



**TOKAT İLİ ÇEVRE KÖYLERİNDEN ELDE
EDİLEN SÜTLERDE BRUCELLA CİNSİ
BAKTERİLERİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Hüsniye RÜSTEMOĞLU

**Y.Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Yard.Doç. Dr. İsa KARAMAN
2011
Her hakkı saklıdır**

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOKAT İLİ ÇEVRE KÖYLERİNDEN ELDE EDİLEN SÜTLERDE
BRUCELLA CİNSİ BAKTERİLERİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Hüsniye RÜSTEMOĞLU

TOKAT
2011

Her hakkı saklıdır

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdigi yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Hüsniye RÜSTEMOĞLU

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOKAT İLİ ÇEVRE KÖYLERİNDEN ELDE EDİLEN SÜTLERDE BRUCELLA CİNSİ BAKTERİLERİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Hüsniye RÜSTEMOĞLU

Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Yrd. Doç. Dr. İsa KARAMAN

Brucelloz, *Brucella* cinsi bakterilerin neden olduğu en sık görülen zoonotik hastalıklardan biridir. Hastalık sığır, koyun, keçi, köpek ve domuz gibi memeli hayvanların dişilerinde genital organlarına yerleşerek yavru atma, infertilite, mastitis, erken doğum, plasenta retensiyonu ve metritise; erkeklerde ise orşitise (erbezi iltihabı) neden olur. Bu çalışmada, Tokat ili ve ilçelerine ait köylerden toplanan 161 inek, 58 koyun ve 33 keçi sütü örneklerinde Brucelloz etmeni Milk Ring Test (MRT) ve direkt ekim yöntemi ile araştırılmıştır.

Çalışma sonucunda 161 inek sütünden 24'ü, 58 koyun sütünden 20'si ve 33 keçi sütünden 5'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. Toplamda 252 adet çiğ süt örneğinden 49 adedinin, yani % 19.41'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. MRT'si pozitif olan 49 örnekten yapılan kültür sonrası 2 adet süt örneğinden *Brucella* izole edilebilmiştir. *Brucella* izole edilen 2 süt örneğinin de aynı sürüden 2 farklı koyuna ait olduğu belirlenmiştir. Böylece tüm çalışılan örneklerin % 0.79'unda, MRT pozitif çıkan örneklerin % 4.08'inde ve koyun sütü örneklerinin % 3.45'inde *Brucella* etkeni izole edilmiştir.

Tokat ili ve ilçelerine ait köy ve kasabalardan toplanan sütlerle yapılmış ilk çalışma özelliğinde olan araştırmamız sonucunda örneklerin % 19.41'inde MRT sonucu pozitif bulunmuş, % 0.79'unda ise etmen direkt ekim yöntemiyle izole edilmiştir. Böylece, bu çalışmayla Tokat ili ve ilçelerindeki hayvanlarda belirli oranda *Brucella* etmeninin var olduğu belirlenmiş ve süt ürünlerinin Brucelloz bakımından risk oluşturabileceğini göstermiştir.

2011, 47 sayfa

Anahtar Kelimeler: Tokat, *Brucella*, MRT, Süt

ABSTRACT

Ms Thesis

INVESTIGATION OF *BRUCELLA* SPP IN THE MILKS DONE FROM THE
VILLAGES TOKAT PROVINCE
Hüsniye RÜSTEMOĞLU

Gaziosmanpaşa University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Asst. Prof. Dr. İsa KARAMAN

Human Brucellosis is one of the most common zoonotic disease caused by bacteria of the genus *Brucella*. The disease in mammals such as cattle, sheep, goats, dogs and pigs, settled the genital organs of females, caused throwing puppies, infertility, mastitis, premature birth, placenta and metritis retention, and caused orchitis (testicular inflammation) in males. In this study, we have investigated Human Brucellosis factor in 161 cows, 58 sheep and 33 goat milk samples gathered districts and villages in the province of Tokat, by using Milk Ring Test (MRT) and the direct sowing method.

We have found positive 24 of 161 cow's milk, 20 of 58 sheep's milk, 5 of 33 goat's milk as a result of the MRT. In total, 49 of 252 pieces of raw milk samples, 19.41% MRT had a positive result. After the culture of the 49 MRT positive samples, *Brucella* could be isolated in two sample. Each of the 2 milk samples which isolated *Brucella* were determined to be 2 different sheep, belonging to the same flock. Therefore, *Brucella* were isolated 0.79% of all studied samples, 4.08% of samples with MRT positive and 3.45% sheep milk samples

As a result of our investigation of property in the first study on milk samples were collected Tokat province and the districts towns and villages, found a MRT positive for 19.41% of all samples and, the agent was isolated 0.79% of samples by the direct sowing method. Therefore in this study, specific amount of *Brucella* were determined in animal in districts of the province of Tokat. Our study shown that dairy products may constitute a risk with respect Brucellosis.

2011, 47 pages

Key words: Tokat, *Brucella*, MRT, Milk

Yrd. Doç. Dr. İsa KARAMAN danışmanlığında Hüsniye RÜSTEMOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 12/08/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Cemal KAYA

Üye : Yrd. Doç. Dr. İsa KARAMAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. İskender PARMAKSIZ

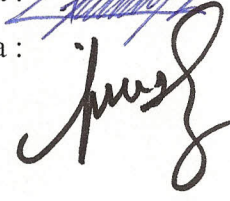
imza :



imza :



imza :



Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Naim ÇAĞMAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
.../.../...

ÖNSÖZ

Çalışmamın başından sonuna, gerek numune toplama aşamasında gerekse laboratuvar çalışmalarım boyunca desteklerini hiçbir şekilde esirgemeyen sayın danışman hocam Yard. Doç. Dr. İsa KARAMAN'a, bölümde çalışma olanaklarını bize tanıdığı için Biyoloji bölüm başkanı sayın Prof. Dr. Zekeriya Aytaç'a, örnek toplama aşamasındaki yardımlarından dolayı sevgili arkadaşlarım Merve Dilmaç'a, Kemal Arık'a, sevgili kardeşim Songül Akkanet'e,

Ayrıca laboratuvarında hiçbir olanağı esirgemeyen ve kontrol Brucella suşlarını temin eden GOP Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Gülgün Yenişehirli' ye,

Yüksek lisans eğitimim boyunca gösterdiği üstün sabrından dolayı eşim Aydın Rüstemoğlu'na,

Son olarak tez örneklerimden izole ettiğim Brucella izolatlarını tiplendiren Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşıları ve Biyolojik Madde Üretim Laboratuvarı'nın sorumlusu ve tüm çalışanlarına çalışmalarına katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hüsniye RÜSTEMOĞLU
Ağustos, 2011

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1. Brucellozun Tarihçesi	3
2.2. Brucella Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri	4
2.2.1. Morfolojik ve Boyanma Özellikleri.....	4
2.2.2. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri	5
2.3. Brucella Cinsi Bakterilerin Tiplendirilmesi.....	6
2.4. Bulaş Yolları	9
2.5. Patogenez	10
2.6. Klinik Bulgular	11
2.7. Tanı	13
2.7.1. Laboratuvar Tanısı	13
2.7.2. Serolojik Tanı.....	14
2.7.3. Bakteriyolojik Tanı ve Tiplendirme.....	14
2.7.4. Alerjik Tanı	15
2.7.5. Hayvan Deneyi.....	15
2.8. Tedavi.....	15
2.9. Korunma.....	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Örneklerin Toplanması	18
3.1.2. Antijen ve Kontrol Suşları	20
3.1.3. Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar	20
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Örneklerin İncelenmesi	22

4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	41
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge
Sayfa

Çizelge 2.1. <i>Brucella</i> türlerinin ve biyotiplerinin ayırıcı karakterleri.....	7
Çizelge 3.1. Örneklerin toplandığı köy ve kasabaların isimleri ve örnek sayıları	18
Çizelge 4.1. MRT pozitif süt örneklerinin yüzde olarak oranları	40
Çizelge 4.2. Örneklerin toplandıkları yer, MRT sonuçları, <i>Brucella</i> agarda üreme durumları, ait oldukları hayvanların cinsi ve abort bilgileri	32
Çizelge 4.3. Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü <i>Brucella</i> Aşılı Laboratuvarı'ndan elde edilen veriler	41

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
CO ₂	Karbondioksit
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
H ₂ O ₂	Hidrojenperoksit
Ig M	İmmünglobilin M
Ig G	İmmünglobilin G
x100	100'lük objektifteki görüntüsü

Kısaltmalar	Açıklama
M.Ö.	Milattan Önce
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı)
WHO	World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)
OIE Teşkilatı)	World Organisation for Animal Health (Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı)
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
RES	Retilüloendotelyal Sistem
WAT	Wright Aglütinasyon Testi
RBT	Rose-Bengal Testi
RIA	Radio Immüno Assay
IFT	İmmün Floresan Testi

ELISA	Enzyme-Lynked Immuno Sorbant Assay
MRT	Milk Ring Test
IU	International Unit
Tb	Tbilis
RTD	Rutin Test Dilüsyonu
I	Intermedier
M	Mukoid
S	Smooth
L	Litre
mg	miligram
ml	mililitre
mm	milimetre
µg	mikrogram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Örneklerin toplandığı steril kaplar	19
Şekil 3.2. MRT için inkübe edilen sütlerin inkübasyon sonrası görüntüleri.....	23
Şekil 3.3. <i>Brucella</i> kolonilerinin Brucella Agar' da görünümü	24
Şekil 3.4. <i>Brucella</i> kolonilerinin Kanlı Agar'da görünümü.....	24
Şekil 3.5. İzole edilen <i>Brucella</i> bakterilerinin Gram boyalı preparatta mikroskopik görüntüsü(x100)	34
Şekil 3.6. İzole edilen <i>Brucella</i> bakterilerinin Polivalan Brucella antiserumu ile Aglütinasyonu	34
Şekil 3.7. İzole edilen <i>Brucella</i> bakterilerinin pozitif oksidaz deneyi	35
Şekil 3.8. İzole edilen <i>Brucella</i> bakterilerinin pozitif katalaz deneyi.....	35
Şekil 3.9. İzole edilen <i>Brucella</i> bakterisinin pozitif üreaz sonucu.....	36
Şekil 3.10. İzole edilen <i>Brucella</i> bakterilerinin H ₂ S test sonucu	36

1. GİRİŞ

Brucella cinsi bakteriler 0.6 µm eninde, 1.5 µm boyunda, küçük, Gram negatif boyanan, hücre içi parazitidirler. Bruselloz olarak adlandırılan zoonotik hastalığa neden olurlar (Corbel, 1997; Keskin ve ark., 2009). Bruselloz hastalığı ilk kez Epidemics adlı eserinde Hippocrates (M.Ö. 450) tarafından “humma” olarak tanımlanmıştır (Arslan, 2006; Aydın, 2007). *Brucella* enfeksiyonları için günümüze kadar değişik isimler kullanılmıştır. Hastalık ilk kez Malta Adası’nda saptandığından “Malta Humması” veya “Akdeniz Humması”; tipik ateşi nedeniyle “Dalgalı Humma (Ondulan Ateş)”; koyunlardan insanlara bulaşması nedeniyle halk arasında “Koyun Hastalığı” veya “Mal Hastalığı” olarak adlandırılmıştır (Arslan, 2006; Serttaş, 2006).

Hastalık sığır, koyun, keçi, köpek ve domuz gibi memeli hayvanların dişilerinde genital organlarına yerleşerek yavru atma, infertilite, mastitis, erken doğum, plasenta retensiyonu ve metritise; erkeklerde ise orşitise (erbezi iltihabı) neden olur. Her iki cinste de özellikle diz eklemlerinde artrit neden olur (Abdelkareem, 2008). Bu enfeksiyon etkenleri, sadece hayvan sağlığını zarara uğratmak ve ekonomik kayıp oluşturmakla kalmayıp insan sağlığını da tehdit eder (Parın, 2008).

Bruselloz, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonoz olarak kabul edilmektedir. Dünyada birçok ülkede bruselloz ile mücadele kampanyaları başlatılmış ve birkaç ülkenin sığır brusellozunu büyük ölçüde yok etmeyi başarmış olmasına karşın, koyun ve keçi brusellozu ise başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir şekilde devam etmektedir. Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ülkeleri, Avustralya ve Yeni Zelanda’da yıllar süren yoğun çabalarla bruselloz büyük ölçüde eradike edilmiştir. Buna karşın bazı Güney Avrupa ülkelerinde, özellikle Akdeniz Bölgesi, Orta Doğu, Batı Asya’nın gelişmekte olan ülkelerinde, Hint Yarımadası, Afrika, Orta ve Güney Amerika’nın bir kısmında insan ve hayvanlarda

yaygınlığını sürdürmektedir. Akdeniz ülkelerinde ise bu enfeksiyon bir çok hastalık arasında ön sırada yer almaktadır. Türkiye’de ise hayvan bruselloz prevalansı sığır popülasyonunda %1.43, koyun popülasyonunda %1.97 olarak tespit edilmiştir (İyisan ve ark., 2000).

