

## Türkiye’de 2007 ve 2008 Yılları Arasında İzole Edilen Brusella Suşlarının İdentifikasyonu ve Faj Duyarlılıklarının Saptanması

Sevil Erdenliğ GÜRBİLEK<sup>1\*</sup>, Emin Ayhan BAKLAN<sup>2</sup>, Hüseyin Yavuz AKSOY<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

<sup>2</sup>Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Adli Tıp Kurumu Başkanlığı, Biyoloji İhtisas Dairesi, İstanbul, Türkiye.

Geliş Tarihi: 25.07.2014 Kabul Tarihi: 29.09.2014

**Özet:** Çalışmada 43 sığır, 61 koyun, 8 insan ve 2 adet gıda orijinli olmak üzere toplam 114 brusella suşu konvensiyonel biyotiplendirme prosedürü ile biyotiplendirildi. Sığır kökenli suşların % 96’sı *B.abortus* biyotip 3 ve % 4’ü *B.melitensis* olarak tanımlandı. *B.melitensis* suşlarının biri *B.melitensis* biyotip 3 ve diğeri *B.melitensis* biyotip 1 idi. Koyun ve keçi kökenli suşların % 65.6’sı *B.melitensis* biyotip 3 ve % 29.5’u *B.melitensis* biyotip 1 olarak tanımlandı. Koyun suşlarından 3’ü (%4.9) ise *B.abortus* biyotip 3 olarak tespit edildi. Test suşlarından hiçbiri *B.abortus* S19 ve *B.melitensis* Rev.1 aşı suşları olarak saptanmadı. İnsanlardan izole edilen 8 suşun 7’si *B.melitensis* biyotip 3 olarak ve dondurmadan izole edilen suşlardan biri *B.melitensis* biyotip 3 ve diğeri *B.melitensis* biyotip 1 olarak tanımlandı. İnsandan izole edilen suşlardan birinin rough özellikte ve R/C fajı ile tamamen lize olduğu tespit edildi. *B.melitensis* suşlarından 4’ü atipik olarak penisiline duyarlılık gösterirken, 2’si bazik fuksine (20 µg/ml) gösterdiği duyarlılık nedeni ile atipik olarak değerlendirildi. Tüm *B.melitensis* suşları rutin test dilüsyonundaki (RTD) Tbilisi, Berkeley, Weybridge, Izatnagar ve R/C fajlarına duyarlılık açısından test edildi. Toplam 70 *B.melitensis* suşunun 47’si (%67.2) C, 15’i (%21.4) D ve 8’i (%11.4) B faj tip kalıbına uyan reaksiyonlar gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** *B.abortus*, *B. Melitensis*, biyotip, faj tiplendirmesi, Türkiye

### Identification and Phage Susceptibilities of Brusella Strains In Turkey Between the Years 2007 and 2008

**Abstract:** A total of 114 Brucella isolates consisting of 43 cattle, 61 sheep and goats, 8 human and 2 food origins were identified by conventional biotyping procedures. The results showed that 96% of cattle isolates was *B. abortus* biotype 3 and 4% was *B.melitensis*. One of *B. melitensis* was *B.melitensis* biotype 3 and the other was *B. melitensis* biotype 1. Of sheep and goat isolates, 65.6 % was *B. melitensis* biotype 3 and 29.5% was *B. melitensis* biotype 1. Three of the sheep strains (4.9 %) were identified as *B. abortus* biotype 3. None of the test strains was identified as *B.abortus* S19 ve *B.melitensis* Rev.1 vaccine strains. Seven out of 8 strains from humans were identified as *B. melitensis* biotype 3. One strain of human origin was lysed completely by R/C phage. This isolate was not agglutinated by anti M and anti A monospecific sera and was agglutinated by both R antisera and acriflavin displaying rough characteristics. Two of the strains from food (ice cream) were *B. melitensis* biotype 1 and *B. melitensis* biotype 3. Four of *B. melitensis* strains were atypically susceptible to penicilin and 2 of the *B. melitensis* strains were evaluated as atypical regarding to their susceptibility to basic fuhsin (20 µg/ml). All the *B.melitensis* strains were tested for the susceptibility to the phages of Tbilisi, Berkeley, Weybridge, Izatnagar and R/C at routine test dilutions (RTD). Forty seven (67.2%), 15 (21.4%) and 8 (11.4%) out of 70 *B. melitensis* isolates conformed to phage typing pattern C, D and B, respectively.

