



## Çiftlik Hayvanlarında Brusellozisin Serolojik Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması\*

Harun ÖZTÜRK<sup>1</sup>, Fatih BÜYÜK<sup>2</sup>✉

1. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, TÜRKİYE.
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.

**Özet:** Çiftlik hayvanlarında brusellozisin teşhisinde serolojik tekniklerin karşılaştırmalı analizi ve duyarlılıklarının belirlenmesinin amaçlandığı bu çalışmada, geleneksel işletmeciliğin yapıldığı Kars yöresine ait atık hikayesi olan ve Brusellozise karşı aşılınmamış 100 inek ve 100 koyun ile birlikte 100 adet at kan serum örneği küme örnekleme yöntemi ile çalışmaya dahil edildi. *Brucella* antikorlarının varlığı Rose Bengal Plate Test (RBPT), Serum Aglütinasyon Test (SAT) ve Non-Enzimatik Hızlı İmmunofiltrasyon (NERİFA) teknikleri ile araştırıldı. SAT'da tanısıl titre olarak inek ve atlar için 1/40 ve üzeri, koyunlar için 1/20 ve üzeri dilüsyonlar dikkate alındı. İncelenen 100 inek kan serum örneğinin RBPT ile 26 (%26)'sı, SAT ile 23 (%23)'ü ve NERİFA ile 25 (%25)'i; 100 koyun kan serum örneğinin RBPT ile 18 (%18)'i, SAT ile 14 (%14)'ü ve NERİFA ile 21 (%21)'i ve 100 at serum örneğinin RBPT ile 13 (%13)'ü, SAT ile 14 (%14)'ü ve NERİFA ile 12 (%12)'si *Brucella* antikorları yönünden pozitif olarak saptandı. NERİFA'nın sensitivite ve spesifitesi ineklerde sırasıyla %87 ve %93; koyunlarda %85 ve %89 ve atlarda %78 ve %98 olarak saptandı. NERİFA ile RBPT arasındaki uyum ineklerde (kappa: 0.921) ve atlarda (kappa: 0.862) mükemmel yakın iken; koyunlarda (kappa: 0.713) önemli derecede uyum sağlandı. Sonuç olarak, çiftlik hayvanlarında *Brucella* antikorlarının saptanmasında saha ve sınırlı laboratuvar koşullarında NERİFA'nın RBPT gibi hızlı tarama testi olarak kullanılabileceği ve bulguların daha ileri tekniklerle doğrulanması gerektiği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** *Brucella*, Çiftlik hayvanları, Serolojik testler.

## Comparison of the Methods Used in Serological Diagnosis of Brucellosis in Farm Animals

**Abstract:** In this study, it was aimed to determine the sensitivity and comparative analysis of serological techniques for the diagnosis of brucellosis in livestock. One hundred cattle and 100 sheep with a history of abortion both of that have not been vaccinated against brucellosis along with 100 horses from the farms of traditional management in Kars region of Turkey were included in the study, with a cluster sampling method. *Brucella* antibodies were tested through Rose Bengal Plate Test (RBPT), Serum Agglutination Test (SAT) and Non-Enzymatic Rapid Immunofiltration Assay (NERIFA). Of these, 1/40 and above for the cattle and horse and 1/20 and above dilutions for sheep were considered as diagnostic titre in the SAT. Out of 100 cattle samples, 26 (26%) were detected positive in the RBPT, 23 (23%) in the SAT and 25 (25%) in the NERIFA in terms of *Brucella* antibodies. Out of 100 sheep sera samples, 18 (18%) with the RBPT, 14 (14%) with the SAT and 21 (21%) with the NERIFA were found positive for *Brucella* antibodies. For horse samples 13 (13%) with the RBPT, 14 (14%) with the SAT and 12 (12%) with the NERIFA were found positive for *Brucella* antibodies. The sensitivity and specificity of NERIFA were found as 87% and 93% in cattle, 85% and 89% in sheep and 78% and 98% in horse. The agreement between the NERIFA and the RBPT was found as almost perfectly as in cattle (kappa: 0.921) and horse (kappa: 0.862), while substantially in sheep (kappa: 0.713). In conclusion, it was suggested that the NERIFA can be used as a fast screening test such as the RBPT for diagnosis of *Brucella* antibodies in farm animals both in the field and in limited laboratory conditions and the present results are needed to be verified with more advanced techniques.