Akdeniz ve Orta Doğu ülkelerinde insanlarda yıllık bruselloz görülme sıklığı her 100.000 kişide 1-78 vaka arasında değişmektedir. Ancak hastalığın yaygın olduğu ve hayvanlarda kontrol programları uygulanmayan bölgelerde 550’nin üzerinde vaka bildirilmiştir. Hayvanlarda kontrol tedbirlerinin zorunlu olduğu bazı Güney Avrupa ülkelerinin bir kısım topluluklarında 100.000 kişide 77 vaka bildirilmiştir. Dünya’da 100 ülkeden yılda 500.000’in üzerinde bruselloz vakası bildirilmektedir (Aydın, 2007).

İnsan brusellozu birçok ülkede bildiri zorunlu bir hastalık olmasına rağmen, resmi rakamlar gerçek enfekte insan sayısını yansıtmamaktadır. Vakaların bildirilenden 10-25 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Bunun başlıca nedeni vakaların çoğunlukla doğru teşhis edilememesidir (Aydın, 2007).

İnsanlarda hastalık, ortalama olarak iki-üç hafta süren kuluçka döneminden sonra, dalgalı seyir gösteren bir ateş, özellikle geceleri olan terleme, eklem ağrıları, iştahsızlık, bitkinlik, halsizlik, kilo kaybı, baş ağrısı gibi özgül olmayan belirtilerle ortaya çıkar (Peker ve ark., 2010).

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

Bu çalışmanın amacı, Tokat ili ve ilçelerine bağlı köylerden toplanan çiğ koyun, keçi ve inek sütlerinde *Brucella* bakterisine karşı oluşan antikorların varlığının Milk Ring Test (MRT) ile tespiti ve direkt ekim yöntemiyle de bakteri izolasyonunun yapılmasıdır. Bu kapsamda 252 farklı hayvandan elde edilen çiğ süt örnekleri incelenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Brusellozun Tarihçesi

Bu hastalığın klinik özelliklerini ilk defa 1861 yılında Mısır'da İngiliz Kraliyet Kuvvetlerinde çalışan Jeffery Allen Marston (1831-1911) bildirmiştir. Marston, Malta ateşi hakkında detaylı bilgileri belgeleyen ilk kişidir (Ataş, 2006; Aydın, 2007).

Etmen ilk kez 1887 yılında, İngiliz hekim David Bruce tarafından Malta Ateşi'nden ölen bir askerin dalağından izole edilmiştir. Bu bakterileri *Micrococcus mellitensis* olarak adlandırmıştır (Serttaş, 2006; Ataş, 2006; Aydın 2007).

1897'de Danimarkalı veteriner hekim olan Beenhard Bang ilk kez sığırlarda, atlarda, koyunlarda ve keçilerde düşüğe neden olan mikroorganizmayı *Bacterium abortus* olarak isimlendirmiştir (Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

1905 yılında Zammit, etmeni enfekte keçilerden izole etmiş ve keçi sütü ile enfekte insanların serumlarında spesifik antikorların varlığını gözlemlemiştir (Taşkın, 2007).

1914 yılında Traum ABD'de domuzların yavru atımına neden olan bakteriyi izole ederek buna *Bacterium suis* ismini koymuştur (Ataş, 2006; Taşkın, 2007; Aydın, 2007).

1920 yılında Meyer ve Shaw isimli bilim adamları birbirine çok benzeyen *Micrococcus mellitensis*, *Bacterium abortus* ve *Bacterium suis*'i bir grupta toplayarak, bu konuda ilk önemli çalışmayı yapan David Bruce'un adına ithafen bu etkenlere *Brucella* grubu mikroorganizmalar, oluşturdukları hastalıklara da Bruselloz adını vermişlerdir (Ataş, 2006; Taşkın, 2007; Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

1952 yılında Avustralya ve Yeni Zelanda'da epididimitisli koçlardan *Brucella ovis* izole edilmiştir (Ataş, 2006).

ABD'nin Utah eyaletinde Charmichael ve Brunner isimli araştırmacılar tarafından orman kenesinden *Brucella neotomae* izole edilmiştir (Ataş, 2006).

Brucella canis köpeklerin bulaşıcı abortus etkeni olarak Charmichael ve Brunner isimli araştırmacılar tarafından 1967 yılında izole edilmiştir (Ataş, 2006).

Ülkemizde ise ilk defa 1915 yılında Kuleli hastanesinde bir erde Hüsametdin Kural ve Mahmut S Akalın tarafından *B. melitensis* izole edilmiştir.

1931'de Zühtü Berke sığırlardan, 1943'de Gölem koyun ve keçilerden, 1944'de ise Köylüoğlu ve Aktan *Brucella* cinsi bakterileri izole etmişlerdir (Ataş, 2006; Taşkın, 2007). 1983 yılında İstanbuloğulları ve ark. *B.canis*'i köpeklerde serolojik olarak belirlemişlerdir (Taşkın, 2007).

2.2. *Brucella* Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri

2.2.1. Morfolojik ve Boyanma Özellikleri

Brucella türleri *Proteobacteria* aleminde, *Rhodospirilli* sınıfında, *Rhizobiales* takımında ve *Brucellaceae* ailesinde yer almaktadır (Taşkın, 2007; Abdelkareem, 2008). *Brucella* cinsi mikroorganizmalar 0.5-0.7 µm çapında, 0.6-1.5 µm uzunluğunda küçük, gram negatif ve daha çok ikişer ikişer uç uca durma alışkanlığında olan kok, kokobasil veya kısa çomakçıklar şeklindedir (Ataş, 2006; Serttaş, 2006; Terzi, 2006; Özgür, 2006; Arslan, 2006; Taşkın, 2007; Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008;). Küçük oldukları için moleküler hareketlerle yerlerinde titrerler ki buna Braunien Hareketi denir (Arslan, 2006; Ataş, 2006; Taşkın, 2007; Parın, 2008). Kapsül ya da spor oluşturmazlar, flajellaları yoktur. Hastalıklı canlıdan yeni izole edilen S tipi kolonilerde ince bir kapsülün bulunduğu, pasajlarda ve R tipi kolonilerde bu kapsüllerin kaybolduğu saptanır. Bakteriyolojik boyalarla kolayca boyanırlar (Arslan, 2006; Ataş 2006; Serttaş, 2006; Taşkın, 2007). Jelözdeki 2-3 günlük kolonileri küçük, yuvarlak, kabarık, saydam, kaygan, S (smooth) şeklindedir. Eski kültürlerdeki kolonileri yassı, daha büyük çapta, mat, granüllü bir yüzeye sahip, R formundadır. Bu iki ana S ve R (rough) formundan başka , intermedier (I) ve mukoid (M) özellik gösteren koloni varyasyonları da vardır. Ayrıca *Brucella*'ların antibiyotik ve kimyasal maddelerden etkilenmeleriyle L formları da meydana gelebilir (Arslan, 2006).

2.2.2. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

Bu cinste birbiriyle morfolojik ve kültürel yönden benzerlik gösteren 6 tür yer almaktadır. Bunlar *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* ve *B. neotomae*'dir. İskoçya sahillerinde 1994 yılında atık yapmış bir yunusun fetusunda farklı bir tür izole edilmiş ve *Brucella maris* olarak isimlendirilmiştir. Ancak yapılan son araştırmalarda *B. maris*; *B. pinnipediae* ve *B. cetaceae* olarak adlandırılan 2 yeni türe ayrılmıştır (Serttaş, 2006; Abdelkareem, 2008; Parın, 2008).

Brucella türleri hücre içi parazitidirler (Settaş, 2006; Özgür, 2006; Özkuyumcu, 2007; Aydın, 2007). 20-40 °C'de üreyebilir, optimum üreme sıcaklığı 37 °C'dir (Serttaş, 2006; Taşkın, 2007). Üremeleri için optimum pH değeri ise 6.6-7.4 aralığıdır. (Taşkın, 2007). İnkübasyondan 2-3 gün sonra koloniler görülebilir, 4-5 gün sonra 2-3 mm büyüklüğe ulaşır. Hemoliz yapmazlar, pigment oluşturmazlar. Şeffaf besiyerlerinde çok açık bal sarısı, konveks, düzgün kenarlı, şeffaf, küçük, su damlası gibi, parlak koloniler oluştururlar (Aydın, 2007).

Brucella türlerinde katalaz, oksidaz ve üreaz pozitifdir. *Brucella* bakterileri aerobiktir, ancak *B. abortus* ve *B. ovis* ilk izolasyonlarında % 5-10 CO₂ 'li ortama gereksinim duyar (Taşkın, 2007).

Brucella bakterileri aside dirençli değildir ve ekzotoksin oluşturmazlar. Organik kükürtlü bileşikler parçalamaları sonucunda H₂S oluştururlar. *B. suis* en uzun süre (3-5 gün) ve en fazla miktarda, *B. abortus* orta süre (2 gün) ve miktarda, *B. melitensis* ise en az süre (1 gün) ve miktarda H₂S yapar ve hatta hiç yapmayabilir (Özgür, 2006; Serttaş, 2006; Parın, 2008).

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 söz konusudur .

Brucella'lar aerop bakteriler olmalarına karşın *Brucella abortus* ve *Brucella ovis* ilk izolasyonlarında mikroaerofil olup, üremek için % 10'luk CO₂'e ihtiyaç duyar. Birkaç pasajdan sonra normal aerob koşullarda da üremeye alışır.

Besiyerleri içerisine eklenen belirli konsantrasyonlardaki thionin, bazik fuksin, kristal viole ve pironin gibi maddeler karşısında *Brucella melitensis* inhibisyona uğramadan üremektedir. *Brucella abortus* yalnız thionin tarafından, *Brucella suis* ise thionin dışındaki bazik fuksin, kristal viole ve pironin tarafından inhibe olmaktadır. Thionin'den ise etkilenmeyerek üremesini sürdürmektedir (Ataş, 2006).

Ayrıca, bu etkenlerin bakteriyofaj duyarlılıkları da tiplendirmede önemli kriterdir. Günümüzde 5 tip fajdan yararlanır. Bu fajlar Tibilisi, Weybridge, Berkeley, Firenze ve Izatnagar'dır (Özgür, 2006; Serttaş, 2006; Parın, 2008).

Rutin test dilüsyonunda Tibilisi fajı *Brucella abortus*'un S kolonilerini tamamen lizise uğratar, *B. melitensis* ve *B. suis* kültürlerinde herhangi bir değişiklik oluşturmaz. Tibilisi fajı *Brucella abortus*, Weybridge fajı *Brucella abortus* ve *Brucella suis*, Berkeley fajı ise *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* ve *Brucella suis* üzerinde etkilidir (Ataş, 2006). Bu yöntemlerle *B. abortus* için 9, *B. melitensis* için 3 ve *B. suis* için 5 biyotip tanımlanmıştır (Özgür, 2006; Serttaş, 2006; Parın, 2008). *Brucella* türlerinin ve biyotiplerinin ayırıcı karakterleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Brucella türlerinin ve biyotiplerinin ayırıcı karakterleri

Tür	Biyotip	CO ₂	H ₂ S	Üreaz	Boyalarda üreme ^a		Monospesifik anti-serumlarla Aglutinasyon			Tbilisi Fajı Erime		En Çok Duyarlı Konak
					Tiyonin	B.fuksin	Anti A	Anti M	Anti R	RTD	10.000x RTD	
B.melitensis	1	-	-	D	+	+	-	+	-	-	-	Koyun Keçi İnsan
	2	-	-	D	+	+	+	-	-	-	-	
	3	-	-	D	+	+	+	+	-	-	-	
B.abortus	1	+	+	1-2 saat	-	+	+	-	-	+	+	Sığır İnsan
	2	+	+	1-2 saat	-	+	+	-	-	+	+	
	3	+	+	1-2 saat	+	+	+	-	-	+	+	
	4	+	+	1-2 saat	-	+ ^c	-	+	-	+	+	
	5	-	-	1-2 saat	+	+	-	+	-	+	+	
	6	-	-, +	1-2 saat	+	+	+	-	-	+	+	
	7	-	-, +	1-2 saat	+	+	+	+	-	+	+	
	8	+	-	1-2 saat	+	+	-	+	-	+	+	
	9	-, +	+	1-2 saat	+	+	-	+	-	+	+	
B.suis	1	-	+	0-30 dk	+	- ^d	+	-	-	-	+	Domuz İnsan
	2	-	-	0-30 dk	+	-	+	-	-	-	+	
	3	-	-	0-30 dk	+	+	+	-	-	-	+	
	4	-	-	0-30 dk	+	- ^e	+	+	-	-	+	
B.neotomae		-	+	0-30 dk	- ^b	-	+	-	-	-	+	Ağaç Fareleri
B.ovis		+	-	-	+	- ^e	-	-	+	-	-	Koç
B.canis		-	-	0-30 dk	+	- ^e	-	-	+	-	-	Köpek, İnsan

^aBoya konsantrasyonu 20 µg/ml (1/50 000); ^b1/100.000 boya konsantrasyonunda üreme olmaktadır; ^cKanada, İngiltere ve USA'dan izole edilen bazı suşlar negatiftir; ^dGüney Amerika ve Asya'dan izole edilen bazı suşlar pozitiftir; ^eÇoğu suşlar negatiftir; A- Monospesifik abortus serumu; M- Monospesifik melitensis serumu; R- Anti Brucella serumu; RTD- Rutin test dilüsyonu.