**Keywords:** *B. abortus*, *B.melitensis*, *Brusella* biotypes, phage typing, Turkey

### Giriş

Brucellozis, *Brusella* cinsine ait türlerin oluşturduğu hayvanların ve insanların önemli bir enfeksiyonu olup Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi (OIE) tarafından dünyanın en yaygın zoonozlarından biri olarak kabul edilmektedir (Anonim, 1986). ABD, Kuzey Avrupa ve İskandinav Ülkeleri, Yeni Zelanda, Kanada, İngiltere ve Avustralya gibi gelişmiş ülkelerde hastalık eradike edilmişken dünyanın birçok az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerinde varlığını artırarak sürdürmektedir (OIE, 2009).

*Brusella* cinsinin günümüzde, *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis*, *B.ovis*, *B.canis*, *B.neotomae*, *B.ceti*, *B.pinnipedialis*, *B.microti* ve *B.inopinata* olmak üzere 10 türü bulunmaktadır. Bu sınıflandırma konakçı tercihi ve biyokimyasal ve üreme özelliklerine dayanmaktadır (Scholz ve ark., 2008; OIE, 2009). *B.abortus* 7, *B. melitensis* 3 ve *B.suis* 5 biyotipe sahiptir. Her türün tercih ettiği bir konakçısı olsa da, genelde *Brusella* türleri birçok konakçiyi infekte edebilmektedir (Hemashettar ve ark., 1987; Ocholi ve ark., 2005).

*B. melitensis*'in mevcut 3 biyotipinden, biyotip 1 Latin Amerika, İspanya, Portekiz ve Malta'da en yaygın olarak görülen biyotiptir. İtalya ve Yunanistan'da en fazla biyotip 2 yaygındır. Biyotip 3 en yaygın olarak Fransa ve Kuzey Afrika'da görülmekte ancak, İspanya, Yunanistan ve Türkiye'de de bildirilmektedir. Batı ve Orta Asya'da biyotip 2 ve 3 en yaygın biyotiplerdir. Suudi Arabistan, Kuveyt, İran ve Irak'ta her üç biyotip de yaygın olarak bulunmaktadır (Corbel, 1989a).

İnsan ve hayvan orijinli suşlardan yapılan çeşitli çalışmalarda ülkemizde koyun ve keçi atıklarından izole edilen brusella kültürlerinden en fazla *B. melitensis* biyotip 3 ve biyotip 1 identifiye edilmektedir. Sığırlardan izole edilen brusella suşlarının yaklaşık %90-95'inin *B. abortus* biyotip 3 olduğu bildirilmektedir. İnsanlardan izole edilen brusella suşlarının tamamına yakınının *B. melitensis* olduğu bildirilmektedir (Bolca ve ark., 2002; Büyükçangaz ve ark., 2009; Erdenliç ve Şen, 2000; Erdenliç ve ark., 2007; Güler ve ark., 2003; İça ve ark., 2008; Kuloğlu ve ark., 2004; Şahin ve ark., 2008).

Brusella kültürlerinin fajlar ile lizis durumu son derece spesifiktir. Brusella fajları başka bakteri cinslerinin içinde replike olamadığı gibi Brusella kültürleri başka fajlar ile lize olmazlar. Brusella kültürleri çeşitli bakteriyofajlara değişen derecede duyarlılık gösterirler. Bu durum faj tiplendirmeyi brusella türlerinin hızlı ve kesin identifikasyonu için uygun bir teknik haline getirmektedir (Corbel, 1989b; Rigby, 1990).

Bir ülkede brusella tür ve biyotiplerinin saptanması sağlıklı bir epidemiyolojik değerlendirme yaparak etkili bir kontrol ve eradikasyon politikası geliştirmek için kaçınılmazdır. Üstelik bu çalışmalar aşılamanın yapıldığı ülkelerde aşı suşlarının sahada izlenmesi açısından da önemlidir. Bu çalışmada 2007 ve 2008 yıllarında Ulusal Brusellozis Referans Laboratuvarımıza biyotiplendirilmek amacı ile insan ve hayvanlardan izole edilerek gönderilmiş toplam 114 brusella suşu klasik yöntemler ile biyotiplendirilmiş ve bu suşların çeşitli fajlar ile lizis durumları değerlendirilerek faj tipleri belirlenmiştir.