**Key words:** *Brucella*, Farm animals, Serological tests.

✉ Fatih BÜYÜK

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.  
e-posta: fatihbyk08@hotmail.com

\* Bu çalışma, Harun Öztürk' ün "Çiftlik Hayvanlarında Brusellozisin Serolojik Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması" başlıklı Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.

## GİRİŞ

**B**rusellozis, *Brucella* cinsi bakteriler tarafından oluşturulan ve evcil hayvanlarda abort ve infertiliteye yol açan infeksiyöz bir hastalıktır. Zoonotik özelliği nedeniyle halk sağlığı açısından da önem arz etmektedir (Corbel MJ, 1997; Otlu ve ark., 2008). Ülkemizde dahil gelişmekte olan ülkelerde halen varlığını sürdüren brusellozis, Kars yöresinde endemik seyretmektedir (Otlu ve ark., 2008; Şahin ve ark., 2008; Büyük ve Şahin 2011; Büyük ve ark., 2011).

Çiftlik hayvanlarından özellikle sığır, koyun ve keçi gibi geviş getirenlerde genital organlara yerleşerek dişilerde yavru atmalara ve erkeklerde infertilite problemlerine ve beraberinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Corbel, 1997; Santos ve ark., 2013). Bu ekonomik kayıpların önlenmesinde uygulanacak kontrol ve koruma çalışmalarının planlanması için, brusellozisin yayılımını ve prevalansını bilmek oldukça önemlidir. Bu tür çalışmalarda hızlı ve güvenilir sonuç veren tanısal bir laboratuvar testinin olması büyük fayda sağlamaktadır.

Brusellozisin teşhisi direkt ya da indirekt laboratuvar yöntemleriyle yapılmaktadır (Adams, 1990; Nielsen, 2002; Poester ve ark., 2010). Etkenin izolasyon ve identifikasyonunun yapıldığı direkt tanı yöntemleri halen en geçerli yöntemlerdir. Son yıllarda brusellozisin tanısında moleküler temelli farklı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) protokolleri de bildirilmiştir (Garin-Bastuji ve ark., 2006; Huber ve ark., 2009). Bakteriyolojik tekniklerin uzun zaman alması ve etkenin biyolojik tehlike arzemesi, sentitivitesi daha iyi olmasına rağmen moleküler tekniklerin uygulanmasının pahalı olması ve bu alanda yetişmiş uzman personele ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlardan dolayı teşhiste serolojik tekniklerin (aglutinasyon teknikleri, komplement fikzasyon tekniği, ELISA vb.) kullanımı yaygın bir şekilde devam etmektedir (Alton ve ark., 1988; Nielsen, 2002; Bronsvoort ve ark., 2009).

Bu çalışmada sığır, koyun ve at dahil olmak üzere küçük aile işletmelerinde yetiştirilen çiftlik

hayvanlarında brusellozisin tanısında serolojik tekniklerin karşılaştırmalı analizi ve duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı.

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nin kuzeydoğu kesiminde yer alan Kars ili'nde gerçekleştirildi. Küme örnekleme yönteminin uygulandığı bu çalışmada geleneksel işletmeciliğin yapıldığı Kars yöresine ait 100 inek, 100 koyun ve 100 at çalışmaya dahil edildi. İnek ve koyun kan örnekleri atık hikâyesi olan ve *Brucella* etkenlerine karşı aşılınmamış sürülerden rastgele seçildi. At kan örnekleri ise geleneksel işletmeciliğin yapıldığı Kars yöresini temsilen farklı işletmelerden toplam 100 adet ergin hayvanlardan temin edildi. 3000 devirde 10 dk santrifüj sonrası elde edilen serum örneklerinde *Brucella* antikorlarının varlığı Rose Bengal Plate Test (RBPT), Serum Aglutinasyon Test (SAT) ve Non-enzimatik Hızlı İmmunofiltrasyon (NERİFA) teknikleri ile araştırıldı.