Brucella cinsi içerisinde yer alan başlıca türler ve bu türlere ait özellikler şöyledir;

1- *B. abortus*: Sığırlarda yavru atma hastalığının etkeni olup koyun, keçi, domuz ve insanda da enfeksiyon oluşturabilir. Bazı biyotipleri ilk izolasyonlarında % 10 CO₂'ye ihtiyaç duyarlar. Katalaz ve oksidazları pozitifdir. H₂S üretirler. Üreyi hidrolize edebilirler, ancak bazı suşları üreyi hidroliz etmeyebilir. Thionin varlığında üremezler, bazik fuksin, metil viyole, pyronin, safranin varlığında ürerler. 9 farklı biyotipi bulunmaktadır (Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

2-*B. melitensis*: Tipik olarak koyun ve keçilerde hastalık oluşturur fakat sığırları da enfekte edebilir. İnsanlar için en tehlikeli *Brucella* türüdür. Üremeleri için CO₂ 'ye ihtiyaç duymazlar. Katalaz ve oksidaz pozitifdir. H₂S testleri ya negatifdir ya da çok zayıftır. 3 farklı biyotipi bulunmaktadır (Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

3-*B. suis*: Konak yelpazesi açısından geniş bir türdür. 5 farklı biyotipi vardır. İlk 3 biyotipi en çok domuzları enfekte ederken, biyotip 4 ren geyiklerini , biyotip 5 ise kemiricileri enfekte eder. Koyun, keçi ve insanlarda da enfeksiyon oluşturabilen bu etkenin izolasyonunda %10 CO₂'ye ihtiyaç yoktur. H₂S reaksiyonu ise suşlara göre değişkendir. Katalaz ve oksidaz pozitifdir (Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

4- *B. ovis* : Koçların orşitis etkenidir. Koyunlarda da bazen hastalığa neden olmaktadır. Bu türün insanlarda enfeksiyon oluşturduğu saptanmamıştır. İlk izolasyonlarında CO₂'e gereksinim gösterirler ve H₂S reaksiyonu negatifdir. Katalaz pozitif, oksidaz negatifdir (Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

5- *B. canis* : Köpeklerde enfeksiyon oluşturan bu etken, insanlarda da hastalık meydana getirebilmektedir. Üremeleri için CO₂'e ihtiyaç göstermezler ve H₂S testi ise negatifdir. Katalaz ve oksidaz pozitifdir. Üreyi çok çabuk hidrolize ederler (Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

6- *B. neotomae* : Çöl farelerini enfekte eden bu etkenin insan ve hayvanlarda hastalık meydana getirdiği henüz bildirilmemiştir. Üremeleri için CO₂'e ihtiyaç göstermeyen etken H₂S oluşturmaktadır. Katalaz pozitif, oksidaz negatifdir. Üreyi çok çabuk hidrolize ederler (Aydın, 2007; Abdelkareem, 2008).

7- Deniz memelileri orijinli türler: Son yıllarda balina, fok, yunus ve su samuru gibi deniz memelilerinden izole edilen türler önceleri *B. maris* olarak isimlendirilmiştir. Ancak, son yapılan araştırmalarda bu hayvanlardan izole edilen izolatlarının, omp2a ve omp2b genlerindeki DNA polimorfizmine göre kara memelilerinden izole edilen türlerden ayrıldıkları ortaya konulmuş ve deniz memelilerinde en azından iki yeni tür olarak *B. pinnipediae* ve *B. cetaceae*' nin bulunduğu saptanmıştır (Abdelkareem, 2008).

2.4. Bulaşma Yolları

Hayvanlar arasında bulaşma genellikle fetus, fetal membranlar, yavru atan hayvanların vajinal akıntıları, plasenta artıkları ve amniyon sıvılarıyla olmaktadır. İnfekte gebe hayvanlar yavru atarken veya doğururken, özellikle fetüs, fetüse ait sıvılar, amnion ve plasenta aracılığı ile hastalık etkeninin çevreye bulaştırılmasına neden olurlar. İnfekte uterus akıntıları ve idrarla bulaşık olan kuyruk, diğer hayvanların deri ve konjiktivalarına etkeni bulaştırabilir. Brusellozisli ineklerin çoğu yavru attıktan haftalarca ve hatta aylarca sonra etkeni sütleri ile çıkarırlar. Testisleri iltahaplı olan infekte boğalarda, infekte sperma aracılığı ile sağlam dişilere etkeni bulaştırabilirler. Hastalığın naklinde sinek, sivri sinek, tahta kurusu, kene, pire, yabani tavşan, sıçan gibi canlıların da rolü olduğu bildirilmiştir.

İnsanlarda ise etmen, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin alınmasının yanısıra, 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. Özellikle mezbahada çalışan işçiler ile yeterince pişmemiş et ve et ürünlerini tüketenler her zaman bulaşma riski taşıyan gruptadırlar. Laboratuvar çalışanları arasında görülen en yaygın bulaş yolu ise enfekte aerosollerin solunum yoluyla alınmasıyla olur. Ayrıca hayvan bakıcıları, çiftçiler, çobanlar, kasaplar ve veteriner hekimlerde de solunum yoluyla bulaşma tehlikesi vardır. Canlı *Brucella* aşısının kazayla konjunktivaya sıçramasıyla da bulaş gözlenebilir (Serttaş, 2006; Taşkın, 2007; Parın, 2008).

İnsanlar arasında hastalığın geçişi kolay olmamasına rağmen kan transfüzyonu, organ ve kemik iliği nakli ile mümkün olduğu bildirilmiştir (WHO, 2006)

2.5. Patogenez

Brusellozis'in en önemli özelliği retikuloendotelial sistem (RES) hastalığı olması ve belli doku ve organlara yerleşmesidir. *Brucella* bakterileri gastrointestinal sistem, deri, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra bölgesel lenf bezlerinde (mezenterik, aksiler, servikal, supraklaviküler) ilk üremesini gerçekleştirir. Bakterinin oral yolla alınımında mide asiditesinin yetersizliği veya herhangi bir ilaçla ya da diyetle nötralize edilmiş olması bakterinin geçişini kolaylaştırır (Arslan, 2006).

Organizmaya girdikten sonra fagosite edilen, ancak polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından öldürülemediği olan bakteriler hızla bölgesel lenf bezlerine ilerler. Burada üredikten sonra lenf yolu ile genel dolaşıma katılır. Gelişen bakteriyemi sonucunda tüm vücuda yayılır. Bakterinin daha çok retikuloendotelial sistem organlarına lokalize olma eğilimi vardır. Özellikle dalak, karaciğer, kemik iliği ve lenf bezleri olmak üzere, organ fagositlerince tutulduktan sonra bu hücreler içinde öldürülemediği olan bakteriler intrasellüler olarak üremelerini sürdürürler (Arslan, 2006).

Brucella bakterilerinin virülansının esas dayanağı kesin olarak bilinmemektedir. Bakterilerin fagositik hücreler içinde yaşamasında etkili olduğu ileri sürülen mekanizmalar şunlardır:

- 1-Bakteriler fagolizozom füzyonunu engeller ve fagosite edilmelerine rağmen lizozomal enzimlerle ortadan kaldırılamazlar.
- 2-Bakteriler lizozomal enzimlere dirençlidir.
- 3-Bakteriler adenin ve 5'-guanozin monofosfat üreterek nötrofillerin H₂O₂ oluşturmasını önlerler ve bu şekilde oksidatif mekanizmalara direnç gösterirler.
- 4-Bakteriler sahip oldukları süperoksit dismutaz enzimi sayesinde reaktif oksijen metabolitlerini uzaklaştırarak oksidatif yıkıma karşı koyarlar.

Geviş getiren hayvanların plasenta ve fetal membranları erythritol içermektedir. Bu madde *Brucella*'lar için üreme faktörü ve karbonhidrat kaynağıdır. Özellikle gebeliğin son aylarında erythritol fazla bir şekilde salgılanır. Böylece bakteri hızlı bir şekilde

çoğalmaya ve endotoksin salgılamaya başlar. Bunun sonucu plasentitis ve metritis meydana gelir ki bunun sonucunda fetusun plasentadan ayrıldığı ve yavrunun ölümü ile atılmasına neden olduğu bildirilmektedir (Radostitis ve ark., 1994).

Erken doğum nedeni ise Enright ve ark. tarafından aydınlatılmıştır. *Brucella* infeksiyonu nedeniyle hayvanın vücudunda kortizol hormonu konsantrasyonunda yükselme olur. Bu hormonun yükselmesi diğer hormonların, özellikle progesteron ve östrojenin dengesini bozmaktadır. Dolayısıyla, kortizol hormonunun artışı progesteron hormonunu düşürerek ve östrojen hormonunu yükselterek erken doğuma neden olduğunu bildirmişlerdir (Enright ve ark., 1984).

Gebe hayvanların *Brucella* 'lara duyarlı olmaları bu şekilde izah edilebilmektedir. İnsan plasentasında erythritol bulunmadığından *Brucella* ' ya bağlı abortus görülen bir olgu değildir (Arslan, 2006; Ataş, 2006; Özkuyumcu, 2007).

2.6. Klinik Bulgular

Hayvanlardaki bruselloz ıvegen veya süregen seyirlidir. Dişi hayvanlardaki başlıca belirti yavru atmadır. Yavru atma genellikle gebeliğin 5-7 nci aylarında görülür. Yavru zarlarının atılamaması ve uterus iltihaplanması sonucu tekrar gebe kalma süresi uzayabilir veya kalıcı kısırılık oluşabilir. Yavru atma ve tekrar gebe kalma aralığının uzaması nedeniyle laktasyon süresindeki değişiklikler sonucu süt verimi de azalabilir. Bazı vakalarda hastalık sinsi seyreder. Düşük oranda da olsa infekte hayvan yavru atmayabilir. Bunlardan doğan yavruarda doğum sonrası hemen ölüm görülebilir ya da infekte anadan doğan buzağlar infeksiyonu gizli olarak taşıyabilirler. Bu buzağlar ilk gebeliklerine kadar bir belirti göstermeyip, serolojik testleri de negatif olabilir. Bu hayvanlar sürüde infeksiyon kaynağı olarak kalırlar. Bundan dolayı hasta bir anadan olan buzağlar damızlıkta kullanılmamalıdır (Ataş, 2006; Parın, 2008).

İnfekte hayvanlar meme ve meme lenf yumrularında oluşan kalıcı infeksiyon nedeniyle yaşamları boyunca zaman zaman etkeni sütleriyle çıkarırlar ve bu nedenle insanlar için risk oluştururlar. Erkek hayvanlarda üreme organları etkilenir ve orşitis meydana gelir. Her iki cinste de bacak eklemlerinde şişlikler görülebilir (Ataş, 2006; Parın, 2008).

İnsanlarda *Brucella* bakterileri vücuda girdikten sonra karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrek, santral sinir sistemi, endokart, testis, over, büyük eklem ve vertebralara yerleşebilir. Kuluçka süresi 10 ile 30 gün arasında değişmektedir. Bunun nedeni bakterilerin intrasellüler yerleşme ve yaşaması olarak kabul edilmektedir. En sık görülen belirtiler üşüme, titreme, halsizlik, baş ağrısı ve ateştir. Ateş, daha çok öğleden sonraları yükselir ve gün geçtikçe basamak basamak daha fazla artar. Geceleri ve sabahları ateşin düşmesiyle beraber bol terlemeler ve bunun yanında belde, eklemlerde, sırt ve ense bölgelerinde şiddetli ağrılar görülebilir (Ataş, 2006).

İştahsızlık, sinirlilik, zayıflama diğer önemli yakınmalardır. Hastalığın klinik tablosu *Brucella*'nın türüne göre değişmektedir. *B. melitensis* yüksek virülans yeteneğine sahiptir. PMNL içindeki bakteri öldürücü mekanizmalara direnç gösterir. Bu olayda, bakterinin içerdiği adenin ve guanozin monofosfat etkinliği ile PMNL'nin degranülasyonunun önlenmesinin önem taşıdığı sanılmaktadır. Ayrıca, insan serumunun *B.abortus*'a karşı göstermiş olduğu bakterisidal etkinin *B.melitensis*'e etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Arslan, 2006; Ataş, 2006; Özkuyumcu, 2007).

B.suis'de invaziv (yayılmacı) etkilidir. Lenf nodları, kemik, karaciğer ve kemik iliğinde fokal nekroz ve süpürasyonlara (irinlenmelere) neden olur. *B.abortus* daha az yayılmacıdır. Hafif bir hastalık tablosuna yol açar ve invaze olduğu organlarda nekroz ve süpürasyon içermeyen granülomlar oluşturur. *B.canis* insanda bakteriyemi, lenfadenopati, splenomegali ve hafif bir hastalık tablosu oluşturur (Arslan, 2006; Ataş, 2006; Özkuyumcu, 2007).

İnsanlarda hastalığın 4 farklı klinik tablosu vardır:

1-Aseptomatik-Subklinik İnfeksiyon: Klinik olarak belirgin değildir. Serolojik testler sonucu ortaya çıkar. Aseptomatik infeksiyon *B. abortus* türlerinde daha fazla görülür (Taşkın, 2007). Hastaların subklinik, klinik bruselloz geçirme oranı 1/1, 1/12 arasında değişir. Semptomsuz meslek hastalığı şeklinde yalnız serolojik olarak belirlenebilir. Çocuklarda bir kısım vaka aseptomatik olabilir (Geyik, 2003).