## Materyal ve Metot

**Test suşları:** Ulusal Brusella Referans Laboratuvarımıza biyotiplendirme amacı ülkemizin çeşitli bölgelerinden gönderilen 114 adet brusella suşu test edildi. Üreyen kolonilerin saflık ve koloni morfolojileri incelendikten sonra tür ve biyotip tanısına ilişkin konvensiyonel testler yapıldı (Alton ve ark., 1988; Corbel, 1983).

**Referans Materyaller:** Brusella referans suşları, brusella referans fajları ve monospesifik serumlar (A, M, R) Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Ulusal Brusella Referans Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edildi.

**Smooth ve Rough Kolonilerin Ayırımı:** Brusella spp.'in tip tayinlerinde kültürün koloni morfolojisi önemli olduğundan, koloniler 45°C'lik oblik ışıkta stereoskopik mikroskopla ve ardından aynı amaçla akriflavin solüsyonu ile kolonilerin aglutinasyon özellikleri incelendi. Rough ve smooth kolonilerin ayırımında ayrıca kristal viyole solüsyonu kullanıldı.

**Tbilisi fajı ve R/C fajı ile lizis:** Yatık Trypticase soy agar (L007516, BD) tüplerinde üreyen suşlar agar yüzeyinden yıkanarak toplandı ve Mac Farland no: 4'e göre yaklaşık  $1 \times 10^9$  /ml bakteri bulunacak şekilde suspansiyon hazırlandı. Her bir bakteri suspansiyonundan steril bir svab ile agar yüzeyine yapılan ekimlerin üzerine 20-30 µl Tbilisi ve R/C fajı damlatıldı. Petriler kuruduktan sonra %5-10 CO<sub>2</sub> içeren ortamda ve aerobik olarak 37 °C'de, 24 saat inkübe edilerek sonuçlar lizis durumuna göre değerlendirildi.

## Tür ve Biyotip Tanısında Kullanılan Yöntemler:

**Karbondioksit (CO<sub>2</sub>) Gereksinimi ve Hidrojen Sülfür (H<sub>2</sub>S) Üretimi:** Kurşun asetatlı kağıt şeritler, besiyerine temas etmeyecek şekilde, tüp kenarı ile vidalı kapak arasına sıkıştırılarak yerleştirildi. Birinci tüpler %5-10 CO<sub>2</sub> içeren etüvde, diğerleri ise aerob koşullarda 37°C'de, 4 gün süreyle inkübe edildiler. İnkubasyon süresi sonunda sonuçlar, üreme durumlarına ve kurşun asetatlı kağıtlarda oluşan renk değişikliğine göre değerlendirildi.

**Tiyonin ve Bazik Fuksin Varlığında Üreme:** İnkubasyon süresinin sonunda oluşan koloniler pepton-salin ile agar yüzeyinden yıkanarak toplandı ve yaklaşık  $1 \times 10^9$ /ml bakteri bulunacak şekilde suspansiyon hazırlandı. Her bir bakteri suspansiyonundan steril bir svab ile test ve kontrol suşlarının tiyonin ve bazik fuksinin 1/50.000 (20 µg/ml) konsantrasyonunu içeren TSA'lara ekimleri yapıldı. Sonuçlar üreme durumlarına göre değerlendirildi.

**A ve M Monospesifik Anti-serumlar ile Aglutinasyon:** Testi yapılacak her bir suşun bir öze dolusu yoğun kültürü 0.25 ml fizyolojik tuzlu su

içinde suspanse edildi. Bir lam üzerine A ve M monospesifik anti-serumlardan birer damla konularak üzerlerine yine birer damla incelenecek süşün suspansiyonundan eklendi ve reaksiyon sonuçları bir dakika içinde oluşan aglutinasyon durumuna göre değerlendirildi.

**B. abortus S19 Aşı Süşünün Virulent B. abortus Saha Süşlerinden Ayırımı:** *B. abortus* S19 aşı süşü virulent saha süşünden CO<sub>2</sub>'e bağımlı olmaması, 2 µg/ml tiyonin mavisinde ve 5 IU penisilin/ml'de inhibe olması ve i-eritritol içeren (1 mg/ml) besiyerinde ürememesi ile ayrılır. Bu amaçla test edilen süşlerden *B. abortus* biyotip 1 olarak identifiye edilen her süşün *B. abortus* S19 aşı süşü olma ihtimalini değerlendirmek açısından bu süşler 5 IU penisilin/ml ve 1mg/ml i-eritritol içeren SDA besiyerlerine ekildi. Ekim yapılan petripler 37 °C'de, 4-5 gün inkübe edildi ve sonuçlar inkübasyon süresinin sonunda kontrol süşleri ile birlikte üreme durumuna göre değerlendirildi.