### Rose Bengal Plate Test (RBPT)

Test antijeni olarak Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde üretilen ve *B. abortus* S99 suşundan hazırlanan Rose Bengal boyası ile boyanmış antijen kullanıldı. RBPT, Alton ve ark. (1988) tarafından bildirilen yöntem göre yapıldı. RBPT antijeni ile serum örneği temiz bir lam üzerinde karıştırılarak 4-5 dk. içinde oluşan aglutinasyon pozitif olarak kabul edildi.

### Serum Aglutinasyon Test (SAT)

Test antijeni olarak Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde üretilen ve *B. abortus* S99 suşundan hazırlanan *Brucella* tüp aglutinasyon antijeni kullanıldı. SAT, Alton ve ark. (1988)'nin bildirdiği yöntem göre yapıldı. *Brucella* tüp aglutinasyon antijeni ilavesi ile 1/10 ile 1/320 arası son

konsantrasyonları hazırlanan serum örneklerinden 37 °C'de bir gece inkübasyonunu takiben dantelâ tarzında çökelti verenler pozitif reaksiyon olarak kabul edildi. Tanısal titre olarak inek (Otlu ve ark., 2008) ve atlar (Denny, 1972) için 1/40 ve üzeri; koyunlar (Unel ve ark., 1969) için 1/20 ve üzeri dilüsyonlar dikkate alındı.

#### **Non-enzimatik Hızlı İmmunofiltrasyon Yöntemi (NERİFA)**

Hızlı immün-filtrasyon tekniği ile anti-Brucella lipopolisakkarit (LPS) ve tüm hücre lizatı (LYS) antikorlarını tespit etmek amacıyla kullanılan bu testte pozitif serum örneklerine ait antikorlar, test kasetindeki LPS ve LYS antijenlerine spesifik bağlanarak Protein A/G ile konjuge edilmiş koloidal altın partikülleri ile kaplanır ve test penceresinde çıplak gözle görülebilir renkli dairesel bir görünüm oluştururlar.

Teste başlamadan önce test kasetleri, yıkama solüsyonu, konjugat ve serum örneklerinin oda ısısına ulaşması beklenildi. Kasetin test penceresine 3 damla yıkama solüsyonu ilave edildi ve tamamen emilmesi beklenildi. Bir damla serum örneği damlatıldıktan sonra test penceresi 2 damla yıkama solüsyonu ile tekrar yıkandı ve konjugat solüsyonundan 1 damla damlatıldı. Test penceresi 2 damla yıkama solüsyonu ile tekrar yıkandıktan sonra sonuç değerlendirildi. Test penceresinin sağındaki test alanı ile solundaki internal kontrolün renk yoğunlukları karşılaştırılarak sonuçlar kuvvetli pozitif, zayıf pozitif ve negatif olarak değerlendirildi (Büyüktanır ve ark., 2012). Tüm testlerde pozitif ve negatif kontrol serumları kullanıldı.

#### **İstatistiksel Analiz**

Ki-kare testini yapmak amacıyla interaktif hesaplama imkanı sağlayan bir bilgisayar yazılım programı kullanıldı (Preacher KJ, 2001). Sensitivite, spesifite ve testlerin tanısal doğrulukları bu program

eşliğinde gerçekleştirildi. < 0.05 olan P-değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### **BULGULAR**

##### **RBPT Bulguları**

İncelenen inek kan serum örneklerinin 26 (%26)'sı, koyun kan serum örneklerinin 18 (%18)'i ve at kan serum örneklerinin 13 (%13)'ü RBPT ile pozitif saptandı (Tablo 1-3).

##### **SAT Bulguları**

İncelenen inek kan serum örneklerinin 23 (%23)'ünde ve at kan serum örneklerinin 13 (%13)'ünde 1/40 ve üzeri *Brucella* antikor titresi saptanırken; koyun kan serum örneklerinin 14 (%14)'ünde 1/20 ve üzeri *Brucella* antikor titresi saptandı (Tablo 1-3).