2-Akut İnfeksiyon: Hastalığın en tipik formudur. En sık görülen belirtiler; ateş, titreme, terleme, halsizlik, vücutta yaygın ağrılar ve iştahsızlıktır. Akşam saatlerinde üşüme ve

titreme ile birlikte yükselen ateş belirtileri gözlenmeye başlar. Ateş her gün birkaç derece artarak 8-10 günde 39-40 °C'ye yükselir. Birkaç saat süren ateş sabaha doğru terlemeyle son bulur. Eğer tedavi sürecine başlanmamışsa ateş her gün kademe kademe düşer ve sonunda normale iner. Hastada geçici bir iyilik hali gözlenir. 8-10 gün sonra aynı belirtiler tekrar gözlenmeye başlar. Hastalık ateşli dönemler, ateşsiz dönemler halinde sürer gider. Yetişkin hastaların %80'inde büyük eklemlerde gezici ağrılar, bel ve sırt ağrıları da görülür. Eğer tedaviye başlanmazsa ağrılar şiddetlenir.

3-Subakut İnfeksiyon: Semptomların başlamasından itibaren 8 haftaya kadar olan olgular akut, 8-52 hafta arası olgular subakut olarak kabul edilir. Grip olduğu sanılan bir klinik tablodur. Subakut formda vakaların %90'ında ilk 6 ayda daha çok olmak üzere, bir yıl içinde spontan iyileşme özelliği gösterir.

4-Kronik İnfeksiyon: Bazı hastalarda hastalığın semptomları başlangıçta sinsi olabilir. Akut ve kronik formları ayırt etmek zorlaşır. Şikayetler teşhisten sonra bir yıla yakın süredir devam ediyorsa kronik bruselloz olarak tanımlanır. Bazı hastalarda kronik yorgunluk, depresyon ve eklem ağrıları gözlenir. Kronikleşme 40 yaşın altındakilerde daha sık olup, çocuklarda çok nadirdir (Taşkın, 2007). Dört şekilde görülebilir:

- 1- Sinsi Başlangıç
- 2- Akut Hastalığı Takiben Relapslar
- 3- Lokalize Hastalık
- 4- Tedaviye Cevap Vermeyen Kalıcı Hastalık (Parın, 2008).

2.7. Tanı

2.7.1. Laboratuvar Tanısı

Brucelloz tanısı, klinik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilmesine dayanır. Hastalığın kesin tanısı, yeni atılmış fetüslerden alınan marazi maddeler, kan, serum, süt, plasenta, sperma, vaginal sıvı, idrar ve organlardan tekniğine göre uygun olarak alınan materyallerle laboratuvarında yapılacak serolojik ve bakteriyolojik muayeneler sonucu konur (Arda, 1997; Taşkın, 2007; Parın, 2008).

2.7.2. Serolojik Tanı

Brucelloz'un laboratuvar tanısında serolojik testler çok önemlidir. Bu testler hastanın özgül antikor durumunu göstermektedir. Bakteriyolojik tanıda etken izolasyonunun uzun sürmesi ve kronik olgularda genellikle olumsuz sonuçlar alınmasından dolayı serolojik testler daha çok tercih edilmektedir. Ancak tanıda en az iki serolojik testin uygulanması daha güvenilir sonuç vermektedir (Disarno ve ark., 1992).

Brucellozun serolojik tanısında Wright Aglütinasyon Testi (WAT), Rose-Bengal Testi (RBT), blokan antikorları gösteren Coombs Testi, Ig M ile Ig G antikorlarını ayırt ettiren 2-mercaptoethanol testi ve Radio İmmüno Assay (RIA), İmmün Floresan Testi (IFT), Enzyme-Linked Immuno Sorbant Assay (ELISA) testleri kullanılmaktadır (Ataş, 2006).

2.7.3. Bakteriyolojik Tanı ve Tiplendirme

Kan, irin, uterus akıntısı, organ parçaları, plasenta, kotiledon ve fetüs mide içeriği gibi materyallerden hazırlanan preparatlar Köster ve Ziehl-Noelsan yöntemleri ile boyanarak muayene yapılır. Köster boyama ile boyanan preparatlarda *Brucella* bakterileri mavi renk içinde portakal renginde gözlenir. Ziehl-Noelsan ile boyanan preparatlarda ise; maviye boyanmış doku hücreleri içinde kırmızı renkte gözlenir. *Brucella* etkenlerini tanımda ayrıca Stemp ve Gram boyalarından da faydalanılır.

Bakteriyolojik tanıda kullanılan belli başlı besiyerleri; Brain-Heart Infuzyon Agar, Karaciğer Infuzyon Agar, Serumlu Dekstroz Agar, Gliserozlu Dekstroz Agar, Patates Agar, Tryptose Agar, Tripticase Soy Agar, Albimi Agar, *Brucella* K Vitaminli Agar, *Brucella* Agar'dır.

Özellikle kontamine örneklerden bakteri izolasyonunda besiyeri içerisine Bacitracin, Polymyxin B, Cycloheximid ve Ethyl viole gibi maddeler katılarak diğer bakterilerin üremesi engellenir (Bilgehan, 2000).

Türlerin ayrımında yapılması gereken incelemeler şunlardır:

- 1-Üremesi için CO₂ gereksinimi
- 2-Bakterilerin H₂S üretimi
- 3-Bazik fuksin ve Tionin eklenerek hazırlanan plak besiyerlerinde üreme veya inhibisyonu deneyleri
- 4-Üreaz etkinliği deneyi
- 5-Oksidaz etkinliği deneyi
- 6-Monospesifik antiserumlarla aglütinasyon deneyleri
- 7-Fajlara karşı duyarlılık deneyi

2.7.4. Alerjik Tanı

Allerjik tanıda bakterilerden elde edilmiş ve saflaştırılmış nükleoprotein kompleksinden oluşan Brucellergen deri içine şırınga edilir. 24 saat içinde kızartı, ödem ve sertlik şeklinde görülen reaksiyon olumlu kabul edilerek bu kişilerin *Brucella*'lara karşı aşırı duyarlı olduğu anlaşılır. Testin olumsuz olması da Bruselloz tanısını uzaklaştırmaz. Deri testi ayrıca *Brucella*'ların öldürülmüş kültürleri veya 21 günlük kültür süzüntüleri (Mellitin-Abortin) ile de yapılabilir (Bilgehan, 2000).

2.7.5. Hayvan Deneyi

Kobayların deri altı, kas veya periton içine içinde *Brucella* bakterisinin olabileceği düşünülen materyaden enjeksiyon yapılabilir. Kobaylar *Brucella* bakterilerine az duyarlı olup 2-4 hafta sonra hastalık belirtisi verirler. Hastalanan kobayların gangliyon kan ve dalaklarından yapılan kültürlerde *Brucella* bakterilerini görmek olasıdır. Deneye sokulan yavru kobaylar yavrularını düşürürler (Bilgehan, 2000).

2.8. Tedavi

Hayvanlarda Brusellosis'in ilaçla sağaltımı uygulanmamaktadır. Ancak, koruyucu önlemlerin alınması ve aşılamalar ile hayvanların hastalıktan korunması önem taşımaktadır. İnsanlarda ise tedavi destek ve özgül olmak üzere iki şekilde uygulanır.

Destek tedavide, hastaların tedavilerinin ilk haftasını yatakta geçirmeleri önerilir. Bu dönemde endotoksinlerin fazlaca açığa çıkması, ateşlerinin yükselmesine neden olabilir. Bu devrede ağır yemeklerden kaçınmalı, sindirimi kolay ve sulu gıdalar verilmelidir.

Özgül tedavideki esas problem, bakterinin intrasellüler üremesi ve kanda nadiren serbest halde bulunmasıdır. Dolayısıyla, kullanılacak antimikrobiyalin etkinliğini intrasellüler alanda sürdürebilmesi ve yeterli konsantrasyona ulaşabilmesi gerekmektedir. Bruselloz tedavisinde kullanılan antibiyotikler mutlaka makrofajların içine girebilmeli ve bakterisid etkili olmalıdır. Bruselloz hastalığının tedavisinde kombine antimikrobiyal kullanımı gereklidir. Kombinasyon tedavisi her zaman daha üstündür. Monoterapide relaps oranları çok yüksektir (Ustaçelebi, 1999; Özgüven, 2004).

Dünya Sağlık Örgütü 1981 yılında Bruselloz tedavisi için streptomisin ve tetrasiklin kombinasyonunu tedavi protokolü olarak belirlemişlerdir. Buna göre; streptomisin 1g/gün intramusküler tek doz 21 gün ve tetrasiklin 2g/gün oral (günde 4 kez 500mg) olacak şekilde planlamıştır (Akova ve ark., 1993).

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

2.9. Korunma

İnsanların brusellozdan korunması; doğrudan doğruya özellikle koyun, keçi, sığır ve domuz gibi evcil hayvanların kontrolü ve eradikasyonu ile ilgilidir. Hayvanlar, özellikle sığırlar arasındaki brusellozun kontrolü için; dünya FAO/WHO eksperler komitesi birbirine bağlı üç program önermektedir:

- 1-Hayvanları hastalıktan korumak,
- 2-Testler ile hasta hayvanların belirlenip kesilmesi,
- 3-4-8 aylık dişi danaların S19 aşısı ile aşılınmaları.

Bu öneriler doğrultusunda ülkemizde 1983 yılında Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından 26 yılda gerçekleştirilmesi planlanan ve Türkiye'ye 218 milyarlık bir katkı da bulunacak "Türkiye Brusellozis Mücadele Projesi" hazırlanmış ve çalışmalara başlanmıştır. Koyun ve keçilerin bağışıklanmasında *B.melitensis*'in suş Rev1'i kullanılmaktadır.

Brusellozdan korunmak için alınması gereken önlemleri şu şekilde sıralayabiliriz:

- Risk altındaki personelin (mezbaha işçileri, et paketleyicileri, laborantlar, veterinerler ve hayvan bakıcıları) eldiven, tüm kollarını örten giysiler giymeleri, gözlük takmaları,
- Brucella* bakterilerine kümes hayvanları da duyarlı olduğundan, özellikle, hasta olan kümes hayvanlarının kesiminde önlem alınması ve yumurtalarının çiğ yenmemesi,
- Sütlerin pastörizasyonu,
- Taze peynir yapımı sırasında son peynirlerin yeterince tuzlanması ve en az iki ay bekletildikten sonra yenmesi,
- Etlerin iyice pişirilmeden yenmemesi,
- Endemik bölgelerde hayvan idrarı ile kirlenmiş sebzelerden de bulaş olabileceği düşünülmeli ve sebzelerin dezenfekte edildikten sonra veya pişirerek tüketilmesi,
- Bruselloz kuşkulu kişilerin cinsel temasının yasaklanması,
- Güzellik enstitülerinde kullanılacak plasenta hücrelerinin sağlıklı sığırlardan eldesi,
- Bruselloz olgularının mutlaka Sağlık Bakanlığı'na ihbar edilerek o bölgenin Bruselloz yönünden geniş incelenmesinin yapılması sağlanmalıdır (Ustaçelebi, 1999; Taşkın, 2007).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmamızda Tokat iline bağlı 18 farklı köy ve ilçelerinden toplanan 161 adet inek sütü, 58 adet koyun sütü ve 33 adet keçi sütünde olmak üzere toplam 252 adet örnekte *Brucella* cinsi bakteriler aranmıştır. Örneklerin özellikle *Brucella* aşısı olmamış hayvanlardan toplanmasına dikkat edilmiş, ancak hayvan sahiplerinin bu konuda yeterince bilgi sahibi olmamasından dolayı kesin tespit yapılamamıştır.

Çizelge 3.1. Örneklerin toplandığı köy ve kasabaların isimleri ve örnek sayıları

Köy/Kasaba İsmi	Toplanan Örnek Sayısı	Örneklerin Hayvan Türlerine Göre Dağılımı		
		İnek	Koyun	Keçi
Avlunlar Kasabası	21	15	6	-
Cincife Köyü	16	16	-	-
Bakımlı Köyü	16	13	3	-
Ballıdere Köyü	11	11	-	-
Serince Köyü	5	5	-	-
Döllük Köyü	10	10	-	-
Çöreği Büyük Köyü	9	9	-	-
Keşlik Köyü	14	5	3	6
Tahtoba Köyü	56	27	24	5
Budaklı (niksar)	3	-	-	3
Soğukpınar (Reşadiye)	7	1	-	6
Şehitler Köyü	11	8	3	-
Şenyurt Kasabası	12	4	-	8
Yıldıztepe(Zile)	3	1	2	-
Evren Köyü(Zile)	9	3	3	3
Bozatalan Köyü	17	7	10	-
Eski Köyü	11	7	2	2
Kömeç Köyü	21	19	2	-

Koyun, keçi ve inek sütleri Tokat iline bağlı 18 farklı köy ve kasabadan toplanmıştır. Çiğ süt örneklerinin toplandığı köy ve kasabaların isimleri, örneğin alındığı hayvanların cinsi ve toplanan çiğ süt örneklerinin sayısı Çizelge 3.1’de gösterilmektedir.

