

**KOÇLARDA AGLUTINASYON VE AGAR-JEL
DIFFUZYON YÖNTEMİYLE BRUCELLA OVİS
ANTİKORLARININ SAPTANMASI ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

Mubeccel YUMUŞAK

Stableforth (1959)'un bildirdiğine göre bir araştırmacı, koçlarda epididymitis yapan bu etkeni izole etmiş ve Br. ovis olarak isimlendirmiştir.

Meinershagen ve arkadaşları (1974), Amerika'da koyun abortlarından Br. ovis'i izole etmişler; Hughes ve Claxton (1968), da yaptıkları saha incelemelerinde enfeksiyonu tesbit etmişlerdir.

Muncz ve arkadaşları (1979), etkenin organlarda semende ve kanda bulunduğunu açıklamışlardır.

Br. ovis, mikroorganizmleri, preparatlarda küçük kokobasiller halinde olup tek tek veya çift olarak bulunurlar. Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, mikro aerofilik ve R-tipi antijen içerirler (5,9,11,14,26,29,30,31,35,36).

Biberstein ve McGowan (1958), formalinli mikroorganizm süspansiyonu parçalıyarak santrifuj ettikten sonra üst sıvıyı antijen olarak kullanmışlardır.

Ris (1968), Br. ovis organizmlerinin dayanıklılığını artırmak için yapmış oldukları çeşitli çalışmalarda +4°C ve +5 de saklananın daha uzun süre dayandığını görmüş ve liyofilize edilen antijenin ise spontan aglutinasyon nedeniyle başarılı olmadığını saptamıştır.

Koçlar deneysel olarak, subkutan, intravenöz, intratestiküller, oral, konjunktival ve prepusiyal yol ile injekte edilebilir (32).

Buddle ve Boyes (1953), doğal infekte koç ve koyunlardan izole ettikleri organizmleri 7 günlük civciv embryosunun yumurta sarısında katı vasata ekim yaparak R-tipi mikroorganizmleri elde etmişlerdir.

Corbel ve arkadaşları (1979), Br. ovis'in insanlarda bir infeksiyon meydana getirip getirmediğinin henüz bir açıklığa kavuşmadığını bildirmişlerdir.

Laws ve arkadaşları (1972), Br. ovis'in kontrolunda, koçların aşılınması ve CF testi olmak üzere 2 yöntemi bildirmişlerdir.

Matthews ve Trueblood (1966), tüp presipitasyon ve agar-jel diffuzyon, Meinershagen ve arkadaşları (1974) ise çift diffuzyon tekniğini uygulamışlardır.

Myers ve arkadaşları (1972), Br. ovis, Br. canis, abortus ve Br. melitensisin sonike edilmiş ve tuzlu suda ekstrakte edilmiş antijenleri CF, jel diffuzyon ve serum absorpsiyon testleriyle kıyaslamışlar ve bu antijenlerin bu türlerin infekte ve bağışıklık serumlarıyla kros reaksiyon gösterdiğini saptamışlardır.

Myers (1973), Arjantin'de koçlar üzerinde yaptığı klinikal, serolojik ve kültürel incelemelerinde CF ve jel-diffuzyon testlerini kültürel ve klinikal muayenelerle karşılaştırmıştır. Sonuçta CF testinin jel diffuzyon testine kıyasla daha çok duyarlı olduğunu saptamıştır. Fakat jel-diffuzyon tekniğini saha çalışmalarında ve olanakları kısıtlı laboratuvarlarda uygulamasını önermiştir.

Matthews ve Trueblood (1966), otoklav ederek hazırlamış oldukları jel diffuzyon antijenini tavşanlardan elde ettikleri anti serumlarla test'e tabi tutmuşlardır. Fakat presipitasyon çizgileri elde edememişlerdir. Ultra sonik parçalamayla elde ettikleri antijen ile 12 saatte presipitin çizgileri elde etmişlerdir.

Ris (1963), Yeni Zelanda'da Br. ovis'le savaşta CF testi ve semen'in kültürel muayenesinin güncel olarak kullanılan yöntem olduğunu söylemişlerdir.

Marslarski (1973), aglutinasyon, CF ve indirekt HA testlerini, deneysel bir enfeksiyondan sonra koçlardan almış olduğu seminal plazma örnekleri üzerinde denemiştir. Antikorlar 3 test ile araştırılmıştır. Bu araştırıcı pozitif testlerin en büyük oranını enfeksiyonun akut aşamasında elde ettiğini, aglutinasyon ve indirekt HA testlerinde antikorların 1/40-1/160 sınırlarında bulunduğunu bildirmiştir.

Biberstein ve arkadaşları (1962), nın bildirdiklerine göre bir araştırıcı 1954, 1958 yıllarında yaptığı çalışmalarında Br. abortus S. 19'un tuzlu suda hazırlanmış bir bakterinin aynı zamanda enjeksiyonu ile koçlarda etkili olduğunu göstermiştir.

Vanheerden (1963), Br. ovis enfeksiyonuna karşı Rev-I ve S.19 aşısının laboratuvar ve saha denemeleri çalışmalarında uygulamışlar, S.19 aşısının koçlarda Brusellosis'e karşı yeterli derecede etkili olmadığını, Elberg Rev-I aşısının genç koçları en az iki yıl süreyle koruduğunu ve ergin koçlarda iyi sonuç alınmadığını söylemiştir.