##### **NERİFA Bulguları**

İncelenen inek kan serum örneklerinin 25 (%25)'i, koyun kan serum örneklerinin 21 (%21)'i ve at kan serum örneklerinin 12 (%12)'si *Brucella* antikorları yönünden pozitif saptandı (Tablo 1-3).

Özetle; çalışma kapsamında incelenen 100 inek kan serum örneğinin RBPT ile 26 (%26)'sı, SAT ile 23 (%23)'ü ve NERİFA ile 25 (%25)'i; 100 koyun kan serum örneğinin RBPT ile 18 (%18)'i, SAT ile 14 (%14)'ü ve NERİFA ile 21 (%21)'i ve 100 at serum örneğinin RBPT ile 13 (%13)'ü, SAT ile 13 (%13)'ü ve NERİFA ile 12 (%12)'si *Brucella* antikorları yönünden pozitif satandı (Tablo 1-3).

##### **İstatistiksel Bulgular**

İnek kan serum örneğine ait veriler ve doğrulama testi olarak SAT dikkate alındığında, RBPT'nin sensitivitesi %87, spesifitesi %92, tanı doğruluğu %91 ve NERİFA'nın sensitivitesi %87, spesifitesi %93, tanı doğruluğu %92 olarak belirlendi (Tablo 1). İstatistiksel olarak inek kan serum

örneklerinde *Brucella* antikorlarını belirlemede testler arasında anlamlı fark olmadığı (Ki-kare = 0.152 ve P = 0.926) saptandı. İnek kan serumlarında *Brucella* antikorlarının saptanmasında tarama testi

amacıyla kullanılan RBPT ile NERİFA arasında 0.921' lik bir kappa değeri ile mükemmel yakın derecede uyum sağlandığı gözlemlendi.

**Tablo 1.** İnek serumlarına ait testlerin tanısal verileri.

**Table 1.** Diagnostic data of cattle tests.

		SAT		Tanı Değerleri		
		Pozitif (n=23)	Negatif (n=77)	Sensitivite	Spesifite	Tanı Doğruluğu %
RBPT	Pozitif (n=26)	20	6	87	92	91
	Negatif (n=74)	3	71			
NERİFA	Pozitif (n=25)	20	5	87	93	92
	Negatif (n=75)	3	72			

Koyun kan serum örneğine ait veriler ve doğrulama testi olarak SAT dikkate alındığında, RBPT' nin sensitivitesi %92, spesifitesi %94, tanı doğruluğu %94 ve NERİFA'nın sensitivitesi %85, spesifitesi %89, tanı doğruluğu %89 olarak belirlendi (Tablo 2). İstatistiksel olarak koyun serum örneklerinde *Brucella* antikorlarını belirlemede

testler arasında anlamlı fark olmadığı (Ki-kare = 1.193 ve P = 0.550) saptandı. Koyun kan serumlarında *Brucella* antikorlarının saptanmasında tarama testi amacıyla kullanılan RBPT ile NERİFA arasında 0.713' lük bir kappa değeri ile önemli derecede uyum sağlandığı gözlemlendi.

**Tablo 2.** Koyun serumlarına ait testlerin tanısal verileri.

**Table 2.** Diagnostic data of sheep tests.

		SAT		Tanı Değerleri		
		Pozitif (n=14)	Negatif (n=86)	Sensitivite	Spesifite	Tanı Doğruluğu %
RBPT	Pozitif (n=18)	13	5	92	94	94
	Negatif (n=82)	1	81			
NERİFA	Pozitif (n=21)	12	9	85	89	89
	Negatif (n=79)	2	77			

At kan serum örneğinin ait veriler ve doğrulama testi olarak SAT dikkate alındığında, RBPT'nin sensitivitesi %85, spesifitesi %98, tanı doğruluğu %97 ve NERİFA'nın sensitivitesi %78, spesifitesi %98, tanı doğruluğu %96 olarak belirlendi (Tablo 3).