Süt örneklerinden yaklaşık 50’şer ml örnek steril ağzı kapalı plastik kaplara alınmıştır.

Süt sağımı hayvanın her bir memesinden olacak şekilde steril kap içerisine yapılmış ve kapların ağzı hemen kapatılmıştır (Şekil 3.1). Örnekler buz çantalarında soğuk zincir korunarak aynı gün içerisinde Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı’na getirilmiştir. İnek, koyun ve keçiden alınan süt örnekleri MRT’de yalancı pozitif reaksiyon vermemesi için analize alınmadan önce buzdolabında 48-72 saat bekletilmiştir.



Şekil 3.1. Örneklerin toplandığı steril kaplar

3.1.2. Antijen ve Kontrol Suşları

Brucella MRT antijeni Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü’nden, Brucella kontrol suşu ise Gazi Osman Paşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’ndan temin edilmiştir.

3.1.3. Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar

Süt örneklerinde *Brucella* izolasyonunda ticari firmalardan sağlanan seçici besiyeri, üretilen bakterilerin kesin tanısında Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen Polivalan *Brucella* antiserumu, ticari firmalardan sağlanan Katalaz, Oksidaz ayıracağı, kurşun asetat kağıdı ve üre besiyeri kullanılmıştır.

Brucella Agar (Fluka Analytical 18795)

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

41 gram besiyeri tartılarak üzerine 1 litre distile su eklenmiş ve kaynayan su banyosunda çözülmeye kadar bekletilmiştir. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika bekletilerek steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyerine 48-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra bek alevi yanında 50 ml at serumu eklenmiştir. Ayrıca süt örnekleri içerisinde bulunan diğer bakterilerin üremesine engel olması ve besiyerinin daha seçici hale gelmesi için 2 şişe *Brucella* selective supplement eklenmiştir. Besiyerinin bir kısmı H₂S testinde kullanılmak üzere tüplere dağıtılarak yatık durumda katılaştırılmıştır. Besiyerinin geriye kalan kısmı petri plaklarına dağıtılmıştır. Besiyerleri kullanılacakları zamana kadar buzdolabında saklanmıştır.

Brucella Selective Supplement

Polymixin B 2500 IU
Bacitracin 12500 IU
Cycloheximide 50 mg
Nalidixic acid 2.5 mg

Nystatin 50000 IU

Vancomycin 10 mg

5 ml metil alkol ve 5 ml distile su, şişe içerisinde bulunan *Brucella* selective supplement'e eklenmiş ve karıştırılmıştır. 10–15 dakika 37 °C'lik etüvde bekletilmiştir. Besiyerlerinin içerisine her 500 ml besiyeri için bir şişe olacak şekilde bek alevi yanında eklenmiştir.

At Serumu

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi'nden temin edilen at serumu 56 °C' de yarım saat bekletilerek inaktive edilmiştir. *Brucella* Agar besiyeri 48-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 1 litre besiyeri için 50 ml olacak şekilde at serumu eklenmiştir.

Polivalan *Brucella* Antiserumu

Çalışmamızda kullandığımız polivalan *Brucella* antiserumu Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Aglutinasyon testi yapılmadan önce antiserum buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Şüpheli koloniden alınan bir öze dolusu materyal bir damla antiserum içerisinde lam üzerinde homojenize edilmiş ve aglutinasyon olup olmadığı gözlenmiştir.

Katalaz ve Oksidaz Ayıraçları

Brucella izolatlarının katalaz aktivitelerini saptamak amacıyla % 3' lük Hidrojen Peroksit (H₂O₂), Sitokrom C oksidaz enziminin aktivitesini belirlenmesinde ise oksidaz ayıracı kullanılmıştır. Her iki üründe ticari firmalardan sağlanmıştır.

Kurşun Asetat Kağıdı

H₂S testinde kullanılmak üzere ticari firmalardan temin edilen kurşun asetatlı kağıt şeritler kullanılmıştır.

Gram Boya Seti

Brucella kolonilerinden hazırlanan preparatların Gram Boyama yöntemi ile mikroskopik olarak incelenmesi için kullanılmıştır.

Crystensen Üre Agar (Fluka 500g)

Gelatine Peptone 1 gr / L

D(+) Glukose 1 gr / L

Potassium Dihydrogen Phosphate 2 gr / L

Sodium Chloride 5 gr / L

Phenol Red 0.012 gr / L

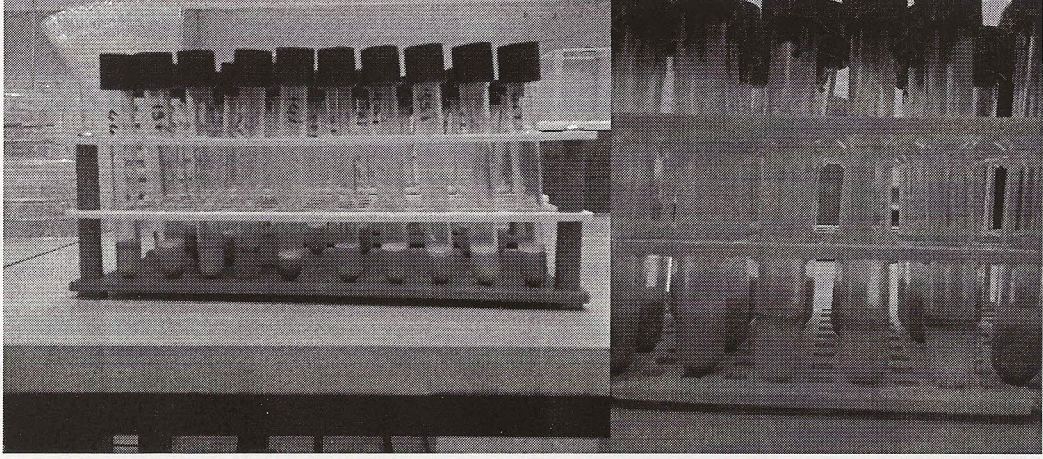
Agar 12 gr / L

21 gram besiyeri tartılarak üzerine 950 ml distile su eklenmiş ve kaynayan su banyosunda eriyinceye kadar bekletilmiştir. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika bekletilerek steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 48-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra bek alevi yanında içerisine 50 ml % 40 lık üre solüsyonu eklenmiş ve tüplere dağıtılarak yatık durumda katılaştırılmıştır. Besiyerleri kullanılacakları zamana kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.2. Yöntem

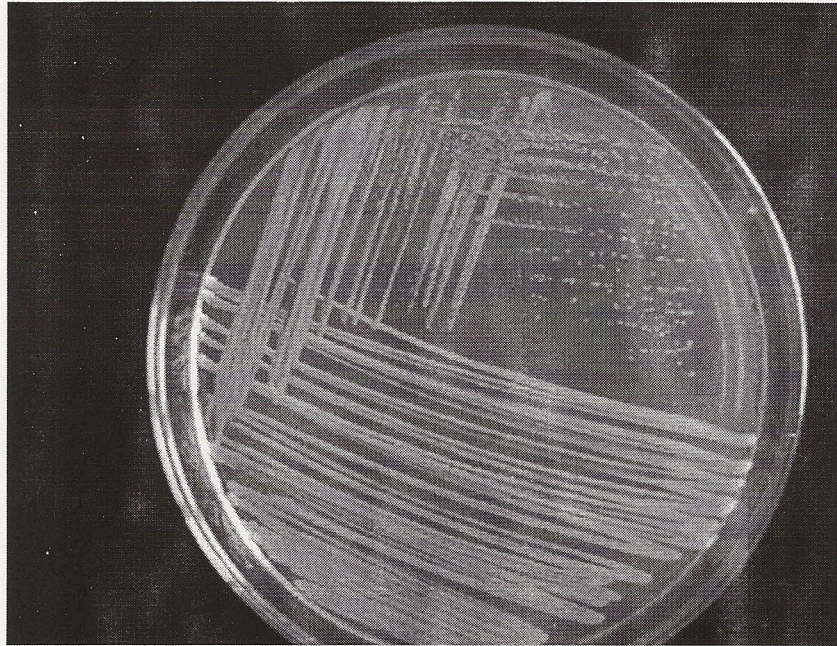
3.2.1. Örneklerin İncelenmesi

Daha önce steril şartlarda steril kaplara alınan ve buzdolabında 24-48 saat saklanan her bir süt örneği iyice karıştırılarak homojenize edilmiştir. Her bir süt örneğinden ayrı ayrı 1'er ml alınarak ince test tüplerine (11*100 mm) konmuştur. Üzerlerine 1'er damla Milk Ring Test Antijeni damlatılmıştır. Test tüplerinin kapakları kapatılarak köpürtmeden birkaç defa alt üst edilmiştir. 1 dakika bekleyip antijenin karışıp karışmadığı kontrol edilmiş ve 37 °C'lik etüvde koyun ve keçi sütleri 3 saat, sığır sütleri 1 saat inkübe edilmiştir (Şekil 3.2).

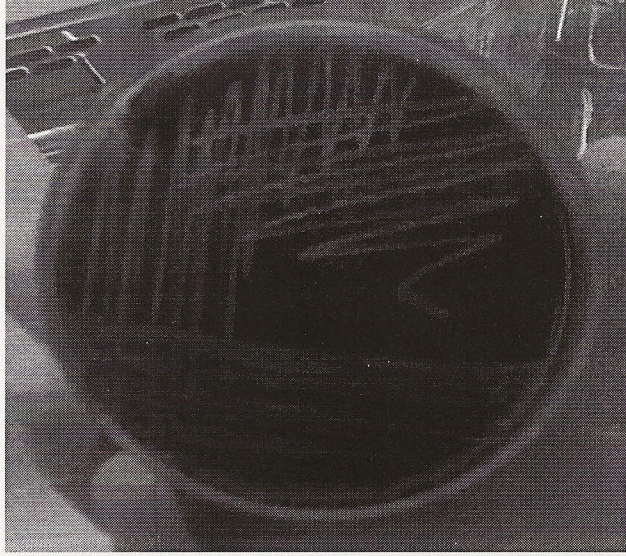


Şekil 3.2. MRT için inkübe edilen sütlerin inkübasyon sonrası görüntüleri

Bu sürelerin sonunda pozitif sonuç veren örneklerden *Brucella* agar besiyerlerine çiftli ekimler yapılmıştır. Ekim yapılmış *Brucella* agarlardan biri aerob ortamda inkübe edilirken diğeri %5-10'luk CO₂ 'li etüvde 37 °C'de inkübe edilmiştir. Beşinci günün sonunda etüvden çıkarılan besiyerleri incelenmiştir. Ekimi yapılan toplam 49 adet örnekten 2'sinde *Brucella*'lara uyan kolonilerin oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 3.3). Aynı kolonilerin kanlı agardaki görüntüsü Şekil 3.4'de gösterilmiştir.

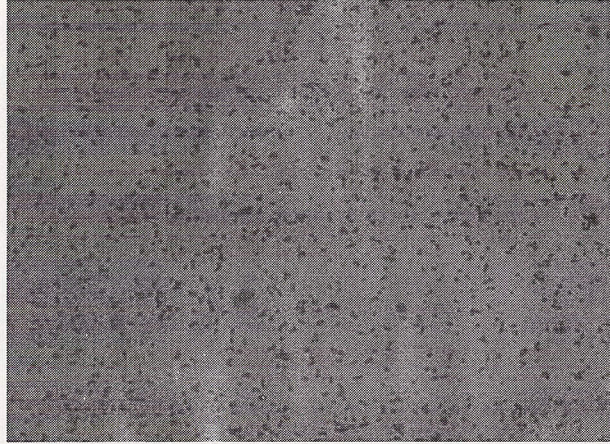


Şekil 3.3. *Brucella* kolonilerinin Brucella Agar'daki görünümü



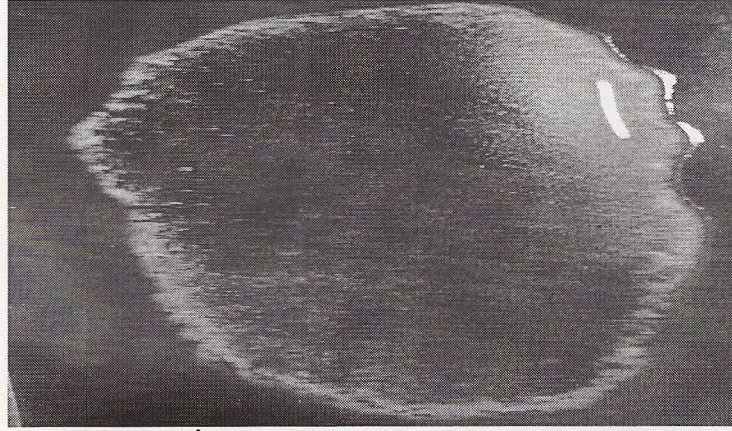
Şekil 3.4. *Brucella* kolonilerinin Kanlı Agar'da görünümü

Şüpheli kolonilerden öze ile alınarak preparat hazırlanmış ve gram boyama yapılarak mikroskopta incelenmiştir (Şekil 3.5).



