

**DEVELİ YÖRESİNDE SIĞIR BRUSELLOZUNUN SEROLOJİK TESTLERLE
(RBPT, SAT, C-ELISA, CFT) TEŞHİSİ**
**The Diagnosis of Bovine Brucellosis with Serologic Tests
(RBPT, SAT, C-ELISA, CFT) in Develi District**

Murat HODUL¹, K. Semih GÜMÜŞSOY²

Özet: Bu çalışma, Kayseri ili Develi ilçesinde abort yapan sığırların serumlarında 4 farklı serolojik test kullanılarak *Brucella abortus* karşı şekillenen antikorların ortaya konulması; kullanılan serolojik testlerin teşhisteki duyarlılıklarının saptanması ve bölgede sığır brusellozun görülme oranının tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Develi ilçesinde abort yapan 200 baş sığırdan kan örnekleri toplanmıştır. Serumlar Rose Bengal Plate Test (RBPT)'i, Serum Aglutinasyon Test (SAT)'i, Kompetatif ELISA (C-ELISA) ve Komplement Fiksasyon Test (CFT)'ine tabi tutulmuş, testlerin duyarlılıklarının değerlendirilmesinde CFT standart test olarak kabul edilmiştir.

İncelenen 200 serumunun 57 (% 28,5)'si RBPT ile pozitif bulunurken geri kalanın negatif olduğu saptandı. Serum aglutinasyon test ile serumların 22 (% 11)'sinin pozitif, 168 (% 84)'inin negatif ve 10 (% 5)'unun şüpheli olduğu belirlenirken C-ELISA ile 36 (% 18)'si pozitif ve 164 (% 82)'ü negatif olarak tespit edildi. Diğer taraftan CFT ile 30 (% 15)'u pozitif, 163 (% 81,5)'ü negatif ve 7 (% 3,5)'si şüpheli olarak değerlendirildi. Brusellozun teşhisinde her üç testinde duyarlı oldukları, CFT ile C-ELISA arasında diğer testlere göre daha iyi bir uyumluluğun bulunduğu saptandı. Develi ilçesinde atık yapan sığırlarda brusellozis görülme oranının % 15 olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, Develi yöresinde sığırlarda atık olgularının yüksek bir görülme oranına sahip olduğu ve halk sağlığı açısından da büyük bir risk oluşturabileceği belirlenmiştir. Kısa sürede ve güvenilir sonuçlar alındığından sığır brusellozunun serolojik teşhisinde C-ELISA'nın daha üstün olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, serolojik teşhis, sığır, yavru atma

Summary: This study was carried out to detect the antibodies against *Brucella abortus* in the sera of aborted cows reared in Develi district of Kayseri province with four different serological tests and to compare the sensitivity of the applied serological tests as well as to determine the incidence of bovine brucellosis in the region. Blood samples were collected from the 200 aborted cows in Develi district. Sera were tested with Rose Bengal Plate Test (RBPT), Serum Agglutination Test (SAT), Competitive ELISA (C-ELISA) and Complement Fixation Test (CFT) and the CFT was accepted as the standard test for the evaluation of the sensitivity of the tests. Of 57 (28.50 %) out of 200 tested sera were found to be positive with RBPT and the remaining sera were found as negative. Of 22 sera (11 %) were found to be positive, 168 (84 %) of the sera were found to be negative and 10 of the sera were found to be suspicious with SAT whereas 36 (18 %) of the sera were positive and 164 (82 %) of the sera were negative with C-ELISA. On the other hand, CFT revealed that 30 (15 %) of the sera were positive, 163 (81.50 %) of the sera were negative and 7 (3.50 %) of the sera were suspicious. For the diagnosis of brucellosis, all of the tests were found to be sensitive, the results of C-ELISA were found to be more consistent with the results of CFT than the other tests. The frequency of brucellosis in aborted cows in Develi district was determined as 15 % according to the results of the tests. In conclusion, it has been determined that the incidence of abortus in cattle in Develi district is high, and it may pose a high risk for public health. Because rapid and reliable results were obtained with the C-ELISA, this test is considered to be superior to other investigated tests for the serological diagnosis of bovine brucellosis.

Key words: Abortion, brucellosis, cow, serological diagnosis

¹ Bilim Uz.Erciyes Ün.Sağlık Bil.Ens.Vet.Mikrob. AD,Kayseri

² Yrd.Doç.Dr.Erciyes Ün.Vet Fak.Mikrobiyoloji AD,Kayseri

Geliş Tarihi : 01.06.2009 Kabul Tarihi : 23.12.2009

***Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBT.07.22 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Ülkemizde sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerde büyük ekonomik kayıplara yol açan sorunlarından birisi enfeksiyöz karakterdeki yavru atmalardır. Bakteriyel orijinli yavru atmaların başında da brusellozis gelmektedir. Brusellozis, hem insan hem de hayvan sağlığını yakından ilgilendiren ve hayvansal üretim üzerine önemli etkileri olan bulaşıcı, akut, subakut veya kronik seyirli bir zoonotik enfeksiyondur (1).