**Tablo 3.** At serumlarına ait testlerin tanısasal verileri.**Table 3.** Diagnostic data of horse tests.

		SAT		Tanı Değerleri		
		Pozitif (n=14)	Negatif (n=86)	Sensitivite	Spesifite	Tanı Doğruluğu %
RBPT	Pozitif (n=13)	12	1	85	98	97
	Negatif (n=87)	2	85			
NERİFA	Pozitif (n=12)	11	1	78	98	96
	Negatif (n=88)	3	85			

İstatistiksel olarak at serum örneklerinde Brucella antikorlarının saptanmasında testler arasında anlamlı fark olmadığı (Ki-kare = 0.047 ve P = 0.976) saptandı. At kan serumlarında Brucella antikorlarının saptanmasında tarama testi amacıyla kullanılan RBPT ile NERİFA arasında 0.862' lik bir kappa değeri ile mükemmele yakın derecede uyum sağlandığı gözlemlendi.

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

Çiftlik hayvanlarında brusellozisin serolojik teşhisine yönelik dünyanın çeşitli ülkelerinde ve Türkiye'de birçok değerli araştırma mevcuttur. Sığırlarda yapılan çalışmalarda Brucella antikorları RBPT ile %11-26 oranlarında saptanırken aynı çalışmalarda bu oranlar SAT ile %9-16 olarak belirlenmiştir (Nasir ve ark., 2004; Aggad ve ark., 2006; Ghodasara ve ark., 2010). Ülkemizde Kars yöresinde abort olgularının görüldüğü sığır sürülerinde yapılan incelemede RBPT ile %32.9 ve SAT ile %34.6 seropozitiflik elde edilmiştir (Otlu ve ark., 2008). Koyunlarda yapılan çalışmalarda Brucella antikorları RBPT ile %11-11.8 aralığında saptanırken bu oranlar tüp aglütinasyon tekniği ile %6.9-16.8 olarak belirlenmiştir (Öngör ve ark., 2001; Al-Hankawe ve Rhaymah, 2012). Kars yöresinde Celebi ve Atabay (2009) tarafından yapılan çalışmada atık hikayesi bulunan koyun sürülerinde Brucella antikorları RBPT ile %34.7 ve SAT ile %36.7 olarak

bildirmiştir. Atlarda yapılan çalışmalarda Brucella antikorları RBPT ile %0-20.7 ve SAT ile %0-17.7 arasında saptanmıştır (Hutchins ve Lopherd, 1968; Denny, 1972; Omer ve ark., 2000; Wadood ve ark., 2009). Ülkemizde ise İzgür ve ark. (1998), RBPT ile %1.89 oranında seropozitiflik saptarken, Göz ve ark. (2007), SAT ile %9.5' lik bir seropozitiflik oranı bildirmiştir. Bu çalışmada doğrulama testi olan SAT ile inek kan serum örneklerinin %23'ü, koyun kan serum örneklerinin %14'ü ve at kan serum örneklerinin %13'ü Brucella antikorları yönünden pozitif saptandı. Genel olarak bakıldığında çalışmamızda yer alan hayvan türlerinde Brucella antikorlarının varlığına ait oranlar dünyanın çeşitli yerlerinde ve ülkemizde yapılan diğer çalışmalardaki oranlara benzerlik göstermektedir. Saptanan küçük farklılıkların coğrafik yapı, iklim ve hayvan hareketliliği gibi faktörlerin yanı sıra uygulanan test ve yöntemdeki farklılıklar ve örneklenen hayvanlardaki infeksiyonun durumu ve örnekleme zamanı gibi kümülatif bir çok faktörden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Testlerin karşılaştırmalı analizinde, SAT testi doğrulama testi olarak dikkate alındığında, RBPT'nin tanı testi olarak ineklerde sensitivitesi %87, spesifitesi %92 ve tanı doğruluğu %91; koyunlarda sensitivitesi %92, spesifitesi %94 ve tanı doğruluğu %94; atlarda sensitivitesi %85, spesifitesi %98 ve tanı doğruluğu %97 olarak belirlendi. NERİFA'nın