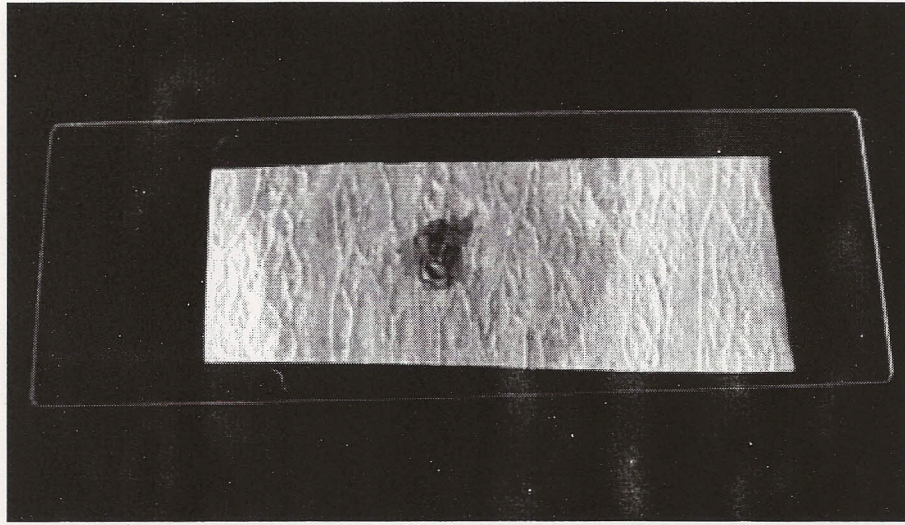
Şekil 3.5. İzole edilen *Brucella* bakterilerinin Gram boyalı preparatta mikroskopik görüntüsü (x100)

Pendik Veterinerlik'ten temin edilen polivalan *Brucella* antiserumundan lam üzerine bir damla damlatılmış ve şüpheli kolonilerden bir öze dolusu alınarak damlatılmış olan antiserum ile homojen hale gelinceye kadar karıştırılmıştır. Daha sonra lam elde rotasyona tabi tutulmuş ve her ikisinde de aglütinasyon meydana geldiği görülmüştür (Şekil 3.6).

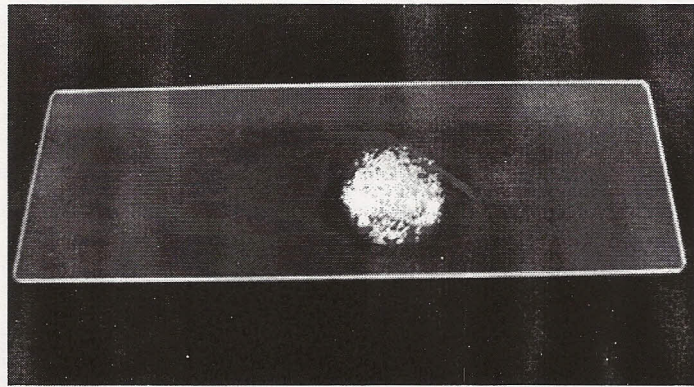


Şekil 3.6. İzole edilen *Brucella* bakterilerinin Polivalan Brucella antiserumu ile Aglütinasyonu

Gram boyama sonucunda *Brucella* bakterilerinin görünümüne uyan ve yapılan aglütinasyon testi pozitif olan bu iki örneğe katalaz ve oksidaz testleri uygulanmış ve pozitif sonuç alınmıştır (Şekil 3.7, 3.8).

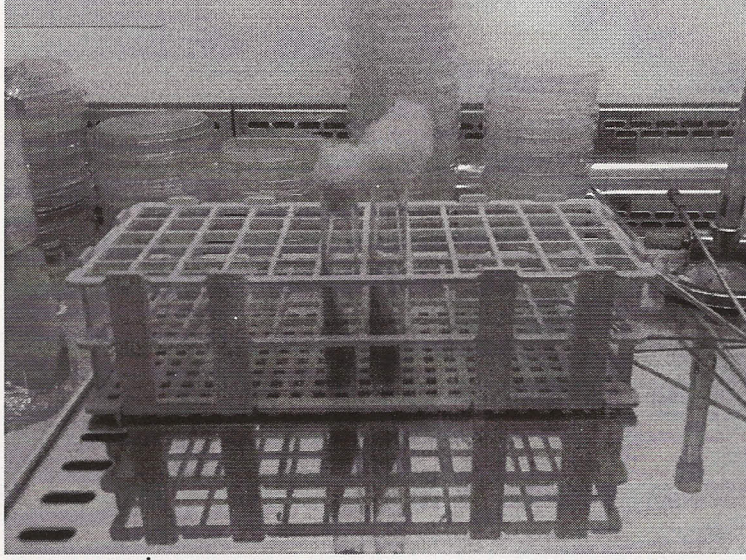


Şekil 3.7. İzole edilen *Brucella* bakterilerinin pozitif oksidaz deneyi



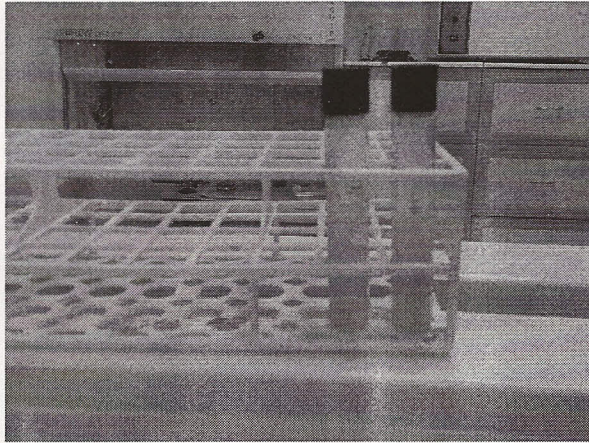
Şekil 3.8. İzole edilen *Brucella* bakterilerinin pozitif katalaz deneyi

Şüpheli kolonilerden Christensen's Üre Agar besiyerlerinin yüzeylerine ve dip kısımlarına iğne öze ile her iki izolattan ikişerli ekim yapılmıştır. Ekim yapılmış üre agarlardan biri aerob ortamda inkübe edilirken diğeri %5-10'luk CO₂ 'li ortamda 37°C'de inkübe edilmiştir. Yapılan her iki ekimden de pozitif sonuç alınmıştır. Diğer bir ifadeyle tüplerde kırmızı rengin oluşması pozitif, sarı renkte kalması negatif olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. İzole edilen *Brucella* bakterisinin pozitif üreaz sonucu

Aynı kolonilerden içerisinde *Brucella* agar bulunan tüplere ekim yapılmış ve tüplerin içerisine sarkacak fakat besiyerine değmeyecek şekilde kurşun asetat kağıtları sarkıtılmıştır. Besiyerleri hergün kontrol edilerek kurşun asetatlı kağıt şeritlerde siyahlanma olup olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.10).



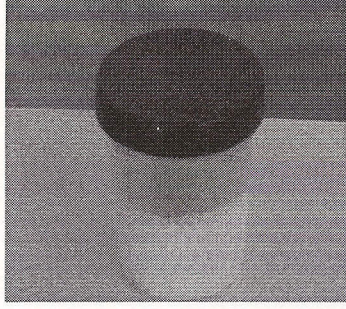
Şekil 3.10. İzole edilen *Brucella* bakterilerinin H₂S test sonucu

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilen *Brucella* suşu çalışmaların her aşamasında kontrol mikroorganizma olarak kullanılmıştır. Hazırlanan besiyerleri ve ayıraçlar bu suşlar ile denenmiştir.

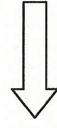
Çalışmamızdaki şüpheli suşlar ileri identifikasyon ve tiplendirme amacıyla Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü *Brucella* Aşıları Üretim Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Bunun yanısıra, herhangi bir hatayı önlemek amacıyla Milk Ring Test'i pozitif olup üreme elde edilemeyen süt örnekleri de Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü *Brucella* Aşıları Üretim Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Enstitü Laboratuvarında şu işlemler yapılmıştır;

- CO₂ gereksinimi
- Oksidaz testi
- Katalaz testi
- H₂S aktivitesi
- Üreaz testi
- Thioninli(20µg/ml) besiyerinde üreme özellikleri
- Bazik Fuksinli (20µg/ml) besiyerinde üreme özellikleri
- A antiserumu ile aglütinasyon
- M antiserumu ile aglütinasyon
- Tbilisi fajında lizis
- Penisilinli (5 IU) besiyerinde üreme
- Streptomisinli (25mg/ml) besiyerinde üreme
- Safraninli(100 µg/ml) besiyerinde üreme
- İ-eritritol (1 mg/ml) besiyerinde üreme

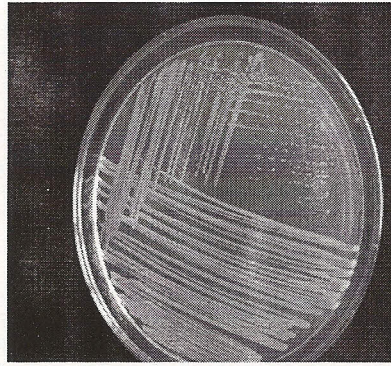
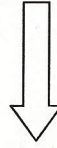
Çalışmamız sırasında laboratuvarında uygulanan tüm işlemler aşağıdaki gibi özetlenebilir:



Süt örneklerinin tamamına MRT uygulanması



MRT'si pozitif olan numunelerden Brucella Agar'a ekim



Brucella Agar'da koloni morfolojisine uygun üreyen bakterilerden
identifikasyon

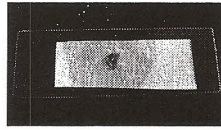




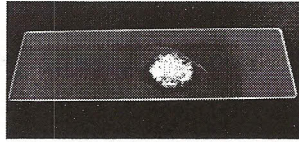
Gram boyama



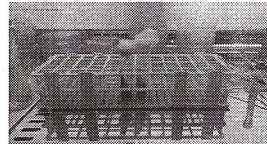
Polivalan antiserumla aglütinasyon



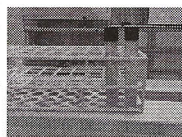
Oksidaz testi



Katalaz testi



Üreaz testi



H₂S testi

4. BULGULAR

Bu çalışmada Tokat ili merkeze bağlı 18 farklı köy ve kasabadan 161 inek , 58 koyun ve 33 keçi süt örneği olmak üzere toplam 252 adet süt örneği *Brucella* cinsi bakterilerin varlığı açısından araştırılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen bütün örnekler Milk Ring Testi uygulanmıştır. 252 adet süt örneğinden toplam 49 adedinin Milk Ring Test sonucu pozitif olarak bulunmuştur. Bunlardan 24'ü (%48.98) inek, 20'si (%40.82) koyun ve 5'i (%10.2) keçi sütü örneklerinde bulunmuştur. Her türe kendi içerisinde değerlendirme yaptığımızda tüm inek sütü örneklerinin %14.91'i, koyun sütü örneklerinin %34.48'i ve keçi sütü örneklerinin %15.15'i pozitif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. MRT pozitif süt örneklerinin yüzde olarak oranları

Süt örnekleri	Örnek sayısı	MRT pozitif örnek sayısı	Yüzde (%)
İnek sütü	161	24	% 14.91
Koyun sütü	58	20	% 34.48
Keçi sütü	33	5	% 15.15
TOPLAM	252	49	% 19.44

Milk Ring Testi pozitif olan numunelerden *Brucella* Agar besiyerine çiftli ekimler yapılmıştır. Ekimi yapılan 49 adet süt örneğinden 2'sinde (46 ve 48 no'lu örneklerde) *Brucella* cinsi bakterilerin koloni morfolojisine uygun kolonilerin oluştuğu tespit edilmiştir (Şekil 3.3). Koloni oluşumu gözlenen her iki süt örneğinin de koyun sütü olduğu belirlenmiştir. İzole edilen şüpheli suşlar ekim yapılan iki ortamda da, %5-10'luk CO₂'li ortamda da aerobik ortamda da üremiştir. Ancak aerobik ortamda % 5-10'luk ortama göre daha çabuk ve daha iyi üreme elde edilmiştir.