**B.melitensis Rev-1 Aşı Süşünün Virulent B melitensis Saha Süşlerinden Ayırımı:** *B. melitensis* Rev.1 aşı süşü, saha süşünden 20 µg/ml bazik fuksin ve tiyoninde ürememesi, 2.5 µg/ml streptomisin içeren besiyerinde üremesi ve 5 IU penisilin/ml konsantrasyonunda inhibe oluşu ile ayrılmaktadır. Bu amaçla test edilen süşlerden *B. melitensis* biyotip 1 olarak identifiye edilen her süşün *B. melitensis* Rev-1 aşı süşü olma ihtimalini değerlendirmek açısından bu süşler, 20 µg/ml bazik fuksin ve tiyonin, 2.5 µg/ml streptomisin ve 5 IU penisilin/ml içeren SDA besiyerlerine ekildiler. Sonuçlar, inkübasyon süresinin sonunda kontrol süşleri ile birlikte üreme durumuna göre değerlendirildi.

**Faj Tiplendirmesi:** Brusella süşlerinin faj tiplerinin belirlenmesinde Tbilisi, Weybridge, Berkeley,

İzatznagar ve R/C fajları kullanıldı. Kullanılan fajların rutin test dilüsyonlarının (RTD) saptanmasında ve faj tiplendirmesinde klasik yöntemler kullanıldı (Alton ve ark.,1988; Corbel, 1987; Gargani ve Tolari, 1986). Tbilisi fajı için *B.abortus* 544, Weybridge fajı için *Brusella suis* 1330, İzatznagar fajı için *B. abortus* S 19, Berkeley fajı için *B. melitensis* 16 M ve R/C fajı için *Brusella canis* RM6/66 süşleri konakçı olarak kullanıldı. *B. abortus* süşleri hemen hemen tüm fajlar ile lizis gösterdiğinden çalışmada sadece 70 adet *B. melitensis* süşünün fajlar ile lizis durumları değerlendirildi.

## Bulgular

Çalışmada test edilen 43 sığır kökenli süşün %96'sı *B.abortus* biyotip 3 olarak identifiye edilirken % 4'ünün *B.melitensis* olduğu saptandı (Tablo 1) Koyun keçi orijinli süşlerin %65.6'sı *B.melitensis* biyotip 3 ve %29.5'u *B.melitensis* biyotip 1 olarak tanımlanırken, 3 süş *B.abortus* biyotip 3 olarak identifiye edildi (Tablo 2). Çalışmada *B.abortus* S19 ve *B.melitensis* Rev.1 aşı süşleri tespit edilmedi. İnsanlardan izole edilen 7 süş *B.melitensis* biyotip 3 iken 1 süş rough brusella süşü olarak tanımlandı. Bu süş M ve A monospesifik antiserum ile aglutinasyon göstermedi ancak rough (R) antiserumu ve akriflavin ile aglutine olarak rough süş özelliği gösterdi. Rough brusella süşü smooth süşleri lize eden fajlar ile lize olmazken sadece rough süşleri lize eden R/C fajı ile tam lizis gösterdi (Şekil 1.). Gıda orinli iki süş da *B.melitensis* türüne aitti. Atipik karakter gösteren süşlerin tümü *B.melitensis* süşleri olup penisilin ve bazik fuksine duyarlılık gösterdiler. Faj tiplendirmede 70 brusella süşü sırası ile C (%67.2), D (%21.4) ve B (%11.4) faj tipi özelliği gösterdiler (Tablo 3).

**Tablo 1.** Sığırlardan izole edilmiş olan Brusella kültürlerinin tür ve biyotip dağılımı.

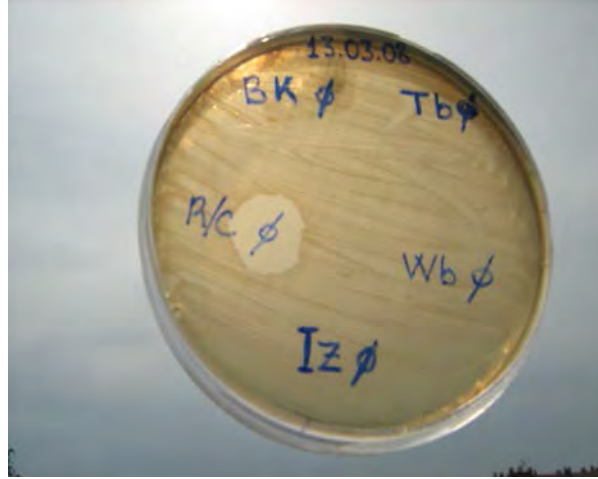
Biyotip	İzolat sayısı	Biyotip yüzdesi
<i>B.abortus</i> biyotip 3	41	%96
<i>B.melitensis</i> biyotip 1	1	%2
<i>B.melitensis</i> biyotip 3	1	%2
<b>Toplam</b>	<b>43</b>	<b>%100</b>