tanı testi olarak ineklerde sensitivitesi %87, spesifitesi %93 ve tanı doğruluğu %92; koyunlarda sensitivitesi %85, spesifitesi %89 ve tanı doğruluğu %89; atlarda sensitivitesi %78, spesifitesi %98 ve tanı doğruluğu %96 olarak belirlendi. Bu değerler karşılaştırıldığında hayvan türlerinde Brucella antikorlarını belirlemede kullanılan testler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı (sırasıyla sığır, koyun ve atlar için Ki-kare değerleri 0.152, 1.193, 0.047 ve P değerleri 0.926, 0.550, 0.976 olarak belirlendi) saptandı. Testler arasındaki önemsiz farklılıklarının çalışmaya kapsamındaki hayvanların farklı infeksiyon dönemleri ve buna bağlı olarak farklı antikor sınıf ve alt sınıflarına sahip olmalarından ya da kullanılan testlerin ölçebileceği en düşük antikor miktarı ve sınıfının farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

İnek ve at kan serumlarında Brucella antikorlarının saptanmasında tarama testi amacıyla kullanılan RBPT ile NERİFA arasında sırasıyla 0.921 ve 0.862' lik bir kappa değeri ile mükemmel yakın derecede uyum saptanırken; koyun kan serumlarında 0.713' lük bir kappa değeri ile önemli derecede uyum gözlemlendi. Benzer sonuçlar Büyüktanır ve ark. (2012)'nin kapsamlı bir şekilde incelediği ikili-antijenik (LPE ve LYS) tanı testlerinde (Enzimatik Hızlı İmmunofiltrasyon Yöntemi-ERİFA ve NERİFA) de elde edilmiştir. İmmunoenzimatik testlerle (ELISA, ERİFA vb.) kıyaslandığında sensitivitesi düşük olmasına rağmen bu veriler NERİFA'nın tanısal performansı artırmada daha hızlı ve kolay uygulanabilen, kolay yorumlanabilen, muadili olan RBPT kaynaklı bazı olumsuzlukların (çapraz reaksiyon, test antijeninin kontaminasyonu, sonuçların yorumlanmasındaki zorluklar vb.) giderilmesinde avantaj sağlayan ve saha çalışmalarına kolay adapte edilebilen, RBPT'nin yerine kullanılacak alternatif bir tarama testi olabilme potansiyelini ortaya çıkarmıştır.

Sonuç olarak, Brusellozisin endemik olduğu yörede hastalığın doğru tanısı için bu tür çalışmaların fayda sağlayacağı ve sonuçların daha

ileri tekniklerle (KFT, c-ELISA) doğrulanması gerektiği düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Adams LG., 1990. Advances in Brucellosis Research. Texas A&M University Press, First edition, College Station, USA.
- Aggad H., Boukraa L., 2006. Prevalence of bovine and human brucellosis in western Algeria: comparison of screening tests. Eastern Mediterranean Health Journal, 12, 119-128.
- Al-Hankawe OKH., Rhaymah MS., 2012. Comparison between ELISA and other serological tests for diagnosis of brucellosis in sheep in Ninevah Province. Iraqi Journal of Veterinary Science, 26, 97-103.
- Alton GG., Jones LM., Angus RD., Verger JM., 1988. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), Paris, France.
- Bronsvort B., Koterwas B., Land F., Handel IG., Tucker J., Morgan KL., Tanya VN., Abdoel TH., Smits HL., 2009. Comparison of a flow assay for brucellosis antibodies with the reference cELISA test in West African Bos indicus. PLoS ONE, 4, e5221.
- Büyük F., Şahin M., 2011. Kars yöresinde atık yapan ineklerin çeşitli örneklerinden Brucella etkenlerinin kültürel ve moleküler yöntemlerle araştırılması ve olguların epidemiyolojik analizi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17, 809-816.
- Büyük F., Celebi O., Şahin M., Ünver A., Tazegül E., 2011. İki farklı koyun ve keçi sürüsünde Brucella ve Campylobacter ortak enfeksiyonu. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17 (Suppl A), 177-180.
- Büyüktanır O., Genç O., Celebi O., Yurdusev N., 2012. Rapid immunofiltration assay as a field diagnostic tool for ovine brucellosis. Journal of Immunoassay and Immunochemistry, 33, 35-47.