Toplanan örneklerin toplandıkları yer, MRT sonuçları, *Brucella* agarda üreme durumları, ait oldukları hayvanların cinsi ve abort bilgileri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Örneklerin toplandıkları yer, MRT sonuçları, Brucella agarda üreme durumları, ait oldukları hayvanların cinsi ve abort bilgileri

Örnek no	Örneğin Alındığı yer	Hayvan Türü	Abort Bilgileri	MRT Sonucu	Agarda üreme
1	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
2	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
3	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
4	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
5	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
6	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
7	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
8	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
9	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
10	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
11	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
12	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
13	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	-	-
14	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	-	-
15	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	-	-
16	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	Pozitif	-
17	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
18	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
19	Avlunlar Kasabası	İnek	-	-	-
20	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	-	-
21	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	Pozitif	-
22	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
23	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
24	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
25	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
26	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
27	Cincife Köyü	İnek	-	-	-

Çizelge 4.2. Devamı

28	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
29	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
30	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
31	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
32	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
33	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
34	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
35	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
36	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
37	Cincife Köyü	İnek	-	-	-
38	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
39	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
40	Ballıdere Köyü	İnek	-	-	-
41	Ballıdere Köyü	İnek	-	-	-
42	Ballıdere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
43	Ballıdere Köyü	İnek	-	-	-
44	Ballıdere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
45	Ballıdere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
46	Bakımlı Köyü	Koyun	+	Pozitif	+
47	Bakımlı Köyü	Koyun	-	-	-
48	Bakımlı Köyü	Koyun	+	Pozitif	+
49	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
50	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
51	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
52	Ballıdere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
53	Ballıdere Köyü	İnek	-	-	-
54	Ballıdere Köyü	İnek	-	-	-
55	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
56	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-

Çizelge 4.2. Devamı

57	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
58	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
59	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
60	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
61	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
62	Bakımlı Köyü	İnek	-	-	-
63	Ballıdere Köyü	İnek	-	-	-
64	Ballıdere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
65	Serince Köyü	İnek	-	-	-
66	Serince Köyü	İnek	-	-	-
67	Serince Köyü	İnek	-	-	-
68	Serince Köyü	İnek	-	-	-
69	Serince Köyü	İnek	-	-	-
70	Döllük Köyü	İnek	-	Pozitif	-
71	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
72	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
73	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
74	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
75	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
76	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
77	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
78	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
79	Döllük Köyü	İnek	-	-	-
80	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
81	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
82	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
83	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
84	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
85	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	Pozitif	-

Çizelge 4.2. Devamı

86	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
87	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
88	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	-	-
89	Keşlik Köyü	Keçi	-	-	-
90	Keşlik Köyü	Keçi	-	-	-
91	Keşlik Köyü	Keçi	-	-	-
92	Keşlik Köyü	Keçi	-	-	-
93	Keşlik Köyü	Keçi	-	-	-
94	Keşlik Köyü	Keçi	-	-	-
95	Keşlik Köyü	İnek	-	-	-
96	Keşlik Köyü	İnek	-	Pozitif	-
97	Keşlik Köyü	İnek	-	Pozitif	-
98	Keşlik Köyü	Koyun	-	-	-
99	Keşlik Köyü	Koyun	-	-	-
100	Keşlik Köyü	Koyun	-	-	-
101	Keşlik Köyü	İnek	-	-	-
102	Keşlik Köyü	İnek	-	-	-
103	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
104	Tahtoba Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
105	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
106	Tahtoba Köyü	İnek	+	-	-
107	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
108	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
109	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
110	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
111	Tahtoba Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
112	Tahtoba Köyü	Keçi	-	-	-
113	Tahtoba Köyü	Keçi	-	-	-
114	Tahtoba Köyü	Keçi	-	-	-

Çizelge 4.2. Devamı

115	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
116	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
117	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
118	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
119	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
120	Budaklı (niksar)	Keçi	-	-	-
121	Budaklı (niksar)	Keçi	-	-	-
122	Budaklı (niksar)	Keçi	-	-	-
123	Soğukpınar (Reşadiye)	İnek	-	-	-
124	Soğukpınar (Reşadiye)	Keçi	-	-	-
125	Soğukpınar (Reşadiye)	Keçi	-	-	-
126	Soğukpınar (Reşadiye)	Keçi	-	-	-
127	Soğukpınar (Reşadiye)	Keçi	-	-	-
128	Soğukpınar (Reşadiye)	Keçi	-	-	-
129	Soğukpınar (Reşadiye)	Keçi	-	-	-
130	Şehitler Köyü	İnek	-	-	-
131	Şehitler Köyü	İnek	-	-	-
132	Şehitler Köyü	İnek	-	Pozitif	-
133	Şehitler Köyü	İnek	-	-	-
134	Şehitler Köyü	İnek	-	-	-
135	Şehitler Köyü	İnek	-	Pozitif	-
136	Şehitler Köyü	İnek	-	-	-
137	Şehitler Köyü	İnek	-	-	-
138	Şehitler Köyü	Koyun	-	-	-
139	Şehitler Köyü	Koyun	-	-	-
140	Şehitler Köyü	Koyun	-	-	-
141	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-
142	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-
143	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-

Çizelge 4.2. Devamı

144	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-
145	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-
146	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-
147	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-
148	Şenyurt Kasabası	Keçi	-	-	-
149	Şenyurt Kasabası	İnek	-	-	-
150	Şenyurt Kasabası	İnek	-	Pozitif	-
151	Şenyurt Kasabası	İnek	-	Pozitif	-
152	Şenyurt Kasabası	İnek	-	-	-
153	Yıldıztepe(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
154	Yıldıztepe(Zile)	Koyun	-	-	-
155	Yıldıztepe(Zile)	İnek	-	Pozitif	-
156	Evren Köyü(Zile)	Keçi	-	-	-
157	Evren Köyü(Zile)	Keçi	-	Pozitif	-
158	Evren Köyü(Zile)	Keçi	-	Pozitif	-
159	Evren Köyü(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
160	Evren Köyü(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
161	Evren Köyü(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
162	Evren Köyü(Zile)	İnek	-	-	-
163	Evren Köyü(Zile)	İnek	-	Pozitif	-
164	Evren Köyü(Zile)	İnek	-	-	-
165	Bozatalan Köyü	İnek	-	Pozitif	-
166	Bozatalan Köyü	İnek	-	-	-
167	Bozatalan Köyü	İnek	-	-	-
168	Bozatalan Köyü	İnek	-	-	-
169	Bozatalan Köyü	İnek	-	Pozitif	-
170	Bozatalan Köyü	İnek	+	-	-
171	Bozatalan Köyü	İnek	-	Pozitif	-
172	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-

Çizelge 4.2. Devamı

173	Bozatalan Köyü	Koyun	-	-	-
174	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
175	Eski Köyü	İnek	-	-	-
176	Eski Köyü	İnek	-	-	-
177	Eski Köyü	İnek	-	-	-
178	Eski Köyü	İnek	-	-	-
179	Eski Köyü	İnek	-	-	-
180	Eski Köyü	İnek	-	-	-
181	Eski Köyü	İnek	-	-	-
182	Eski Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
183	Eski Köyü	Koyun	-	-	-
184	Eski Köyü	Keçi	-	-	-
185	Eski Köyü	Keçi	-	Pozitif	-
186	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
187	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
188	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
189	Bozatalan Köyü	Koyun	-	-	-
190	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
191	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
192	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
193	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
194	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
195	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
196	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
197	Kömeç Köyü	İnek	-	Pozitif	-
198	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
199	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
200	Kömeç Köyü	İnek	-	Pozitif	-
201	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-

Çizelge 4.2. Devamı

202	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
203	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
204	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
205	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
206	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
207	Kömeç Köyü	Koyun	-	-	-
208	Kömeç Köyü	İnek	-	Pozitif	-
209	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
210	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
211	Kömeç Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
212	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
213	Kömeç Köyü	İnek	-	-	-
214	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
215	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
216	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
217	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
218	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
219	Tahtoba Köyü	İnek	-	Pozitif	-
220	Tahtoba Köyü	Keçi	-	Pozitif	-
221	Tahtoba Köyü	Keçi	-	Pozitif	-
222	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
223	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
224	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
225	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
226	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
227	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
228	Tahtoba Köyü	İnek	+	-	-
229	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
230	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-

Çizelge 4.2. Devamı

231	Tahtoba Köyü	İnek	+	Pozitif	-
232	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
233	Tahtoba Köyü	İnek	+	-	-
234	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
235	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
236	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
237	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
238	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
239	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
240	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
241	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
242	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
243	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
244	Tahtoba Köyü	İnek	-	Pozitif	-
245	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
246	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
247	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
248	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
249	Tahtoba Köyü	İnek	-	-	-
250	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
251	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-
252	Tahtoba Köyü	Koyun	-	-	-

Şüpheli kolonilerden ve standart Brucella suşlarından hazırlanan Gram boyama preparatlarının incelenmesi sonucu, şüpheli kolonilerin mikroskopik morfolojilerinin standart suşlardan hazırlanan Gram boyalı preparatlarda olduğu gibi gram negatif küçük kokobasiller şeklinde olduğu gözlenmiştir.

Şüpheli kolonilere Brucella bakterilerine ait olup olmadığını anlamak için polivalan antiserumlarla aglütinasyon, oksidaz, katalaz, üreaz, H₂S deneyleri yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda şüpheli izolatların ikisinin de polivalan antiserumla pozitif sonuç

verdiği gözlemlenmiştir. Oksidaz, üreaz ve katalaz deneyleri de pozitif olarak değerlendirilmiştir. H₂S testi sonucunda 48 nolu örneğin kurşun asetat kağıdında çok az siyahlanma oluşturduğu, 46 nolu örneğin ise herhangi bir değişiklik oluşturmadığı görülmüştür.

Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşılı Üretim Laboratuvarı'nda da yapılan tetkikler sonucunda, üreme elde edilen her iki süt örneğinde de *Brucella melitensis* biyotip 3 suşunun var olduğu kesin olarak tespit edilmiştir. Böylece çalışılan tüm süt örneklerinin % 0.79'unda, koyun süt örneklerinin %3.45'inde *Brucella* varlığı tespit edilmiştir.

Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşılı Laboratuvarı'nda elde edilen veriler Çizelge 4.3' de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşılı Laboratuvarı'ndan elde edilen veriler

İzolat no	46	48
Oksidaz	+	+
Katalaz	+	+
H ₂ S Aktivitesi	-	-
Üreaz	+	+
CO ₂ ihtiyacı	-	-
Thionin (20mg/ml)	+	+
Bazik fuksin (20 mg/ml)	+	+
A antiserum ile aglütinasyon	+	+
M antiserumu ile aglütinasyon	+	+
Tb fajı ile lizis	-	-
Penisilin (5 IU)	+	+
Streptomisin (2,5 mg/ml)	-	-
Safranin (100 mg/ml)	+	+
i-eritritol (1 mg/ml)	+	+
Sonuç	<i>B.melitensis</i> biotip 3	<i>B.melitensis</i> biotip 3

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tokat ilinde yapılan bu çalışmada 161 inek sütünden 24'ü, 58 koyun sütünden 20'si ve 33 keçi sütünden 5'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. Böylece, inek sütü örneklerinin %14.91'i, koyun sütü örneklerinin %34.48'i ve keçi sütü örneklerinin de %15.15'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. Toplamda 252 adet çiğ süt örneğinden 49 adedinin, yani %19.41'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur.

Benzer bir çalışmada Güllüce ve Leloğlu (1996), Kars bölgesinden topladıkları 712 inek sütü örneğinin 401'inde Milk Ring Test ile %56.32 oranında *Brucella* abortus antikorunu pozitif bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada ise Uraz ve Yücel (1998), 211 çiğ süt örneğinde yaptıkları çalışmada Milk Ring Test sonucu örneklerin 32'sinde %15.16 oranında *Brucella* antikorunu pozitif olarak bulmuşlardır. Alpar ve Tunus (1967), Ankara ve civarından temin ettikleri 31 inek sütü ve 9 karışık süt örneği olmak üzere toplam 40 örnekte MRT ile % 8.7 oranında *Brucella* antikoru tespit etmişlerdir. Abbasoğlu (1988), ise Ankara'nın farklı semtlerinden temin ettiği 32 adet çiğ süt ve 100 adet pastörize şişe ve paket süt örneğinde yaptığı çalışmada pastörize şişe ve paket sütlerde *Brucella* antikoru bulamazken 32 adet çiğ süt örneğinden 1'inde MRT ile *Brucella* antikoru izole etmiştir. Yine başka bir çalışmada Kenar ve Altındış (2001), Afyon bölgesinden topladıkları 120 süt örneğinde yaptıkları Aglütinasyon testi ve Ring testi sonucunda 6 örnekte %5 oranında *Brucella* antikoru bulmuşlardır. Bizim elde ettiğimiz oran Güllüce ve Leloğlu (1996) tarafından yapılan çalışmadan daha düşük, diğer çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi, bölgelere göre hayvanlarda *Brucella* görülme sıklığını ve aşılama oranlarının farklılığı olabilir.

Yukarıda verdiğimiz değerlerden de anlaşıldığı gibi, çalışmamız sonucunda özellikle koyun sütlerinde pozitiflik oransal olarak (%34.48) daha yüksek çıkmıştır. Türütoğlu ve ark.,(2003) Burdur ve çevresinde yaptıkları çalışmada 404 inek sütü örneğinin 12'sinde (%3) ve 226 koyun sütü örneğinin 40'ında (%17.7) MRT sonucunu pozitif bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen pozitif değerlerin oranı bizim çalışmaya nazaran daha düşük çıksa da, koyun sütlerinde pozitifliğin daha yüksek olması bakımından bizim sonuçlarla uyum gösterdiği görülmektedir. Koyunlarda pozitifliğin fazla

çıkmasının nedeni, sığır brusellozunun büyük ölçüde eradike edilmiş olmasına karşın, koyun ve keçi brusellozunun başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir şekilde devam etmesi olabilir.

