden faydalanılarak yapılmaktadır. *B. abortus*'u yok etme çalımları hızla yürütülmekte bu konuda vatandaşlar *Brucella*'nın ciddiyetini anlayarak hassasiyet göstermektedirler. Bu bağlamda aşılama çalımları yaygınlaşmış, bruselloz olmuş hayvanları sürüden

ayırma, veteriner hekimi bilgilendirme oranı artmıştır (Sertta , 2006; Rüstemo lu, 2011).

Kırsal kesimlerde özellikle köylerde bu bilinç tam olarak oturmamıştır ancak bu konuda çalı malar devam etmektedir. *B. melitensis* *B. abortus*'a göre daha tehlikeli olmasına rağmen *B. abortus* çalı maları daha fazladır. *B. melitensis*'in yok edilmesinin zorlu unun yanı sıra, koyun ve keçi sütünün az olması gerekse de pahalı olması nedeniyle inek sütüne oranla daha az tüketilmektedir. Bundan dolayı yapılan çalı maların yo unlu u genelde *B. abortus*'u yok etmeye yöneliktir (Cutler, 2006; Araso lu, 2010).

Ülkemizin her ilinde *Brucella* yok etme çalı maları sürmekte özellikle de bazı illerde Tablo 5.1.'de görüldü ü üzere prevalansının yüksek oldu u gözlenmekte çalı malara ise buralarda daha yo un olarak devam edilmektedir. Gerek büyükba hayvan çiftliklerinin yaygın olması gerekse bu hayvanlardan üretilen süt ve süt ürünlerinin çok fazla tüketilmesi bunun yanısıra insanların ticari amaçlarla onlarla daha çok ilgilenmesi ve daha fazla vakit geçirmesinden dolayı brusellozis olma riskini arttırmaktadır.

Tablo 5.1.'de görüldü ü üzere Kı r ehir ili *B. abortus*'un fazla oldu u iller arasında yer almaktadır. Bu ba lamda ara tırmamız Kı r ehir ilinde sayıca fazla numune kullanılarak yapılan ilk çalı ma özelliindedir. ç Anadolu bölgesinde yapılan di er çalı malarla kar ıla tırıldı ında benzer sonuçların elde edildi i gözlemlenmiştir. Bu çalı malarda kullanılan serolojik testlerden bazıları hızlı, pratik ve maliyeti dü üktür (Rose Bengal testi, Milk Ring testi, Standart Tüp Aglütinasyon testi vb.). Yukarı da belirtilen testlerde azda olsa ELISA ve PCR'a göre yanlışma veya hata verme olasılı ı yüksektir. Fakat incelenen çalı malarda bu farkın çok olmadı ı görülmektedir. Özellikle inek sütü ile yapılan çalı malarda Milk Ring testi gerekli ve sadece bu mumunelerde kullanılan bir testtir. Ancak sonuçların do rulu u ve ara tırmanın netli i açısından tek bir serolojik test uygulanamaz, yanında ekstra testlerin yapılması gerekmektedir. Bundan dolayı örneklerimize birkaç serolojik test ve üpheli çıkan numunelerden de *Brucella* Agara ekim yapılmıştır. Besiyeri ekim sonuçları ve di er yapılan serolojik testler kar ıla tırılarak 202 adet numunede 35 adet (% 17,32) örne in *Brucella abortus* bakımından üpheli oldu u belirlenmiştir.