**Tablo 2.** Koyun ve keçilerden izole edilmiş olan Brusella kültürlerinin tür ve biyotip dağılımı.

Biyotip	İzolat sayısı	Biyotip yüzdesi
<i>B.melitensis</i> biyotip 3	40	%65.6
<i>B.melitensis</i> biyotip 1	18	%29.5
<i>B.abortus</i> biyotip 3	3	%4.9
<b>Toplam</b>	<b>61</b>	<b>%100</b>

Tablo 3. *B. melitensis* suşlarının fagotip sonuçları.

Fagotipler Suş sayısı	Oran (%)	Weybridge Ø	Brusella fajları		
			Berkeley Ø	Izatnagar Ø	
A (0)	%0	-	-	-	-
B (8)	%11.4	+	+	+	+
C (47)	%67.2	-	+	+	+
D (15)	%21.4	-	-	-	+
E (0)	%0	-	+	-	-
F (0)	%0	+	-	-	+



Şekil 1. İnsandan izole edilen bir rough Brusella suşunun çeşitli Brusella fajları ile lize olma durumu.

## Tartışma ve Sonuç

Bir coğrafik bölge ya da ülkede belirli Brusella tür ve biyotiplerinin belirlenmesi epidemiyolojik olarak önemlidir. Bu bilgiler olası yeni bir tür ve biyotip/lerin ve aşı suşlarının sahada izlenmesine olanak tanıyarak hastalığın kontrol politikasına katkı sağlayacak önemli veri kaynaklarıdır (Corbel, 1989a). Çalışmada tanımlanan 114 Brusella suşunun sığır orijinli olanlarından %96'sı *B. abortus* biyotip 3 olarak tanımlandı. Koyun keçi orijinli suşların %65.6'sı *B. melitensis* biyotip 3 ve %29.5'i *B. melitensis* biyotip 1 olarak tanımlandı. Belli bir ülkede yada bölgede en yaygın görülen brusella türleri ve biyotipleri değişiklik gösterebilmektedir. Hastalığın en yaygın olarak görüldüğü Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde koyunlardan izole edilen en yaygın biyotiplerin *B. melitensis* biyotip 3 ve 1 olduğu bildirilmektedir (Corbel, 1989a). Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda da ülkemizde sığırlarda en yaygın biyotipin *B. abortus* biyotip 3 ve koyunlarda ise *B. melitensis* biyotip 3 olduğu bildirilmektedir (Erdenliç ve Şen, 2000; Erdenliç ve ark. 2006; Güler ve ark., 2003; İca ve ark., 2008; Şahin ve ark., 2008). Daha önce yapılan benzer çalışmalarda benzer sonuçları alınması ülkemizde brusella biyotiplerinin değişmediğini düşündürmektedir. Çalışmada insan orijinli 8 suşun 7'si

*B. melitensis* biyotip 3 olarak tanımlandı. İnsanlardan izole edilen brusella suşlarına ilişkin yapılan çok sayıda çalışma insanlardan en yaygın olarak *B. melitensis* biyotip 3 suşlarının tanımlanmış olduğunu ortaya koymaktadır (Doğanay ve Aygen, 2003; Gündeş ve ark., 2004; Kuloğlu ve ark., 2004; Şimşek ve ark., 2004). Brusellozis bir zoonoz olduğundan insanlardan en yaygın olarak izole edilen brusella tür ve biyotiplerinin hayvanlardan izole edilenlerle benzerlik göstermesi beklenen bir durumdur. Çalışmada insan orijinli suşlardan biri tamamen rough bir suş karakteri gösterdiğinden (Şekil 1) doğal olarak biyotiplendirilemedi. Bu tarz suşların izolasyonu her zaman mümkün olacağından şüpheli brusella kültürlerinin her zaman rough bir faj ile kontrol edilmesi vakanın atlanılmasını ya da gecikerek tanınmasını önleyebilecektir.