Lawrence (1961)'nin bildirdiğine göre; bir araştırıcı 1954 yılında Br. ovis ile infekte hayvanların 5 ay süreyle epididymis'lerin tedavisinin mümkün olacağını bildirmiştir. Chlortetrasiklin + Dihidros, reptomycine'nin 21 gün süreyle her gün kullanılmak suretiyle yapılan tedavide organizmlerin semenden bir kaç gün içinde elimine edildiğini bildirmiştir. İlaçlarla kısa zamanda etkili bir tedavi bulunamamıştır.

Koçlarda Brusellosis yeryüzünde çok yaygın olan ve ülkemizde de etkisini gösteren infeksiyöz bir hastalıktır.

Et gereksinmemizin büyük bir kısmını karşılayan ve memleketimizde çok çeşitli alanlarda yararlanılan hayvanlardan birinde koyunların olması bu hastalığın değerini bir kat daha artırmaktadır.

Br. ovis, genital organlara yerleşerek yavru atma, geç gebe kalma, sterilite ve kuzuların ölü doğmasına neden olur. Koçlarda ise; infertilite ve epididymis'le karakterize önemli bir hastalık etkenidir. İşte ekonomik kayıplara neden olan bu hastalıkla savaşta erken teşhis ve gerekli önlemlerin alınması en başta gelen ilkelerdir.

Bu çalışmada, «koçlarda, serum aglutinasyon ve agar-jel diffuzyon yöntemiyle koçların kan serumlarında antikor aranması üzerine araştırmalar amaç edinilmiştir.

MATERYEL ve METOT

1 — Standart suşlar : Bu çalışmada serum aglutinasyon ve jel diffüzyon testi için antijen hazırlamak amacıyla Weybirdge Central Veterinary Lâboratory'ından sağlanan Br.ovis 63/290 suşu kullanılmıştır.

2 — Serumlar : Çalışmada kullanılan serumların 185 tanesi, Ankara Et ve Balık Kurumunda kesimi yapılan koçlardan, 5 adedi lâboratuvarımıza muayene için gelen koç serumlarından ve 15 tanesinde Enstitümüzde deneme hayvanı olarak kullanılan koçlardan sağlanmıştır.

Pozitif kontrol serumlar : Br.ovis 63/290 suşuna karşı hazırlanmış iki adet pozitif kontrol serum Weybridge Central Veterinary Lâboratory'ından getirtilmiştir.

3 — Besi yerleri : Suşların bakteriyolojik kontrollerinin yapılmasında ve antijen yapımı için Mikroorganizmaların üretilmesinde Nutrient agar, Bordet Gengou Agar, Serum Dekstroz Agar, Difco Brucella Agar, Trypticase Soy Buyyon ve Brucella buyyondan yararlanılmıştır.

4 — Solusyonlar : Antijen hazırlanması için gerekli olan Menzel's Buffer Solusyonu ve Tampon Borat solusyonları aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

Stok solusyonların yapılışı :

1 — Menzel's Buffer Solusyonu

A) % 0,5 NaCL+0,05 mol/litre NaCO₃ karışımına, eritilmiş % 0,5 phenol ilâve edildi.

B) % 0,5 NaCL+0,1 mol/litre NaHCO₃ karışımına, eritilmiş % 0,5 phenol ilâve edildi.

Hazırlanan bu (A) ve (B) solusyonları +4°C de koyu renkli şişelerde sıkıca kapatılarak saklandı. Kullanılacağı zaman 1,5 kısım (A) solusyonundan ve 8,5 kısım (B) solusyonundan karıştırılarak koyu renkli şişelerde saklandı. Kullanılmadan önce pH'sı 8.9 olup olmadığı kontrol edildi.

2 — Tampon Borat Solusyonu

Borik asit ($H_3 BO_3$)	1.86 gr.
Potasyum klörür (KLC)	7.25 gr.
Distile su	9.50 ml.

Bu maddeler eritilip 0,2 mol/litre NaOH ile pH 8,3'e ayarlandı. Ve 1 litre distile suyla tamamlanarak kullanıldı.

YÖNTEM :

1 — Serum aglutinasyon testinin uygulanması :

Antijen hazırlanması :

Corbel ve arkadaşları (1979)'nın hazırlanışını bildirdikleri anti-jen yöntemi kullanılmıştır.

a) Antijen hazırlamada Br.ovis 63/290 suşu kullanıldı. Liyofilize kültüre, steril distile sudan bir kaç damla katılarak sulandırıldı. Bordet Gengou Agar besi yeri bulunan petri kutularına kültür ekildi. 37°C de % 10 CO₂'li ortamda 7 gün inkube edildi.

b) İyi gelişen bir kaç tipik koloni alınarak Bordet Agar yatıklarında sup kültürü yapıldı.

c) Trypticase soy buyyonda mikroorganizimler suspanse edildi.

d) İçinde serum dekstroz agar bulunan Roux şişelerine yaklaşık 3 ml. hazırlanan mikrop suspansiyonlarından ekildi. 3-4 gün 37°C de % 10 CO₂'li ortamda inkube edildi.

e) Örneklerden gram boyaması yapıldı. Ve temizlik için her şişe kontrol edildi.

f) 10-15 ml. steril distile su ve bir kaç cam boncuk ilâvesiyle organizmlerin hepsi sıvı içinde kalacak şekilde sallanarak toplandı.

g) Suspansiyon steril bir tülbentten süzülerek santrifüj tüplerinde toplandı. Yarım saat 5000 devirde santrifüje edildi. Dipteki bakteri çöküntüsü steril distile suda suspanse edilerek tekrar santrifüj edildi.

h) Santrifüj edilen bu mikroorganizimler Menzel's buffer solusyonunda toplandı.

i) Mikrop suspansiyonu Menzel's bufferde 1/10 - 1/200 arasında dilue edildi. Menzel's buffer'e göre 450 nm'ye ayarlanmış spektrofotometre'de hazırlanmış suspansiyonun optikal dansitesi stok suspansiyonunun OD = 1 cm_{nm} 3.30'a göre ayarlandı. Bulunan bu rakam etikette belirtilerek +4°C da saklandı.