Tablo 6.1. l Bazında Sı ır Bruselloz Prevelansı*

L BAZINDA SI IR BRUSELLOZ PREVELANSI			
LLER	SI IR %	LLER	SI IR %
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	Elazı	0,6
Denizli	0	anlıurfa	0,7
Gaziantep	0	Zonguldak	0,7
Giresun	0	Bursa	0,9
Gümü hane	0	Konya	0,9
Hakkari	0	Yozgat	0,9
Hatay	0	Kilis	0,9
zmir	0	Ankara	1,1
Kocaeli	0	Kır ehir	1,1
Kütahya	0	Malatya	1,1
Kahramanmara	0	Manisa	1,1
Mardin	0	U ak	1,1
Mu la	0	Bilecik	1,2
Mu	0	Aksaray	1,3
Ordu	0	Sakarya	1,4
Samsun	0	Kayseri	2,1
Sinop	0	Isparta	2,2
Tekirda	0	Edirne	2,8
Tunceli	0	Bitlis	3,1
Van	0	Ni de	3,5
Bayburt	0	Tokat	4,2
Karaman	0	Sivas	5,1
Batman	0	Siirt	5,2
I dır	0,2	Amasya	6,7
Kırklareli	0,2	A rı	7,3
Yalova	0,2	Eski ehir	7,6
Adıyaman	0,2	Ardahan	7,9
Bolu	0,2	Erzurum	11,6
Çanakkale	0,2	Kars	20,8
Erzincan	0,2	ırnak	-
Mersin	0,2	Düzce	-
stanbul	0,2	Karabük	-
Kastamonu	0,2	Bartın	-
Nev ehir	0,2		

*Tarım Ve Köyi leri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlü ü Hayvan Hastalıkları le Mücadele Genelgesi'ne Göre Tespit Edilen 2004 yılında l Bazında Sı ır ve Koyun Brusellozu Prevelans verileri (<http://www.tarim.gov.tr>, Aydın, 2007)

6.1. Sınırlılıklar

Çalı mamızda örnekler toplanırken özen gösterilmi , sütlerini aldı ımız ineklerin *Brucella* a ısı olmayan, mandra sisteminden yeti tirilmeyen, genelde halkın kendi evinde besledi i hayvanlardan olmasına dikkat edilmi tir. Hayvan sahiplerinin brusellozis konusunda yeterli bilgiye sahip olmamaları, hayvanların a ılanmasının gerekti i veya hayvanlara a ı yapılmı ise bunun neden yapıldı ını bilmemeleri, bu konuda çe itli sorunların ortaya çıkmasına neden olmu tur. Bu ba lamda hayvan yeti tiricilerinin bu konudaki bilgi yetersizli ini de ortaya koymu tur.

Çalı mamızda sadece inek sütü kullanılmı tır. Çünkü ç Anadolu bölgesinde küçükba hayvan sütü bulunmasında sıkıntı ya anabilirdi. Büyükba hayvanlar, bu bölgede en fazla beslenen, süt ve süt ürünlerinin tüketimi di er hayvan ürünlerine göre daha fazla tercih edilen türlerdir.

nek sütü örneklerimize serolojik testlerden MRT, RBT, STA uygulanmı tır. Serolojik testlerden olan ELISA testi di er testlere göre daha duyarlı ve hassastır fakat genelde *Brucella* antikorunu tayini için bu test kullanılmaktadır. Çalı mamız da antikor tayini yapılmadı ı için, MRT testinin yalancı pozitif sonuç vermemesinden dolayı birkaç serolojik test daha yapılarak bu testlerde üpheli olan örneklerin *Brucella* Agar ekimi yapılmı tır.

leride yapaca ımız ara tırmada; daha fazla örnek ile koyun ve keçi sütü kullanılarak, özellikle moleküler düzeyde olan di er serolojik testlerden ELISA veya PCR'ın uygulanaca ı bir çalı ma dü ünülmektedir. Yapılacak bu çalı manın *B. melitensis* te hisine özgü ya da Kır ehir ilinde *B. abortus* ve *B. melitensis*'in prevalansını belirlemeye yönelik olması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

Abdelkareem, A. *Trakya Yöresinde Yeti tirilen Sı ırların Sütlerinden Brucella Türlerinin Varlı nı Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Kar ıla tırmalı Olarak Ara tırılması*, stanbul Üniversitesi, Sa lık Bilimler Enstitüsü, stanbul, **2008**, 1-54.