Çalışmada 43 sığır suşunun ikisi *B. melitensis* olarak ve 61 koyun keçi suşundan üçü *B. abortus* olarak tanımlandı. Her Brusella türünün kendi özel konakçı tercihi olsa da bu şekilde türler arası çapraz enfeksiyonlar çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Aldomy ve ark., 1992; Büyükçangaz ve Şen, 2007; Erdenliç ve ark., 2006; Hemashettar ve ark., 1987; Ocholi ve ark., 2005;

Shaw, 1976). Brusellozisin enzootik olduğu, yoğun hayvancılık yapılan bölgelerde koyun ve sığır sürülerinin bir arada olduğu ve aynı merayı kullandığı durumlarda böyle çapraz infeksiyonların görülmesi kaçınılmaz gibi görünmektedir. Hayvancılıkta farklı türdeki hayvanların bir arada tutulması hayvanların hastalığa maruz kalma şansını artıracak farklı türlerle infeksiyona sebep olabilecektir. Bu faktör kontrol ve eradikasyon programlarının planlanması ve uygulamasında dikkate alınmalıdır.

Çalışmadaki 70 *B. melitensis* suşunun 4'ü penisiline ve ikisi bazik fuksine (20 µg/ml) gösterdiği duyarlılık nedeni ile atipik olarak değerlendirildi. Bugün için geçerli olan biyotiplendirme şemasına uymayan atipik suşların varlığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmekte ve bu suşlar klasifikasyonda birtakım güçlükler neden olmaktadır (Banai ve ark., 1990; Corbel, 1989b; Ewalt ve Forbes, 1987). Stinebrink ve Kunkel (1982), penisiline duyarlı suşların atipik suşlar olduğunu ve bu tür suşların hastalığın orjini ve epidemiyolojisi ile yakın ilişkisi olduğu belirtilmektedir. Banai ve ark. (1990), İsrail'de 2 yıl boyunca toplanan *B. melitensis* suşlarından birkaçının bazik fuksin, tiyonin ve penisiline duyarlı olan *B. melitensis* biyotip 1'in atipik varyantları olduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, konvansiyonel şemaya uymayan bu atipik suşların yeni bir taksonomik grup oluşturmadıklarını ancak bu atipik suşların varlığının Brusella cinsinin henüz evrimlerinin son aşamasında olmadıklarının bir göstergesi olduğunu vurgulamaktadırlar. Atipik karakteristikler gösteren suşların tekrarlayan izolasyonlarının yapılması bunlara daha sonra yeni bir tür ve biyotip statüsünü verebilecek olan öncül çalışmalardır.

Brusella kültürlerinin brusella fajları ile lizisi son derece spesifiktir. İlk stabil Brusella fajının 1950'de eski SSCB'de izolasyonundan sonra birçok Brusella spesifik faj bildirilmiştir. Rusya'nın Tbilisi eyaletinde izole edilip Tbilisi (Tb) adı verilen faj son derece stabil olduğundan referans faj olarak tür tayininde geniş çapta kullanılmaktadır (Rigby, 1990). FAO/WHO Brusellosis Araştırma ve Referans İşbirliği Merkezi'ne 1973 ve 1986 yılları arasında dünyanın çeşitli bölgelerinden gelen *B. melitensis* suşlarının faj duyarlılık kalıpları incelenmiştir. Weybridge, Izatnagar ve Berkeley fajları kullanılarak yapılan duyarlılık testlerinde *B. melitensis* biyotip suşlarının A'dan F'e kadar 6 fagotipinin olduğu belirtilmiştir Dünya da en yaygın olarak görülen fagotiplerin sırası ile C, B ve A olduğu belirtilmektedir (Corbel, 1987). Çalışmada en yaygın görülen faj tipleri sırası ile C (%67.2), D (%21.4) ve B (%11.4) olmuştur (Tablo 3). Dünyada en yaygın olarak görülen fagotiplerin C (%70) ve