Serum Aglutinasyon testinin yapılışı :

Corbel ve arkadaşları (1979)'nın bildirdikleri yöntemden yararlanıldı 0,8 ml. Menzel's buffer solusyonu bulunan birinci tüpe 0,2 ml. serum ilâve edilip karıştırıldı. Bu karışımdan 0,5 ml. Menzel's buffer solusyonu bulunan tüplere 0.5 ml. aktarmak suretiyle serum dilisyonları 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280, 1/2560, 1/5120 olacak şekilde yapıldı. Antijeninden 0,5 ml. bütün tüplere aktarıldı. İyice karıştırılarak 37°C de 20 saat inkube edildikten sonra okundu.

Değerlendirmeler aşağıdaki şekilde yapıldı.

- 4 + = % 100 aglutinasyon, üst taraf tam berrak,
3 + = % 75 aglutinasyon, üst taraf berrak,
2 + = % 50 » , üst » hafif bulanık,
1 + = % 25 » , üst » bulanık,
— = % 0 » , yok üst taraf tam bulanık

II — Agar Jel diffuzyon testinin uygulanışı :

Antijen hazırlanması :

A — Isı yöntemiye : (Corbel ve arkadaşları (1979)

a) Br. ovis 63/290 suşu kullanıldı. Liyofilize kültüre steril distile sudan bir kaç damla katılarak sulandırıldı. Bordet Gegou Agar besisi yerine ekim yapıldı. 37°C de % 10 CO₂yi gelişmiş koloniler elde edilinceye kadar inkubasyona bırakıldı.

b) İyi gelişen koloniler alınarak Bordet Gengou Agar yatıklarında sub kültürü yapıldı. 37°C de % 10 CO₂de 3-4 gün inkubasyona bırakıldı.

c) Trypticase soy buyyon içinde gelişen koloniler suspanse edildi.

d) Serum dekstroz agar bulunan Roux şişelerine 3 ml. mikrop suspansiyonu ekildi. 37°C de 3-4 gün agar kısmı ters çevrilerek inkubasyona bırakıldı. (% 10 CO₂'li ortamda).

e) Örneklerden gram boyaması yapıldı. Ve temizlik için her şişe kontrol edildi.

f) 10-15 ml. steril distile su ve bir kaç cam boncuk ilâvesiyle organizmlerin hepsi sıvı içinde toplanıncaya kadar sallandı. Steril bir tülbentten süzülerek toplandı.

g) Mikroorganizmler 5000 dev./dak. yarım saat santrifüje edildi. Supernatant ayrı bir yerde steril olarak toplandı. Üst sıvı antijen olarak kullanıldı. Ve + 4° de saklandı.

h) Üst sıvı ayrıldıktan sonra kalan depozit tekrar yıkandı.

i) 50-100 hacimde 0.15 mol/litre NaCL solusyonunda yıkanan mikroorganizmler tekrar suspanse edilerek 80°C de 2 saat benmari edildi.

B — Ultra Sonik Parçalama Yöntemiyle Antijen Hazırlanması :

(Corbel ve arkadaşları) :

Isı yöntemiyle antijen hazırlanmasında (a-g) kısmında anlatılmış olduğu gibi mikroorganizmler geliştirildi. 0,001 mol/litre EDTA ve 0,005 mol/litre cystein hydrochloride katılmış. 5-10 hacimde 0,15 mol/litre NaCL solusyonu hazırlandı. Ve ultre sonike (2x15 dakika erimiş buz derecesinde) edildi.

Agar Jel diffuzyonu ile presipitasyon testi :

(Alton ve arkadaşları (1975)

Testte kullanılan antijenler :

Presipitasyon reaksiyonu için hazırlanışı anlatılan ultra sonik parçalama ile elde edilen antijen kullanılmıştır.

Pozitif serumlar :

Weybridge Central Veterinary Lâboratory'ından getirilen 63/290 suşuna karşı hazırlanmış pozitif serumlar kullanılmıştır.

Jel ortamının hazırlanışı :

Agarose	0,8 gr.
Tampon Borat (0.03 mol/litre, pH 8,3)	5 ml.
% 5 lik tuzlu su	93 ml.

Bu maddeler hemen ısıtılarak eritildi. 1 ml. sodyum acide (% 1 lik) solusyonu ilâve edilip karıştırıldı. Çapı 6 cm olan steril, temiz ve çizgisiz petri kutularına 3-4 mm. kalınlıkta döküldü. Çapları 4 mm. olan 7 delik açıldı. Bu delikler ortada bir, kenarlarda 6 tane olacak şekilde sıralanmışlardır. Delikler bir birinden 5 mm. uzaklıkta ayarlandı. Petri kutularındaki delikler pastör pipetiyle eritilmiş agardan damlatılarak tabanları kapatıldı.