Abbaso lu, U. *nsan Serumlarında ve Bazı Süt Örneklerinde Bruceila Antikorlarının Ara tırılmasıyla lgili Bir Çalı ma*. 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 Ba lı Bazı Köylerden Toplanan Süt Örneklerinde Brucella abortus Antikorlarının ELISA ile Ara tırılması*, nfeksiyon Dergisi, **2004**, 89, 187-191

Adıgüzel, A. *Erzurum'a ba lı bazı köylerden toplanan süt örneklerinde Brucella abortus antikorlarının ELISA ile ara tırılması*, 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.; mren, H.Y.; ahal, M.; Tuncer, .D. *Sı ır 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 labaratory* . 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 İli 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 Duyarlılığının Agar Dilüsyon ve E-Test Yöntemleri ile Saptanması*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, **2009**, 1-99.

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

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

Araso lu, T. *Erzurum ve Çevresindeki nek 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 Su larında Antibiyotik Duyarlılıklarının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi*, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar, **2006**, 1-15.

Aslan, E. *Ankara, Çorum, Kırıkkale ve Yozgat llerinde Yeti tirilen Brucella Seronegatif neklerde BVDV, BHV-1, BHV-4 ve BHV-5 Enfeksiyonlarının Hemotolojik De erlere Etkisi, Epidemiyolojisi ve Genetik Karakterizasyonunun Ara tırılması*, Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, **2014**, 1-159.

Arda, M.; Minbay, A.; Aydın, N.; Akay, Ö.; Üzgür, M.; Lelo lu, N.; Kahraman, M.; Ilgaz, A.; Diker, K.S. *Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik nfeksiyonlar*, 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 mmunokapture Aglütiasyon Testinin De erlendirilmesi*, KSÜ Tıp Fakültesi Dergisi, **2005**, 73, 1-26.

Arabacı P. *Risk Grubunda Bulunan nşanlarda Brucella ve Coxiella burnetii Antikorlarının Serolojik Yöntemlerle Ara tırılması*, Gaziantep Üniversitesi, Sa lık 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 in 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.; stanbulluo lu, E.; *Seroprevalence of Brucellosis in Human, Sheep and Cattle Populations in Kırıkkale (Turkey)*, Turk. J. Vet. Anim. Sci, **2007**, 48, 75-78.

Ata , M. *Sivas l Merkezinde Satı a Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin Brucella Bakterileri Yönünden ncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Sivas, **2004**, 1-72.

Ata , M.;Poyraz, Ö.; Alim, A.; Ata , A.D.; Çelik, A. *Sivas l Merkezinde Satı a Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin Brucella Bakterileri Yönünden ncelenmesi*, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, **2007**, 64, 9-14.

Avilla-Calderon, E.D.; Lopez-Merino, A.; Srranganathan, N.; Boyle, S.M.; Contrera-Rodríguez, A. *A history of the Development of Brucella*, **2013**, 713-719.

Aydın, F.E. *Süt ve Süt Ürünlerinde Brucella Cinsi Bakterilerin Ara tırılması*, Mersin Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Mersin. **2007**, 1-93.

Aya lıo lu, E.; Kılıç, S.; Aydın ,K.; Kılıç ,D.; Kaygusuz, S.; A alar, C. *Antimicrobial Susceptibility of Brucella melitensis isolates from Blood Samples*, Turk. J. Med. Sci., **2008**, 3, 198-202.

- Aydın, N. *Brucella enfeksiyonları, Özel Mikrobiyoloji, Bakteriyel enfeksiyöz Hastalıklar*, A. Ü. Vet. Fak. Yayınları. No: 386 Ankara: A. Ü. Basımevi, **2007**, 8, 24-32.
- Ayalıo lu, E.; Kılıç, S.; Aydın, K.; Kılıç, D.; A alar, 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 Spraguedawley 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, Barı Yayınları, Fakülteler Kitabevi, zmir, **2004**, 157-168.
- Büyükcangaz, E.; en, A. *The First Isolation of Brucella melitensis from Bovine Aborted Fetus in Turkey* J. Biol. Environ. Sci., **2007**, 3, 139-142.
- Bu daycı, K. *Kayseri linde Çi Sütlerden Yapılan Taze Beyaz Peynirlerde Brucella spp. Aranması*, Doktora Tezi, stanbul Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, stanbul, **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 Freash Cream an 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 of Brucella solates*, 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.