Araştırmamızın devamında, MRT'si pozitif olan 49 örnekten yapılan kültür sonrası 2 adet süt örneğinden *Brucella* izole edilebilmiştir. *Brucella* izole edilen 2 süt örneği de aynı sürüden 2 farklı koyuna aittir. Böylece, tüm çalışılan örneklerin % 0.79'undan, MRT pozitif çıkan örneklerin % 4.08'inden ve koyun sütü örneklerinin % 3.45'inden *Brucella* etkeni izole edilmiştir. Doğrulama ve tiplendirme amacıyla Pendik Veterinerliğe göndermiş olduğumuz MRT pozitif süt örnekleriyle yapılan çalışmanın sonucu da bizimkiyle aynı çıkmıştır. Pendik Veterinerliğinin yaptığı araştırmalar sonucunda da MRT pozitif süt örneklerinin ikisinde *Brucella* izole edebilmiştir. Bu iki örnek bizim de izole ettiğimiz iki koyun sütüyle aynıdır.

49 örnekten geriye kalan 47 örneğin MRT'si pozitif olduğu halde izolasyonun gerçekleştirilememesinin nedeni olarak şunlar akla gelmektedir.

1-Örnek toplama işlemleri esnasında hayvan sahiplerinin hastalık ve bu hastalığa ait aşılama hakkında yeterli bilgiye sahip olmamaları sebebiyle yeterli anamnezin yapılamamış olması, hayvanların *Brucella* aşısıyla aşılanmış olabilme ihtimali düşünülebilir. Çünkü hayvan sahipleri hayvanlarının aşılandığını ancak ne amaçla ve ne aşısıyla aşılandıklarını bilmemektedirler.

2-Aynı hayvanlardan belirli aralıklarla süt örneği alınmamış olması izolasyon yapılamamasının diğer bir ihtimali olabilir. Çünkü etkenin sütte her zaman bulunmadığı, aralıklı olarak sütle çıktığı birçok kaynakta görülmektedir (Thoen ve Enright, 1986; Arda ve ark., 1997).

Benzer şekilde Türütoğlu ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada MRT'si pozitif çıkan 52 süt örneğinin hiçbirisinden *Brucella* etmenini izole edememişlerdir. Mersin'de yapılan bir çalışmada 240 inek, 122 koyun, 95 keçi sütü örneği direk ekim yöntemiyle araştırılmış ve bir inek sütü örneğinden *B. melitensis* etmeni izole etmişlerdir (Aydın, 2007). *B. melitensis*'in primer olarak koyun ve keçileri enfekte ettiği bilinmesine karşın bu çalışmada inek sütünden izole edilen suş *B. melitensis* olarak tiplendirilmiştir. Kimi

çalışmalarda enfekte keçi veya koyunlarla temas halinde olan ineklerin de *B. melitensis* ile enfekte olabileceği bildirilmiştir (Koneman ve ark., 2006). Nitekim, bu çalışmada pozitiflik saptanan ineğin sahibinin aynı zamanda keçi de beslediği bildirilmiştir (Aydın, 2007).

Bizim çalışmamızda izole edilen her iki etmenin *B. melitensis* tip III olduğu Pendik Veterinerlik tarafından yapılan tiplendirme sonucunda anlaşılmıştır. Bu sonuç yukarıda belirttiğimiz bilgiyle, yani dünyada koyun brusellozunun ve buna bağlı olarak *B. melitensis* türünün eradike edilememesi bilgisiyle uyulmaktadır.

İzole edilen her iki örneğinde aynı sürüden 2 farklı koyuna ait olması akla hemen hayvandan hayvana bulaşı getirmektedir. Bu durumda aynı ağılda yaşayan ve aynı merada otlayan diğer küçük baş, büyük baş ve hatta çoban köpekleri gibi diğer pek çok hayvan ve bu hayvanların sahipleri çok ciddi risk altındadırlar. Bundan dolayı hayvan sahiplerinin konunun ciddiyeti hakkında bilinçlendirilmeleri ve ne yapmaları konusunda da bilgilendirilmeleri esastır. Bruselloz hastalığının eradike edilebilmesi için yapılması gereken en önemli çalışmalardan birisi bulaşmanın önüne geçebilmektir. Bu da halkın bilinçlendirilmesiyle doğru orantılıdır. Zira aksi takdirde hastalığın yayılması ve artması kaçınılmazdır.

Yaptığımız çalışmanın örnek toplama aşamasında hayvan sahiplerinin Bruselloz hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıkları görülmüştür. Ayrıca peynir yapımı esnasında sütlerin kaynatılmadan mayalandığı bilgisi de bu çalışmanın örnek toplama sürecinde hayvan sahiplerinden edinilmiştir. Bu durumda enfekte sütlerden kaynatılmadan hazırlanan peynir ve diğer bazı ürünlerde de bu bakterinin varlığı söz konusudur. Bu konuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bunlardan bazıları Ataş (2006), Güllüce ve ark. (2003), Buğdaycı (2003), Sancak ve ark. (1993)'nin yapmış oldukları çalışmalardır.

105 dondurma örneğinden 1'inde (% 0.95) kültür yöntemiyle *B. melitensis* biovar 3 izole etmişlerdir. Ancak Farrell Agar'da üreyen kolonilere uygulanan PZR işlemiyle *Brucella* DNA'sı saptayamamışlardır.

Bu çalışmada, Tokat ili ve ilçelerine ait köylerden, çeşitli hayvan besiciliği ile uğraşan köylülerin inek, koyun ve keçi sütlerinde *Brucella* etmeni MRT ve direkt ekim yöntemi

ile araştırılmıştır. Süt örneklerinin hayvanlardan birinci elden toplandığı ve sütle yapılan çalışma literatürde çok fazla bulunmamaktadır. Diğer taraftan çalışmamız, hayvancılığın oldukça yaygın olduğu Tokat ilinde bu konuda yapılan ilk çalışma özelliği taşımakta ve bu bakımından da önem kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdelkareem, A.A. 2008. Trakya Yöresinde Yetiştirilen Sığırların Sütlerinden *Brucella* Türlerinin Varlığını Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, İstanbul.
- Abbasoğlu, U. 1988. İnsan Serumlarında ve Bazı Süt Örneklerinde *Brucella* Antikorlarının Araştırılmasıyla İlgili Bir Çalışma. Mikrobiyol Bült. 22; 25-29.
- Akova, M., Uzun, O., Akalın, H. E., ve ark. 1993. Quinolones in Treatment of Human Brucellosis, Comparative Trial Ofloxacin- Rifampin Versus Doxycycline-Rifampin, Antimich Agents Chemother, 37: 1831.
- Alpar, S., Tunus, M. 1967. Ankara ve Civarındaki Pastörize ve Pastörize Olmayan Sütlerde Çeşitli Hastalık Etkenlerinin Orijin ve Nisbetlerinin Tayini Üzerinde Araştırmalar. Etlik Vet Enst Derg. 3 (3-4); 25-29.
- Arslan, F. 2006. *Brucella* Suşlarında Antibiyotik Duyarlılıklarının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar.
- Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., Üzgür, M., Leloğlu, N., Kahraman, M., Ilgaz, A., Diker, K.S. 1997. Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar, Medisan Yayın Serisi No. 26, Ankara. 110-124.
- Ataş, M. 2006. Sivas İl Merkezinde Satışa Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin *Brucella* Bakterileri Yönünden İncelenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Aydın, F.E. 2007. Süt ve Süt Ürünlerinde *Brucella* Cinsi Bakterilerin Araştırılması. Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Bilgehan, H. 2000. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 10. Baskı, İzmir, 199- 212.
- Buğdaycı, K. 2003. Kayseri İlinde Çiğ Sütlerden Yapılan Taze Beyaz Peynirlerde *Brucella spp.* Aranması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. İstanbul. Doktora Tezi.
- Corbel, M.J. 1997. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis, 3: 213-221.
- Disarno, A., Izzi, R., Sandulli, S., Santagata, N. 1992. *Brucella melitensis* Isolation From Fresh Sheep Cheese-Etiology and Epidemiology Industrie Alimentare, J. Clin. Microbiol, 31-3.
- Enright, F.M., Walker, İ.V., Jeffer, G. and Deyoe, B.L. 1984. Cellular and Humoral Responses of *Brucella abortus* Infected Bovine Fetuses. Am J Vet Res, 45: 424-430.
- Geyik, M.F., 2003. Brusellozun Klinik Formları. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AB Dalı, Diyarbakır.
- Güllüce, M., Leloğlu, N. 1996. Kars ve Çevresinde Süt Sığırlarında, *Brucella abortus*'a Karşı Oluşan Antikorların ELISA ve MRT ile saptanması, sonuçlarının karşılaştırılması. Turk J Vet Anim Sci. 20; 251-255.
- Güllüce, M., Adıgüzel, A., Algur, Ö.F. 2003. Erzurum Bölgesinde Temin Edilen Çeşitli Peynir Örneklerinde *Brucella* Antijenlerinin ELISA ile Saptanması. Türk Mikrobiyal Cem Derg., 33:356-360
- İyisan, A.S., Akmaz, Ö., Gökçen Düzgün ,S., Ersoy, Y., Eskizmirli, S., Güler Gündüz, K., Işık, N., İçyerioğlu, A.K., Kalender, H., Karaman, Z., Küçükayan,

- U., Özcan, C., Seyitoğlu, Ş., Tuna, İ., Tunca, T., Üstünakın, K., Yurtalan, S. 2000. Türkiye’de Sığır ve koyunlarda Brucellosis’in Seroepidemiolojisi. *Pendik Vet. Mikrobiyoloji Dergisi*. 31(1) : 21-75.
- Kenar, B., Altındış, M. 2001. Afyon Bölgesi Süt Örneklerinde *Brucella* Antikoru Araştırılması. *Türk Hij Biyol Derg.* 3.
- Keskin, D., Atay, O., Kırcan, Ş., Gökdal, Ö., Tekbıyık, S., Kaya, O., Eren, V. 2009. Detection of *Brucella melitensis* in Milk of Hair Goat (*Capra hircus*) by Polymerase Chain Reaction (PCR). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15(2): 255-259.
- Koneman, E., Winn, W., Alen, S., Janda, W., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G. 2006. *Koneman’s Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 8th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 482-490.
- Özgür, E. 2006. Düzce Bölgesinde Hayvan ve Hayvansal Ürünlerle Uğraşan ve Uğraşmayan İki Farklı Grupta *Brucella* Seropozitifliğinin Araştırılması. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Düzce.
- Özguven, V. 2004. Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları. Atlas Kitapçılık, 168-176.
- Özkuyumcu, C. 2007. www.mikrobiyoloji.info/Ders/brucella2007.pdf.
- Parın, U. 2008. Sığırlarda *Brucella* ve *Leptospira* Türlerinin Multiplex Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Tanımlanması. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Peker, E., Doğan, M., Albayram, S., Bektaş, M.S., Öner, A.F. 2010. Brusellozda Akciğer Tutulumu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Selçuk Tıp Dergisi, 26(2): 57-59.
- Radostitis, O.M., Blood, D.C. and Gay, C.C. 1994. *Veterinary Medicine* 8th Edition, Bailliere Tindall Ltd. London, 787–813.
- Sancak, Y.C., Boynukara, B., Yardımcı, H. 1993. Van Otlu Peynirlerinde *Brucella*’ların Varlığı ve Dayanma Süresi Üzerinde Bir Araştırma. *Veterinarium*. 4(1):1-3.
- Serttaş, B. 2006. Isparta İli ve İlçelerinde Çiğ Sütlerde *Brucella abortus*’a Karşı Oluşturulan Antikorların ELİSA ve Ring Testi ile Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta.
- Taşkın, N. 2007. Ankara İlinde Tüketime Sunulan Sokak Sütlerinde ve Beyaz Peynirlerde *Brucella* Varlığının ELISA Yöntemiyle Araştırılması ve *Brucella* Bakterisinin Kefirde Yaşam Süresinin Tayini. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Thoen, C.O., Enright, F. 1986. *Brucella*. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Iowa State University Press, Ames, 160-171.
- Terzi, G. 2006. Samsun Bölgesinde Toplanan Sütlerde Milk Ring Test ve Aglütinasyon Testi ile *Brucella* Antikorumunun Araştırılması. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 5(3): 196-203.
- Türütoğlu, H., Mutluer, B., Uysal, Y. 2003. Burdur Yöresinden Toplanan Sütlerin *Brucella* İnfeksiyonu Yönünden Araştırılması. *Turk J Vet Anim Sci*. 27,1003-1009
- Uraz, G., Yücel, N. 1998. Çiğ Süt Örneklerinde Ring Test ile *Brucella* Varlığının Araştırılması. *Gazi Üniv Fen Bilimleri Enst Derg*. 11 (2); 393-401.
- Ustaçelebi, Ş. 1999. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi, 571-577.
- WHO/CDS/EPR266.7. 2006. *Brucellosis in Human and Animal World Health Organization, World Organisation for Animal Health and FAO*. Geneva.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hüsniye RÜSTEMOĞLU
Doğum Tarihi ve Yer : 01.05.1979
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0543 675 29 25
e-mail : hakkanat2009@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	GOP Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji A.D.	2009-
Lisans	Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji bölümü	2002-2005
Yüksekokul	Gazi Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar	2000-2002
Lise	Kimya Anadolu Teknik Lisesi	1993-1998

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
1998-2008	A.Ü.Tıp Fak.Hast. Kan Merk. Lab.	Laborant
2008-2010	GOP Ü.Tıp Fak. Hast. Mikrobiyoloji Lab.	Biyolog
2010-	GOP Ü. Tıp Fak. Hast. Kan Merk. Lab.	Biyolog