Jel Ortamının Diffuzyon Denemesi İçin Optimal

Antijenin Konsantrasyonu :

Antijenin, 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 şeklinde dilisyonları yapıldı. Merkezdeki deliğe sulandırılmamış pozitif serum, kenardaki deliklere de antijen dilisyonları konuldu. Petri kutuları nemli bir pamuk bulunan kutuya yerleştirilerek 5 gün laboratuvar ısısında tutuldu.

1/4 yoğunluğundaki dilue antijen ile merkezdeki delik dolduruldu. Yanadaki delikler sulandırılmamış örnek serumlarla kapatıldı. Her denemede bilinen pozitif serum kullanıldı. Lâboratuvar ısısında nemli bir ortamda inkube edildi. Presipitasyon çizgileri 2-5 gün arasında okundu. Petriyer aynı zamanda 37°C lik nemli etüvde ve + 4°C deki buzdolabında inkube edildi. 24 saatten sonra ortada bulunan antijenle yanlardaki serum arasında gri bir beyaz çizginin oluşup oluşmadığı araştırıldı. Sonuçlar 5. günün sonunda kaydedildi. Reaksiyon dereceleri (++++) çok kuvvetli, (+++) kuvvetli, (++) orta, (+) zayıf ve (—) olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Br. ovis 63/290 suşunun morfolojik, kültürel ve biyoşimik karakterleri incelenmiş ve Br. ovis mikroorganizminin gösterdiği özellikleri içerdiği saptanmıştır. Etken en iyi üremeyi Lâboratuvarda hazırladığımız % 20 taze koyun kanı katılmış Bordet Gengou Agar besi yeri üzerinde % 10 CO₂'li ortamda göstermiştir. İlk üremede koloniler 5 günden sonra en iyi gelişmeyi göstermiştir. Etkenin 48 saatlik serum Dektroslu Agar yatık kültürlerinin + 4°C de 20 gün dayandığı tesbit edilmiştir. Pozitif ve şüpheli serumlar — 20°C de saklanmıştır.

Aglutinasyon testinde, pozitif serumların her ikisinden de 1/1280 titre elde edilmiştir. (Tablo 1). Şüpheli serumların 166 tanesi 1/10-1/640 arasında değişen aglutinin titresi göstermiştir. Reaksiyonda 1/160 ve yukarısı pozitif kabul edilmiştir. Aglutinasyonda 43 serum pozitif, 6 şüpheli ve 156 serumda negatif sonuç vermiştir (Tablo 1).

Agar jel diffuzyon testi için Antijen 3 şekilde hazırlanmıştır. 1-Isı yöntemiyle, 2-Ultrasonik parçalamayla, 3-Mikroorganizm suspansiyonunun santrifüj edildikten sonra üst sıvısı antijen olarak kullanıldı. Ultra sonik parçalamaya bırakılan antijenden en iyi sonuç alındı.

6 cm lik küçük petri kutularına dökülen jel sırasıyla 3 mm, 4 mm ve 8 mm kalınlığında dökülmüş ve en iyi netice 8 mm kalınlıkta olan jelden elde edilmiştir. Agar jel diffuzyon testinde 50 serum pozitif, 155 serumda negatif sonuç vermiştir. Aglutinasyonla 6 şüpheli serumun 5 tanesi negatif ve 3 serum agar jel diffuzyonla pozitif bulunmuştur. Ve bir serumda agar jelde negatiftir.

Tablo 1
AGLUTİNASYON TESTİ SONUÇLARI

Serum No	serum dilisyonları								1/250	Kont.
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280		
Pozitif Kontrol										
Serum 1	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-
» 2	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-
Şüpheli Serumlar										
Etik Vet.Kont.										
A.Enst.										
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	++++	++++	++++	++	+	-	-	-	-	-
4	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-
5	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
8	++++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
9	++++	++++	++	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-
13	++++	++++	++	+	-	-	-	-	-	-
14	++++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Et ye Balık										
Kurumu										
1	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-
3	++++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-
4	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-
6	++++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
7	++++	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
8	++++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
9	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
10	++++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-
11	++++	++++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
12	++++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
13	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-
14	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
19	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-
20	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
21	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
22	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
23	++++	++++	+++	++	-	-	-	-	-	-
24	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
25	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	++++	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 1 devam

	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	Kont.
31	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
32	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-
33	++++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	++++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
36	++++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-
37	++++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
38	++++	++	++	-	-	-	-	-	-	-
39	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
40	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
41	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
42	++++	++++	++++	+++	++	+	-	-	-	-
43	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-
45	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
47	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
48	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
51	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	++++	++++	++++	++++	+++	++	-	-	-	-
54	++++	++++	++++	+++	+	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-
59	++++	++++	++	++	-	-	-	-	-	-
60	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
61	++++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-
65	++++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-
68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	++++	++++	+++	+++	++	-	-	-	-	-
72	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
73	++++	++++	++++	+++	+++	+	-	-	-	-
74	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
75	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
76	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-
77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
79	++++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	++++	++++	++	-	-	-	-	-	-	-
82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 1 devam