Boschırolı, 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 Diagnositic 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, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Sa lı ı Ekonomisi ve İletmecili ği Anabilim Dalı, Ankara, **2010**, 1-100.

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

Cellı, 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.; Ertan, 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 Yapımı İçin Sürülerinden Alınan Süt ve Vaginal Sivap Örneklerinden Brucella Etkenlerinin Bakteriyolojik ve Moleküler Tanımlanması*, Kafkas Üniversitesi, Vet. Fak. Derg. Kars, **2011**, *17*, 809-816.
- Cloekaert, 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.
- Cloekaert, A.; Verger, J.M.; Grayon, M.; Grepinet, O. *Polymorphism at the DnaK Locus of Brucella Species and Identification of A Brucella melitensis Species-specific Marker*, J. Med. Microbiol., **1996**, *45*, 200-205.
- Cloekaert, 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.
- Cloekaert, 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.
- Cloekaert, 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 in 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 ntramedullary 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, Ar iv Kaynak Tarama Dergisi*, **1993**, 16 , 58-69.

Dabanlıo lu, B. *Erzincan ili ve Yöresinde Brucelloz Seroprevalansı ve Seropozitif Olguların Klinik Bulgularla ili kisi*, *Doktora Tezi*, Erciyes Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, **2005**, 1-135.

Dizer, U.; Beker,C.M.; Çiçek, H.; Güner, Ö.R.; Zeren, ; Pahsa, A. *Brucelloz Tanı Yöntemlerinin Etkinli inin Ara tırılması*, *Uluda 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, . *Gıda Kaynaklı Brucella Enfeksiyonlarının Halk Sa lı ı 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), **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 n 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 nfeksiyon 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. *Sı ırlarda Brucella abortus'a Kar ı Olu an Antikorları Saptamada ELISA ve Di er Serolojik Tekniklerin Kar ıla tırılması*, 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 mmunosorbent 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 nduction 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.; Otlu, S.; ahin, M.; Kamber, U. *nek Atıklarından zole Edilen Brucella abortus Su larının 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. . *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 ile 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 Çe itli Peynir Örneklerinde Brucella Antijenlerinin ELISA ile Saptanması*, Türk Mikrobiyol. Cem. Dergisi, **2003**, 33, 356-360.

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

Gülbaz. G. *Kars Yöresinde Satı a Sunulan Çi Süt, Peynir ve Tereya ında Brucella Türlerinin zolasyonu, dentifikasyonu ve Moleküler Tekniklerle Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Sa ılık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars, **2011**, 1-73.

Gültekin, E. *Brucelloz Ön Tanılı Hastalarınserumlarında Brucella Antikorlarının Belirlenmesi Amacıyla Kullanılan Çe itli Serolojik Yöntemlerin Kar ıla tırılması* Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sa ılık 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, Brucellozis Has Continuously Been A Re-Emerging Zoonosis*, Vet. Res., **2005**, 90, 260-313.

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

Gomes, M.T.; Campos, P.C.; Dealmeıdala, K.; Oliveira, F.S., Costa, M.M.; Marım F.M.; Pereira, G.S.; Oliveira, S.C. *The Role of nnate mmune Signals in mmunity 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.; Goldhıg, 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 nfection 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-nducing Cytokines By Bacterial DNA, Lipopolysaccharide, and Heat nactivated Bacteria*, **1999**, *67*, 6257-6263.
- Ihan, 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.
- Ihan, Z.; Solmaz, H.; Ekin, I.H. *In Vitro Antimicrobial Susceptibility of Brucella melitensis solates 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 ntercourse*, *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 Deneysel Olarak nokule Edilen Brucella abortus ve Brucella melitensis Su larının Üreme ve Canlı Kalma Yeteneklerinin Ara tırılması*, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, **2011**, 1-139.

Kaya, O. *Brucella Su larında MIC Yöntemiyle Duyarlılık Ara tırması*, 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.

Kasımo lu, 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 Ara tırmalar*, Ankara Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Enfeksiyon Dergisi, **2001**, 83-89.