(%21) olduğu bildirilmekte (Corbel, 1987) olup büyük ölçüde benzer sonuçlar alınmıştır. Ülkemizde Erdenlig ve Şen (2000)'in yaptığı bir çalışmada biyotiplendirilen 78 adet *B. melitensis* suşunun 53 adedinin C, 18 adedinin B ve 7 adedinin A fagotipine ait olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada hiç A fagotipine rastlanılmaması ve daha önce görülmeyen D faj tipine rastlanması, faj tiplerinin stabil bir tablo oluşturmadığını ve faj tiplerinin türlerin veya biyotiplerin alt tiplerini saptamada bir yöntem olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Test edilen 70 adet *B. melitensis* suşundan hiç biri R/C fajı ile lizis göstermedi. Yirmi bir adet *B. melitensis* biyotip 1 suşunun %19'u B, %71.4'ü C ve %9.5'i D faj tipi 47 adet *B. melitensis* biyotip 3 suşunun %8.5'i B, %66'sı C ve %25.5'i D faj tipi olarak saptandı. Çalışmanın sonucunda *B. melitensis* biyotip 1 suşlarında en çok görülen faj tipinin sırasıyla C, B ve D olduğu; *B. melitensis* biyotip 3 suşlarında aynı sıranın C, D ve B olduğu anlaşılmaktadır. Ancak bu kadar az sayıda suştan elde edilen sonuçlardan yola çıkarak biyotip ve faj tipi arasında bir bağlantının olup olmadığını değerlendirmek olası görünmemektedir. Faj tipi ve biyotip arasında istatistik olarak bir ilişkinin varlığını ya da yokluğunu ortaya koymak için çok sayıda suşla çalışmanın ve bu tür çalışmaların devamlılığının sağlanmasının gerekli olacağı düşünülmektedir. Ayrıca Brusella fajlarının ve faj-konakçı hücre ilişkisinin genetiğine yönelik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmalar brusella genetiğini daha iyi anlamada ve hastalığın koruma ve önlenmesinde yeni moleküler teknikleri uygulamada önemli olacaktır.

Çalışmanın sonunda elde edilen ve bu yönde yapılan daha önceki çalışmaların bulguları ışığında ülkemizde en yaygın olarak görülen biyotiplerin koyunlarda *B. melitensis* biyotip 3 ve biyotip 1 ve sığırlarda *B. abortus* 3 olmaya devam ettiği anlaşılmaktadır. Hastalığın etkenlerinin tür ve biyotip düzeyinde gerek konvansiyonel ve gerekse moleküler çalışmalar ile identifiye edilmesine yönelik çalışmaların devam etmesi, gerek sahada sirküle eden tür ve biyotiplerin gerekse kitle aşılması yapılan ülkemizde aşı suşlarının takibi açısından son derece önemli olacaktır.

## Kaynaklar

- Aldomy FMM, Jahans KL, and Altarzi YH, 1992: Isolation of *Brucella melitensis* from aborting ruminants in Jordan. *J Comp Path*, 107,239-242.
- Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM, 1988:Bacteriological methods. In: "Techniques the Brucellosis Laboratory". INRA, pp 13-61.