	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	Kont.
83	++++	+++	+	-	=	-	-	-	-	-
84	++++	++++	+++	+++	+	-	-	-	-	-
85	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-
86	++++	++++	+	-	-	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	++++	++++	++++	++++	+++	++	-	-	-	-
90	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-	-
91	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
92	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
93	++++	++++	-	-	-	-	-	-	-	-
94	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
95	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	++++	++++	++++	++++	+++	++	-	-	-	-
98	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
101	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
102	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
103	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-
104	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
105	++++	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-
106	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-	-
107	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-	-
108	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	-	-	-
109	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
111	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
113	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
114	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
115	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
116	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	++++	++++	+++	+++	+	-	-	-	-	-
119	++++	++++	+++	++	-	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
122	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
124	++++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
125	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-
126	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-
127	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128	++++	++++	-	-	-	-	-	-	-	-
129	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-
130	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
131	++++	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-
132	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
133	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-	-
134	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
135	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-

Tablo 1 devam

	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	Kont.
136	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
137	++++	++++	++++	-	-	-	-	-	-	-
138	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
139	++++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
140	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
141	++++	++++	-	-	-	-	-	-	-	-
142	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
143	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
144	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
145	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
146	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
147	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
149	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
150	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
151	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
152	++++	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-
153	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
154	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
155	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
156	++++	++++	+++	++	-	-	-	-	-	-
157	++++	++++	+++	+	-	-	-	-	-	-
158	++++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
159	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
160	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-
161	++++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
162	++++	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-
163	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
164	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
165	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
166	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
167	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
168	++++	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-
169	++++	++++	+++	-	-	-	-	-	-	-
170	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
171	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
172	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-	-
173	++++	++++	+	-	-	-	-	-	-	-
174	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-	-	-
175	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-
176	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-	-
177	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
178	++++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
179	++++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
180	++++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
181	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
182	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
183	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
184	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	-	-	-
185	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-

Adana Mercimek

Harası	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	Kont.
1	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
2	++++	++++	++++	+++	+++	-	-	-	-	-
3	++++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	++++	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 2
AGAR JEL DİFFUZYON TESTİ SONUÇLARI

Serum No	24 saatte	48 saatte	72 saatte	96 saatte	Kontrol
Pozitif Kontrol	-	-	-	+	-
Serum 1	-	-	-	+	-
" " 2	-	++	++++	++++	-
Şüpheli serumlar					
Etlik Vet.Kont.					
A.Enst.					
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	+	++	++	-
4	-	+	+++	+++	-
5	-	+	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-
12	-	+	++	++	-
13	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-
Et ve Balık Kurumu					
1	-	+	+++	+++	-
2	-	++	++++	++++	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	++	++++	++++	-
6	-	-	-	-	-
7	-	+++	+++	+++	-
8	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-
16	-	++	+++	+++	-
17	-	-	-	-	-
18	-	+++	++++	++++	-
19	-	++	++++	++++	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	-	+++	++++	++++	-
23	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-

Tablo 2 devam

Serum No	24 saatte	48 saatta	72 saatta	96 saatte	Kontrol
28	-	++	++	++	-
29	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-
32	-	+++	+++	+++	-
33	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-
41	-	++	+++	+++	-
42	-	++	++	++	-
43	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-
45	-	++	+++	+++	-
46	-	++	+++	+++	-
47	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-
50	-	++	++++	++++	-
51	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-
53	-	++	++++	++++	-
54	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-
58	-	+++	+++	+++	-
59	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-
61	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-
63	-	-	-	-	-
64	-	+++	++++	++++	-
65	-	-	-	-	-
66	-	-	-	-	-
67	-	++	++	++	-
68	-	-	-	-	-
69	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	-
71	-	++	++	++	-
72	-	-	-	-	-
73	-	++	++	++	-
74	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-
76	-	++	+++	+++	-
77	-	-	-	-	-
78	-	-	-	-	-
79	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-
81	-	-	-	-	-
82	-	-	-	-	-
83	-	-	-	-	-

Tablo 2 devam

Serum No	24 saatta	48 saatte	72 saatte	96 saatte	Kontrol
84	-	+++	+++	+++	-
85	-	++	+++	+++	-
86	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-
88	-	-	-	-	-
89	-	++	++++	++++	-
90	-	-	-	-	-
91	-	-	-	-	-
92	-	-	-	-	-
93	-	-	-	-	-
94	-	-	-	-	-
95	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-
97	-	+++	++++	++++	-
98	-	-	-	-	-
99	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-
101	-	-	-	-	-
102	-	-	-	-	-
103	-	++	++	++	-
104	-	-	-	-	-
105	-	++	++++	++++	-
106	-	-	-	-	-
107	-	-	-	-	-
108	-	++	++++	++++	-
109	-	-	-	-	-
110	-	-	-	-	-
111	-	-	-	-	-
112	-	-	-	-	-
113	-	-	-	-	-
114	-	++	++	++	-
115	-	-	-	-	-
116	-	-	-	-	-
117	-	-	-	-	-
118	-	+	+++	+++	-
119	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-
121	-	-	-	-	-
122	-	+	+++	++++	-
123	-	-	-	-	-
124	-	-	-	-	-
125	-	+	+++	+++	-
126	-	-	++	++	-
127	-	-	-	-	-
128	-	-	-	-	-
129	-	++	++++	++++	-
130	-	-	-	-	-
131	-	-	-	-	-
132	-	-	-	-	-
133	-	-	-	-	-
134	-	-	-	-	-