Kasab, S.; Fagir, 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 nvestigation 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 1 Merkezinde Brucelloz Hastalığının Seroprevalansı*, Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, **2008**, 1-63.

Koçulu, E.; Karabay, O.; Koc, N. *Brucelloz için Serolojik Taramanın Değeri*, Türk Mikrobiyoloji, Cem. Dergisi, **2008**, 38, 23-26.

Kocagöz, S.; İçin, G.; Biberolu, K.; Süleymanlar, G. *Brucellosis için Hastalıkları*, Güne 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.

Kılıçtırgay, K. *Brucellosis Hastalığının Tanınması 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.; Sarımehtemolu, 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.; Billiar, 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.; ahin, M.; Unver, A.; Çelebi, Ö. *Detection of Brucella melitensis and Chlamydomphila abortus Antibodie in Aborting Sheep, Kars Province of Turkey*. Bull Vet. Inst. Pulawy., **2008**, *77*, 21-117.

O uzkaya, M. *Brusellozun Serolojik Tanısında Uygulanılan Wright Aglutinasyon, Rose-Bengal ve Coombs Testlerinin Kar ulla tırılması*, Uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, **1995**, 1-47.

Oliveira, S.C.; Dealmeıdala, 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. *Sı ır Ve Koyun Serumlarının Brucellosis Yönünden Tüp Aglutinasyon Testi ve Elisa le ncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim dalı, Aydın, **2009**, 1-35.

Özgür, E. *Düzce Bölgesinde Hayvan ve Hayvansal Ürünlerle U ra an ve U ra mayan ki Farklı Grupta Brucella Seropozitifli inin Ara tırılması*, Yüksek

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

Özgüven, V. *Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon 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.; Akritidis, N. *Brucella As A Biological Weapon Cell*, Mol. Life Sci., **2006**, 63, 36-222.

Parin, U. *Sıvırlarda Brucella ve Leptospira Türlerinin Multiplex Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile 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.; Naroenı, A.; Ouahrani-Bettache, S.; Liautard, J.P. *Role of the Brucella suis Lipopolysaccharide O Antigen in Phagosomal Genesis and in Inhibition of Phagosomelysosome 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.

Rüstemo lu, H. *Tokat li Ve Çevre Köylerinden Elde Edilen Sütlerden Brucella Cinsi Bakterilerin Varlı ının Ara tırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Osmanpa a 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.

Renukaradhy, 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. *Encycyclopedia of Food Microbiology in Brucella*, Academic Pres, London, **2008**, *89*, 2851-2863.

Roop, R.M.; Games, J.M.; Anderson, E.S.; Caswell, C.C.; Martin, D.W. *Survival of the Fittest How Brucella Strains Adapt to Their ntracellular 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.; Chevill, N.F. *Seminal Vesiculitis and Orchitis Caused By Brucella abortus Biovar 1 n 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.

Sertta , B. *Isparta l ve lçelerinde Çi Sütlerde Brucella abortus'a Kar ı Olu turulan Antikorların ELISA ve R NG Testleri ile Ara tırılması*, 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. .; Türker, M. *Brucelloziste Klinik ve Laboratuvar Bulgularının Retrospektif Olarak De erlendirilmesi*, 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, stanbul, **1996**, 486-491.

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

Solmaz, H.; Tütüncü, M.; Gülhan, T.; Ekin, İ. H.; Ta al, . *Van Yöresi Süt Sı ırlarında Brucellozis'in nsidensi Üzerine ncelemeler*. 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 ntracellular Replication Requires Trafficking Through the Late Endosomal/Lysosomal Compartment, Traffic. Microbiology, 2008, 9, 678-694.*

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

ahin, T.; Yıldız, A. *Hatay Yöresindeki Koyun ve Keçilerde Brucellozisin Seroprevelansının Ara tırılması, Fırat Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Dergisi, 2006, 5, 331-335.*