- Anonim, 1986: Joint FAO/WHO, Expert Committee on Brucellosis, Geneva WHO/Technical Report, 6th. Report Series No:740.
- Bolca Z, Gündeş S, Erdenliğ S, Öztürk R, Sümerkan B, Akata F. ve Vahaboğlu H, 2002: İnsan kaynaklı Brusella türü mikroorganizmaların tiplendirilmesi amacı ile uygulanan metotların karşılaştırılması ve biyotipleri ile faj tipleri arasındaki ilişkinin irdelenmesi. *Flora*, 7(3),157-170.
- Büyükçangaz E, Şen A, Kahya S,2009: Isolation and biotyping of *Brucella melitensis* from aborted sheep and goat fetuses. *Turk J Vet Anim Sci*,33(4),311-316.
- Banai M, Mayer I, Cohen A, 1990: Isolation, identification, and characterization in Israel of *brucella melitensis* biovar 1 atypical strains susceptible to dyes and penicillin, indicating the evolution of a new variant. *J Clin Microbiol*, 28(5), 1057-1059.
- Corbel MJ, Gill KPW, Thomas EL, 1983: Methods for the identification of *Brucella*, Central Veterinary Laboratory, Booklet 2085, Weybridge Surrey KT15 3NB.
- Corbel MJ,1987:Brucella-phages: advance in the development of a reliable phage typing system for smooth and non-smooth *Brucella* isolates. *Ann Inst Pasteur/Microbiol*, 138,70.
- Corbel MJ,1989a:Brucellosis: epidemiology and prevalence worldwide. In "Brucellosis: Clinical and Laboratory Aspects", Ed; Young EJ, Corbel MJ, CRC Press, Inc., Boca Raton. Florida, USA, 25-40.
- Corbel MJ, 1989b: Microbiology of the genus *Brucella*. In "Brucellosis: Clinical and Laboratory Aspects", Ed;Young EJ, Corbel MJ, CRC Press, Inc., Boca Raton. Florida, USA, 54-67.
- Doğanay M, Aygen B,2003: Human brucellosis: an overview, *Int J Infect Dis*, 7,173-182.
- Erdenliğ S, Sen A, 2000: Koyun atıklarından izole edilen *Brucella* cinsi mikroorganizmaların izolasyonu ve biyotiplendirilmesi. *Pendik Vet Mikrobiol Derg*, 31(2), 31-42.
- Erdenliğ S, Iyisan AS, Baklan EA, Aksoy HY, 2007: Biovar distribution of *Brucella* isolates from livestock in Turkey, 1999 to 2006. In: Proceedings of the 15 th. International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants, 15-19 May 2007 Pine Bay Resort Hotel, Kusadası, Turkey, p.27.
- Ewalt DR, Forbes LB, 1987: Atypical isolates of *Brucella abortus* from Canada and the United States characterized as dye sensitive with M antigen dominant. *J Clin Microbiol*, 25(4), 698-701.
- Gargani A, and Tolari F, 1986:*Brucella* phagotypes:their relation to the spread of infection in Italy, *Eur J Epidemiol*,2,67.
- Güler L, Gündüz K, Ok U, 2003: Comparison of polymerase chain reaction and bacteriological culture for the diagnosis of sheep brucellosis using aborted fetus samples, *Vet Microbiol*, 93,53-61.
- Gündes S, Meric M, Willke A, Erdenliğ S, Koc K, 2004: A case of intracranial abscess due to *Brucella melitensis*. *Int J Infect Dis*, 6, 379-81.
- Ica T, Aydın F, Erdenliğ S, Güler L, Büyükçangaz E, 2008: Characterisation of *Brucella abortus* biovar 3 isolates from Turkey as biovar 3b. *The Vet Rec*, 29, 660-662.
- Hemashettar BM, Patil CS, Jayakumar K, Deveraj M, Nagalotimath SJ, 1987: Isolation of *Brucella melitensis* biotype 1 from a cow and two of its attenders. *Indian Vet J*, 64, 822-825.
- Kuloglu F, Erdenliğ S, Akata F, Tansel O, Gurcan S, Turgul HM, 2004: Trakya Üniversitesi Hastanesi'nde 1997-2002 yılları arasında saptanan *Brucella* izolatlarının tür ve biyovar dağılımı. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 38, 187-191.
- Ocholi RA, Kwaga JKP, Ajogi I, Bale JOO, 2005: Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Nigeria. *Rev Sci Tech Int Epiz*, 24(3),973-979.
- OIE, 2009: Manual of Standards for Diagnostic tests and Vaccines. Third edition, Office International of Epizooties, Paris, France. Bovine Brucellosis chapter (2.4.3) Caprine and ovine brucellosis, chapter (2.7.2).
- Rigby CE,1990: The Brucellaphages. Animal Brucellosis, Edited by Nielsen K, Duncan, JR, CRC Press., Inc., Boca Raton, Florida, USA, 121-130.
- Scholz HC, Hubalek Z, Sedlacek I, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, Melzer F, Kampfer P, Neubauer H, Cloeckert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore AM, Falsen E, Bahn P, Göllner C, Pfeffer M, Huber B, Busse H-J & Nöckler K, 2008: *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 58 (2), 375-382.
- Shaw WB, 1976: *Brucella abortus* infection in sheep. I. Field case, *Br Vet J*, 132,18-26.
- Stinebring WR, and Kunkel JR,1982: In vitro susceptibility of selected isolates of *Brucella abortus* to penicillin. *Am J Vet Res*,43, 3, 545-547.
- Şahin M, Genç O, Ünver A, Otlı S, 2008: Investigation of bovine brucellosis in the Northeastern Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 40,281-286.
- Şimşek H, Erdenliğ S, Oral B, Tülek N, 2004:İnsan kaynaklı *Brucella* izolatlarının tip-biyotip tayini ve epidemiyolojik olarak irdelenmesi. *Klimik Dergisi*, 17 (2),103-106.
- \*\*Bu araştırma makalesi Veterinary Laboratory Agency (VLA), Weybridge, İngiltere'de Uluslararası Hayvan Hastalıkları Konferansında (VLA International Conference Animal Diseases 2009) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.
- \*Yazışma Adresi: Sevil Erdenliğ Gürbilek  
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.  
e-mail:serdenlig@harran.edu.tr