Tablo 2 devam

Serum No	24 saatta	48 saatta	72 saatta	96 saatte	Kontrol
135	-	++	++	++	-
136	-	-	-	-	-
137	-	-	-	-	-
138	-	-	-	-	-
139	-	-	-	-	-
140	-	-	-	-	-
141	-	-	-	-	-
142	-	-	-	-	-
143	-	-	-	-	-
144	-	-	-	-	-
145	-	-	-	-	-
146	-	-	-	-	-
147	-	++	++	++	-
148	-	-	-	-	-
149	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-
151	-	++	++	++	-
152	-	+++	+++	+++	-
153	-	-	-	-	-
154	-	-	-	-	-
155	-	-	-	-	-
156	-	-	-	-	-
157	-	-	-	-	-
158	-	-	-	-	-
159	-	-	-	-	-
160	-	++	++	++	-
161	-	-	-	-	-
162	-	-	-	-	-
163	-	-	-	-	-
164	-	-	-	-	-
165	-	-	-	-	-
166	-	-	-	-	-
167	-	-	-	-	-
168	-	-	-	-	-
169	-	-	-	-	-
170	-	++	+++	+++	-
171	-	-	-	-	-
172	-	-	-	-	-
173	-	-	-	-	-
174	-	++	++	++	-
175	-	++	+++	+++	-
176	-	+	++++	++++	-
177	-	++	+++	++++	-
178	-	-	-	-	-
179	-	-	-	-	-
180	-	-	-	-	-
181	-	-	-	-	-
182	-	-	-	-	-
183	-	-	-	-	-
184	-	++	++++	++++	-
185	-	-	-	-	-
Adana 1	-	-	-	-	-
" 2	-	+++	+++	+++	-
" 3	-	-	-	-	-
" 4	-	-	-	-	-
" 5	-	-	-	-	-

TARTIŞMA

Br. ovis memleketimizde olduğu gibi yeryüzünde de yaygın olarak bulunduğu literatürlerden anlaşılmaktadır. Simmons ve Hall (1953), Claap ve arkadaşları (1955), Hall (1955), Keogh ve arkadaşları (1958), Snowden (1958), Hughes ve Claxton (1968) Avusturalya'da Buddle ve Boyes (1953) Yeni Zelanda'da Miller ve Moule (1954), Queensland'da Kenedi ve arkadaşları (1956), McGowan ve Shultz (1956), Biberstein ve Mc Gowan ve Shultz (1956), Biberstein ve Mc Gowan (1958), Amerika'da hastalığını bildirmişlerdir.

Bu araştırmada aglutinasyon testi için kullanılan antijen serum Dextros agarlı Roux buatlarında üretilmiş mikroorganizmlerin 72 saatlik kültürlerinin Menzel's buffer solusyonunda toplanmasıyla hazırlandı, standardiasyon için spektrofometre kullanıldı. Olumlu sonuçlar alındı.

Shimuzu ve Shibata (1962), aglutinasyon testi için hazırladıkları antijenin anti-R serumuyla aglutinasyon testinde 1/320 aglutinin titresi elde etmişlerdir. Br. ovis antijeni ise S tipi serumlar ve sağlıklı serumlarla 1/20 titrasyon göstermiştir. Bu araştırmadaki koç serumlarının serolojik yoklamalarında immun serumlarda 1/1280 aglutinin titresi elde edilmiştir. 205 koç serumunun serolojik yoklamasında 166 serum 1/10-1/640 arasında değişen aglutinin titreleri göstermiştir.

Buddle ve Boyes (1953), Hughes ve Claxton (1963), Meinershagen ve arkadaşları (1974), Myers ve Siniuk (1970); ısıtılmış ve sonike edilmiş polisakkavit antijenlerini kullanmışlardır.

Çalışmamızda ısı ile muamele ederek, parçalayarak ve santrifüj edilmesinden sonra üst sıvıyı antijen olarak kullandık. Ultra sonike ederek hazırlanan antijende EDTA ve Cystein Hydrochloride mikroorganizmlerin parçalanmasında kullanılmıştır.

Woernle (1972), agar jel diffuzyon testinde hem şüpheli serum için hemde antijen için iki ayrı agar ortamı hazırlamıştır. 6,25 gr. agar ve % 8 tuzlu su içeren % 10 fenol solusyonu kullanılarak pH'sını 7,5'a ayarlamış ve ultra sonik parçalama ile en iyi sonuç almıştır.

Cox (1977), Difko'nun % 1,75 konsantre saf agarını kullanarak test ortamı hazırlamıştır. Antijen ve serumlar sulandırılmadan merkezi deliğe antijen ve yanlardakilerede serum yerleştirmiş, 24-48 saat sonra presipitasyon çizgilerini saptamıştır.

Muncz ve arkadaşları (1979), jel presipitasyon testi için Difko Bacto-agarı % 2 örtmek için, % 0,9 diffuzyon ortamı için pH'sı 7.0 olan fosfat buffer tuzlu suda kullanmışlardır. Serumlar 0.1 ml. miktarında kullanılarak oda derecesinde inkube edilmiş ve 48 saat sonra okunmuştur.