Taşçı, F.; Kaymaz, .; *Ankara'da Tüketime Sunulan Mutfaklık Tereya ı, Krema ve Krem antili Pastaların Brucella spp. Yönünden ncelenmesi, Fırat Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 2009, 23, 5-8.*

Ta cı, F. *Gıda Kaynaklı Brucellosis ve Önemi, Uluda Üniversitesi, J. Fac. Vet. Med., 2004, 23, 137-142.*

Ta kın, N. *Ankara linde Tüketime Sunulan Sokak Sütlerinde ve Beyaz Peynirlerde Brucella Varlı ının ELISA Yöntemiyle Ara tırılması ve Brucella Bakterisinin Kefirde Ya am Süresinin Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007, 1-63.*

Ta kın, H.A. *Sivas ve Tokat llerinde Tüketime Sunulan Açık Sütlerde ve Süt Ürünlerinde Brucella Antikorlarının Elisa Yöntemiyle Ara tırılması ve Brucella melitensis ve Brucella abortus'un Kefirdeki Ya am Sürelerinin Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, 2012, 1-64.*

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

Temiz, H. *Rose-Bengal Testi (+), Serum Tüp Aglütinasyon Testi (-) ve Coombs Testi (-) Olan ve Klinik Olarak Brucelloz üpheli 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 Antikoruunun Ara tırılması*, TAF., Presentive Medicine, Bulletin, **2006**, 3, 196-200.

Tezok, Ö.F.; Sa lam, M.; Gümrükçü, E.; Sözen, T.H. *Türkiye'de nsan Brucella Enfeksiyonları*, Mikrobiyoloji Bülteni, **1993**, 4, 341-350.

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

Türütö lu, H.; Mutluer, M.; Uysal.Y. *Burdur Yöresinden Toplanan Sütlerin Brucella nfeksiyonu Yönünden Ara tırılması*,. Turk. J. Vet. Anim. Sci. **2003**, 27, 1003-1009.

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

Turan, H.; Arslan, H.; Azap, Ö.; erefhano lu, 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 Ara tırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (Vet) Anabilim Dalı, Hatay, **2008**, 1-58.

Töre, O. *Brucelloz Tanısında li kin Sorunlar*, I. Ulusal nfeksiyon Hastalıkları Kongresi, **1987**, 20-23.

Urçar, S. *Erzurum li Piyasasında Tüketime Sunulan Bazı Peynirlerde Brucella spp. Varlı ının Ara tırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, **2011**, 1-30.

Uraz, G.; Yücel, N. *Kaynatılmamı Süt Örneklerinde Milk Ring Testi ile Brucella Varlı ının Ara tırılması*, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Ankara, **1998**, 2, 393-400.

Ünel, S.; Williams, C.F.; Stableford, A.W. *Balkesir Bölgesinde Süt, Krema ile malathane 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 ndirect 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 mprove Understanding, Technology and Suppression*, **2013**, 32, 263-270.

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

Xavier, M.N.; Paixao T.A.; Denhartıgh, 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.; Atlurı, 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. *Sı rır Sütünde Brucella ve Listeria Tanısı için PCR Optimizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, **2010**, 1-75.

Yumu ak, N. *Adıyaman Yöresindeki Koyun ve Keçilerde Brucellozis'in Seroprevalansının Ara tırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Vanlıurfa, **2006**, 1-48.

Yılmaz, M. *Türkiye'de Sık Kar ılan Hastalıklar, Enfeksiyon Hastalıkları, Romatizmal Hastalıklar, Afetlerde Ezilme Yaralanmaları Sempozyumu Bildiri Özleri*, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpa a Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp E itimi Etkinlikleri, Ocak, **2007**, 215-226.

Yorulmaz, T.; Sözen, T.H.; Sepici, V.; Ergin, M.; Müftüo lu, 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*, *Rew. 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 Disiases . 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.



ÖZGEÇM

Ki sel Bilgiler

Soyadı, Adı : ANLI Deniz
Uyru u : T.C.
Do um Tarihi ve Yeri : 07.11.1990 YATA AN/MU LA
e-mail : denizsanli48@gmail.com

E itim

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

Yabancı Dil : İngilizce