- Corbel MJ., 1997. Brucellosis: an Overview. *Emerging Infectious Diseases*, 3, 213-221.
- Celebi O., Atabay HI., 2009. Seroepidemiological investigation of brucellosis in sheep abortions in Kars, Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 115-119.
- Denny HR., 1972. Brucellosis in the horse. *Veterinary Record*, 90, 86-91.
- Garin-Bastuji B., Blasco JM., Marín C., Albert D., 2006. The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. *Small Ruminant Research*, 62, 63-70.
- Ghodasara SN., Roy A., Bhanderi BB., 2010. Comparison of rose bengal plate agglutination, standard tube agglutination and indirect ELISA tests for detection of Brucella antibodies in cows and buffaloes. *Veterinary World*, 3, 61-64.
- Göz Y., Babür C., Aydın A., Kiliç S., 2007. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, eastern region of Turkey. *Revue De Medecine Veterinaire*, 158, 534-539.
- Huber B., Scholz HC., Lucero N., Busse HJ., 2009. Development of a PCR assay for typing and subtyping of Brucella species. *International Journal of Biological Sciences*, 299, 563-573.
- Hutchins DR., Lephherd EE., 1968. The occurrence of agglutinins to Brucella abortus in horses. *Australian Veterinary Journal*, 44, 323-325.
- Izgun M., Akay O., Candas A., Inan A., Ayhan H., Esendal O., 1998. Ankara'da at brusellozis'inin prevalansı üzerine bir çalışma. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 6, 117-126.
- Nasir AA., Parveen Z., Shah MA., Rashid M., 2004. Seroprevalence of brucellosis in animals at government and private livestock farms in Punjab. *Pakistan Veterinary Journal*, 24, 144-146.
- Nielsen K., 2002. Diagnosis of brucellosis by serology. *Veterinary Microbiology*, 90, 447-459.
- Omer MK., Skjerve E., Holstad G., Woldehivet Z., Mac Millan AP., 2000. Prevalence of antibodies to Brucella spp. in cattle, sheep, goats, horses and camels in the State of Eritrea; influence of husbandry systems. *Epidemiology and Infection*, 125, 447-453.
- Otlu S., Sahin M., Atabay HI., Unver A., 2008. Serological investigation of brucellosis in cattle, farmers and veterinarians in the Kars district of Turkey. *Acta Veterinaria Brno*, 77, 117-121.
- Öngör H., Muz A., Çetinkaya B., 2001. Atık yapmış koyunlarda brusellozisin teşhisinde ELISA ile diğer serolojik testlerin karşılaştırılması. *Turk Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 21-26.
- Poester FP., Nielsen K., Samartino LE., Yu WL., 2010. Diagnosis of brucellosis. *The Open Veterinary Science Journal*, 4, 46-60.
- Preacher KJ., 2001. Calculation for the chi-square test: An interactive calculation tool for chi-square tests of goodness of fit and independence [Computer software]. Available from <http://quantpsy.org>.
- Santos RL., Martin TM., Borges AM., Paixao TA., 2013. Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 33, 759-764.
- Şahin M., Genç O., Ünver A., Otlu S., 2008. Investigation of bovine brucellosis in the Northeastern Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 40, 281-286.
- Unel S., Williams CF., Stableforth AW., 1969. The relative value of the agglutination test, complement fixation test and coombs test in the detection of Brucella melitensis infection in sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 79, 155-159.
- Wadood F., Ahmad M., Khan A., Gul ST., Rehman N., 2009. Seroprevalence of Brucellosis in horses in and around Faisalabad. *Pakistan Veterinary Journal*, 29, 196-198.