Çalışmamızda, 205 koç serumu aynı zamanda agar jel ve aglutinasyon testiyle *Br. ovis* antikorları yönünden yoklandı. Aglutinasyon testinde 43 serum pozitif, 6 şüpheli ve 156 serum da negatif reaksiyon verdi. Agar jelde ise 50 tanesi pozitif, 155 tanesi negatif sonuç vermiştir. Aglutinasyonda şüpheli 5 serum ve negatif 3 serum agar jel diffuzyon testi ile pozitif reaksiyon vermiştir. Agar jelde negatif olan 1 serum aglutinasyonda pozitif reaksiyon göstermiştir. İki test arasında 42 serum pozitif olarak paralel çalışmış ve % 84 uyum yüzdesi elde edilmiştir.

Enfeksiyonun şiddetine göre kandaki antikor seviyeleri değişebilir. Aglutinasyonda negatif sonuç veren serumların agar jel diffuzyonlu pozitif reaksiyon vermesinin presipin antikorların kanda daha uzun süre kalmasına bağlanmaktadır. Deneme sonuçlarına göre her iki testinde duyarlı olduğu fakat aglutinasyon testinde oto aglutinasyonun oluşu agar jel diffuzyon testinin ise daha basit uygulanması ve daha pratik olması nedeniyle bu testin daha iyi sonuç verdiği kanısına varılmıştır.

ÖZET

Bu araştırmada kullanılan 205 koç serumundan 185'i Et ve Balık Kurumu'na, Konya Cihanbeyli kazasından kesime gelen hayvanlardan, 15'i Enstitümüzde deneme hayvanı olarak kullanılan koçlardan ve 5'i de Adana Mercimek Harasından Lâboratuvarımıza muayene için gelen koç serumlarından sağlanmıştır. Bu serumlar aynı zamanda serum aglutinasyon ve agar jel diffuzyon test yöntemiyle *Brucella ovis*'e karşı yoklanmış olup serum aglutinasyon testinde 166 serum 1/10-1/640 arasında değişen aglutinin titreleri göstermiştir. Bu testte 43 serum pozitif, 6 şüpheli ve 156 serum negatif reaksiyon verirken, Agar jel diffuzyon testinde 50 serum pozitif, 155 serum da negatif sonuç vermiştir. Aglutinasyon testinde şüpheli 5 serum negatif, 3 serum agar jel diffuzyon testinde pozitif reaksiyon vermiştir. Yine agar jel'de negatif olan bir serum aglutinasyonla pozitif sonuç vermiştir. 42 serum iki testte de paralel çalışmış olup uyum yüzde

% 84 dür. Buna göre agar jel diffuzyon testinin daha kesin sonuç vermesi, bu testin duyarlı, basit ve ekonomik oluşuyla serolojik kanıda önemli bir yeri olduğu kanısına varılmıştır.

SUMMARY

This study was carried out using 205 blood serum of ram collected mainly from Konya, Ankara and Adana provinces of the country. All serums were examined both by serum agglutination and agar-gel diffusion tests comparisionly Br. ovis By serum agglutination tests 166 serums showed 1/10-1/640 agglutinin titres among them 43 serum were positives, 156 negatif and 6 suspicion reactions were obtained. By agar gel diffusion test, 50 serum gave positive reactions and 155 were negatives from 5 serums of suspicion and from 3 negatives reactions by agglutination tests were positives by agar gel diffusion tests on the otherland one serum sample showed negative reactions by agar gel diffuion test was positive by agglutination test 42 (84) of the positives serums were corresponded by both two tests used.

It seemed to be agar gel diffusion tests more sensitive simpler and economic, and more valid than agglutinin tests for Brucella ovis.

KAYNAKLAR

- 1 — Alton, G.G, Janes L.M., Pietz, D.E. (1975) : Lâboratory Tecmigue in Brucellosis. WHO Monograph Series. Second Edition, Geneva.
- 2 — Biberstein, E.L. and Mc Gowan, B. (1958) : Epididmitis in rams studies ve Lâboratory diagnosis. Cornell, Vet., 48 : 31.
- 3 — Biberstein, E.L. Mc Gowan, B., Robinson, E.A. and Harold, D.R. (1962) Epididymitis in rams. Studies on immunity. Cornell. Vet., 52 : 214.
- 4 — Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. (1975) : Bergeys Manuel of Determinative Bacteriology. Eighth edidion. The Willams, Wilkins Company/Baltimore.
- 5 — Buddle, M.B. and Boyes B.W. (1953) : A brucella mutant oaising genital disease of sheep in Newzealand. Aust. Vet. J., 29-145.
- 6 — Clapp, K.H., Symons, E.A. and Doolette, J.B. (1955) : The application of a complement-Fixastion Test to. The Diagnosis of ovine Brucellosis Aust. Vet. J., 31 : 29.
- 7 — Corbel, M.J., Gill, K.P.W. and Redwood, D.W. (1979) : Diagnostic procdure for non-Smooth Brucella strains. Research sertion Disase of breeding department Central Veterinary Laboratory. New Haw Weybridge Surrey.