Hayvanlarda sağaltım, ekonomik olmaması ve hastalık taşıyıcılığının ortadan kaldırılamaması nedeniyle uygulanmamaktadır. Hayvanların periyodik serolojik analizlerinin yapılarak reaktörlerin belirlenmesi ve koruma amacıyla başta aşılama olmak üzere tedbirlerin alınması hastalığın eradikasyonu amacıyla yapılabilecek başlıca işlemlerdir.

Brusellozisin kesin teşhisi, etkenin izolasyonu ve identifikasyonuna dayalı direkt yöntemle yapılabildiği gibi, infekte hayvanların kan serumları, süt ve süt serumlarında uygulanan serolojik testlerle de indirek yapılabilmektedir. İmmünolojik metotlar teşhiste daha hızlıdır, fakat yanlış negatif ve yanlış pozitif verme olasılıkları bulunmaktadır. Brusellozisin serolojik teşhisinde, testlerden yalnız biri ile enfekte hayvanların hepsini saptamak mümkün olmadığından en az iki testin uygulanması önerilmektedir (1). Serolojik testler arasında Rose Bengal Plate Testi (RBPT), Serum Aglutinasyon Testi (SAT), Komplement Fiksasyon Testi (CFT), Süt Ring Testi (MRT), Antiglobulin Testi (Coombs), 2-Merkaptoetanol Testi (2-MET), Rivanol Testi (RT), Fluorescence Polarization Immunoassay (FPA) ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yer almaktadır (1, 2). Mevcut testlerin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. RBPT diğer testlere göre daha az yanlış pozitif reaksiyon verdiği, ancak aşılı hayvanlarda, aşılama sonucu oluşan IgM'lerle kros reaksiyonlara ve dolayısıyla yanlış pozitif reaksiyonlara neden olabileceği saptanmıştır (1). Yapılan çalışmalarda, SAT'nde, IgM'lerin daha yüksek reaksiyon verdiği, bu sebeple SAT'nin akut brusellozis olgularının teşhisinde daha etkili olduğu bulunmuştur. Hastalığın erken dönemlerinde, özellikle yüksek titrelili serumlarda prozon ve diğer bloke fenomenler nedeniyle negatif sonuç elde edilebilmekte-

dir (1). Komplement Fiksasyon Testi; yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması, çok nadir nonspesifik reaksiyonlara yol açması, buzağılık döneminde yapılan aşılama ile enfeksiyon sonucu oluşan antikor titrelerinin ayırımını gerçekleştirme ve çok sayıda numunenin kısa sürede değerlendirilmesini sağlaması açısından laboratuvarlarda kullanılan standart bir testtir (1). ELISA çok sayıda örneğe uygulanabilmesi, IgM ve IgG ayırımında daha duyarlı bulunması ve blokan antikorlardan etkilenmemesi nedeniyle oldukça güvenilir ve çabuk sonuç veren bir testtir (2). Özellikle son yıllarda hayvanların Brusella aşısı durumları bilinmezliğin enfeksiyonu ortaya koyabilen kompetatif ELISA (C-ELISA) testi geliştirilmiştir. Bu test monoklonal antikor (mAb) teknolojisi kullanılarak katı faza bağlı bilinen antijene test serumundaki uygun antikorun bağlanması esasına dayanmaktadır. Serumda fazla bulunan antikor daha fazla bağlanarak daha kuvvetli enzim reaksiyonuyla substrattan renk oluşturmaktadır (3).

Bu çalışmada, Develi ilçesinde sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerde yavru atan sığırlardan alınan kan serumlarının RBPT, SAT, C-ELISA ve CFT ile incelenmesi, sığır brusellozisinin serolojik yöntemlerle tanısının yapılması, elde edilen epidemiyolojik verilerle de hastalığın bölgesel durumunun tespit edilmesi ve teşhiste kullanılan serolojik yöntemlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Develi ilçesindeki işletmelerde atık yapan ve brusella aşısı yapılmamış 200 sığırın kanları bu çalışmada serolojik analizlerin materyalini oluşturdu. Bu amaçla sığırların *Vena subcutanea ulnaris*'inden 10 ml antikoagülsüz tüplere kanları toplandı. Laboratuvar ortamında tüpler 1500 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Her bir hayvana ait serum steril 2 adet ependorfa alındı. Bu serumlardan biri RBPT, SAT ve C-ELISA analizlerinin yapılacağı Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarı için ayrıldı. Diğer serum Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Yetiştirme Hastalıkları ve