- 8 — Cox, C., J., Gorried, C.J.R., Nairn, R.C. and Ward, H.A. (1977) : A Comparison of methods for the serological diagnosis of *Brucella ovis* infection. *Br. Vet. J.*, 133 : 442.
- 9 — Doğuer, M. (1961) : Türkiye'de izole edilen *Brucella* suşlarının idantifikasyonlarını. *Etlik Vet. Bakt. Enst. Derg.* 1 : (3) : 155.
- 10 — Hall, W.T.K. (1955) : Epididymitis of rams. Studies 10 skin sensitivity and pathology. *Aust. Vet. J.*, 31 : 7.
- 11 — Hughes, K.L. and Cloxton, P.D. (1968) : *Brucella ovis* infection. An evaluation of microbiological, serological and Clinical methods of diagnosis in the ram. *Aust. Vet. J.*, 54 : 41.
- 12 — Kenedy, P.C., Frazier, L.M. and Mc Gowan, B. (1956) : Epididymitis in rams : Patohology and Bacteriology. *Cornell. Vet.*, 46 : 303.
- 13 — Keogh, J., Doolette, J.B. and Clapp, K.H. (1958) : The epidimiology of ovine Brucellosis in soufh, Austiralia. *Aust. Vet. J.*, 34 : 412
- 14 — Lawrence, W.E., (1961) : ovine. Brucellosis. A rewiew of the disease in sheep manifested by epididymitis and abortion. *Brit. Vet. J.*, 117 : 435.
- 15 — Laws, L., Simmons, G.C., and Ludford, G.G., (1972) : Experimental *Brucella ovis* infection in Rams, *Aust. Vet. J.*, 48 : 313.
- 16 — Maslarski, N. (1973) : Antibodies in the seminal plasma or rams infected with *Brucella ovis*. *Veterinarna Shirka.*, 70 : 13. (Vet. Bull. 3850 abstraktan alınmıştır.)
- 17 — Matthews, T.R. and Trueblood, M.S. (1966) : Detection of precipitins against *Brucella ovis*. *Cornell Vet.*, 57 : 410.
- 18 — Mc Gowan, B. and Shultz, G. (1956) : Epididymitis of rams. Clinical description and field aspectes. *Cornell. Vet.*, 41 : 277.
- 19 — Meinershagen, W.A., Frank, F.W. and Waldhalm, D.G. (1974) : *Brucella ovis* as a cause of abortion inewes *Amer. J. Vet. Res.*, 35, (5) : 723.
- 20 — Miller, S.J. and Moule, G.R. (1954) : Clinical observations on the reproductive organs of Merino Rams in Pastoral Queensland. *Aust. Vet. J.*, 30 : 353.
- 21 — Myers, D.M. (1973) : Field Evaluation of the gel diffusion Test for the Diagnosis of Ram Epididymitis cauded by *Brucella ovis*. *Appl. Microbiol.*, 26, (6) : 855.
- 22 — Myers, D.M., Jones, L.M., Diaz, V. (1972) : Studies of antigens for complement Fixation and gel diffusion Test in the Diagnosis of in infections caused by *Brucella ovis* and other *Brucella*. *Appl. Microbiol.*, 23 : 894.
- 23 — Myers, D.M. and Siniuk, A. (1970) : Preliminary Report on the Development of a Diffusion in gel Metbod for the Diagnosis of Ram Epididymitis. *Appl. Microbiol.* 19 : 335.

Brucella ovis antikorları — Yumuşak

- 24 — Muncz, F., Körmendy, B. and Moscy, M. (1979) : Comparison of agar gel precipitation and complement fixation test for the detection of Brucella ovis infection. Acta microbiol. Acad. Sci. Hung., 26 : 11.
- 25 — Osborne, H.G. (1955) : Epididymitis of Rams. Aust. Vet. J., 31 : 11
- 26 — Renoux, G. and Mahaffey, L.W. (1955) : Sur l'existence probable de nouveaux antigènes des Brucella avec un nouveau schéma proposé. Pour représenter la répartition de l'antigène. Ann. Inst. Pasteur. 8 : 528.
- 27 — Ris, R. (1963) : Diagnosis of Brucella ovis infection in rams. Bull. World Health. organization, 5,2,3. WHO/Brucellose/1228.
- 28 — Ris, R. (1968) : Brucella ovis'in rams. VPH/WP/68 : 9.
- 29 — Sarısayın, F. (1969) : Koyun brucellosis alanındaki son gelişmeler Semineri. T.B.T.A. Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu yayın No : 2.
- 30 — Shimuzu, T. and Shibata, S. (1962) : A technique of agglutination test with R-type brucellas as antigen. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. 2 (1) : 15
- 31 — Simmons, G.C. and Hall, W.T.K. (1953) : Epididymitis of Rams Preliminary Preliminary Studies on the occurrence and Pathogenicity of a Brucella-like organism. Aust. Vet. J. 29 : 33.
- 32 — Snowden, W.A. (1958) : Opening of Discussion Aust. Vet. J. 34 : 417
- 33 — Stableforth, A.W. (1959) : Infections diseases of animals Diseases Due to bacteria Vol. 1. Butterworths Scientific Publications London.
- 34 — Van Heerden, K.M. (1963) : The Immunization of Sheep against Br. ovis Infection College of agriculture, Middelburg, South Africa. WHO/Bruc/239.
- 35 — Watt, D.A. (1972) : Testicular abnormalities and Spermatogenesis of ovine and other species. Vet. Bull., 42, (4) : 181.
- 36 — Wilson, G.S. and Miles, A.A. (1966) : Topley and Wilson's Principles of bacteriology and immunity. Vol. 1. Fifth edition, London Edward Arnold Publishers.
- 37 — Woernle, H. (1972) : Agar-gel diffusion Technique Staatl. Tierärztliches Untersuchungsamt Stuttgart. Stuttgart. 1. Azlenbergstrasse 16.