Teşhis laboratuvarında yapılacak CFT testi ile birlikte hastalığın 3285 sayılı kanunda tanımı yapılan zoonoz, tazminatlı ve ihbarı mecburi bir hastalık olması nedeniyle gerekli yasal prosedürler yerine getirilmesi amacıyla enstitüye gönderildi. Serumlar laboratuvarında analizleri yapıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Rose Bengal Pleyt Testi için Sero-Lam Brusella RBPT Test antijeni (Seromed Biyolojik Ürünler, İstanbul, Türkiye) ve SAT için Sero-Tüp *Brucella* Tüp Aglutinasyon Test antijeni (Seromed Biyolojik Ürünler, İstanbul, Türkiye)'nden yararlanıldı. C-ELISA testi için ise *Brucella*-Ab C-ELISA test kiti (Svanova Biotech AB, Uppsala, Sweden) kullanıldı. CFT için enstitü laboratuvarında bulunan antijenler kullanıldı. Negatif kontrol serum olarak sağlıklı sürüden alınan ve CFT'nde negatif olan serumlardan yararlanıldı. Pozitif kontrol serum olarak Pendik Veteriner Araştırma Enstitüsünden sağlanan ve SAT testi ile 1/640'da (++) aglutinasyon veren kan serumu kullanıldı.

Rose Bengal Pleyt Testi (RBPT), Alton ve ark. (4)'nın bildirdikleri yöntemle göre yapıldı. Bir lam üzerine 50 µl antijen ve 50 µl serum konuldu. Lam üzerinde 4 dk içerisinde meydana gelen karakteristik kümeleşme pozitif olarak değerlendirildi.

Serum Aglutinasyon Testi (SAT), Alton ve ark. (4)'nin bildirdikleri yöntemle göre yapıldı. Serum dilüsyonu için 5 adet aglutinasyon tüpü alındı. Birinci tüpe 0,8 ml, ikinci ve diğer tüplere 0,5 ml % 0,5 fenollü fizyolojik tuzlu su (FFTS) kondu. Birinci tüpe 0,2 ml incelenen serum ilave edildi. Sulandırma işlemi gerçekleştirildi. Her tüpe 0,5 ml SAT antijeni ilave edildi. Tüpler 37 °C'de 17-24 saat inkubasyona bırakıldı. Tüplerin dibindeki çöküntüye göre serumların antikor titresi tespit edildi.

Kompetatif Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (C-ELISA), test kitini üreten firmanın bildirdiği yöntemle göre yapıldı. İncelenen serumlar ve kontrollerin sulandırmaları yapıldı. Her bir sulandırmadan 50 µl alınarak *B. abortus* S-LPS kaplı kuyucuklara konuldu. Tüm kuyucuklara mAb solüsyonundan 50 µl ilave edildi. PBS-Tween Buffer ile kuyucuklar yıkandı ve 100 µl konjugat solüsyonundan ilave edildi. Aynı şekilde

PBS-Tween Buffer ile tüm kuyucuklar tekrar yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonundan ilave edildi. En son aşamada 50 µl stop solüsyonundan konuldu. Kontrol ve serumların optik dansite (OD) ölçümleri ELISA reader (BioTek ELx808, Winooski, VT, USA) kullanılarak 450 nm'de yapıldı. Numunelerin yüzde inhibisyon (PI) değerleri % 30'dan küçük olanlar negatif, büyük olanlar ise pozitif olarak değerlendirildi.

Komplement Fikzasyon Testi (CFT), Alton ve ark. (4) bildirdikleri yöntemle göre yapıldı. Veronal buffer solüsyonundan (VBS) mikropleyt üzerinde B ve H arasındaki kuyucuklara 25 µl konuldu. Test edilecek serum A, B ve H kuyucuklarına 25 µl ilave edildi. Antijen A'dan G'ye kadar 25 µl ve komplement de A'dan H'ye kadar olan kuyucuklara 50 µl konuldu. Mikropleyt 37 °C'de 60 dk inkubasyona bırakıldı. Amboseptörden A'dan H kuyucuğuna kadar 50 µl ilave edildi ve 37 °C'de 15 dk inkubasyona tabi tutuldu. Ayrıca mikropleyt 45-90 dk +2 / +8 °C'de bekletildi. Mikropleytin kuyucuklarında meydana gelen lizise göre pozitiflik saptandı.

Serolojik testler (RBPT, SAT, CFT ve C-ELISA) arasındaki uyumluluk Kendall's tau-b testi kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca, SAT ve CFT'nden elde edilen şüpheli sonuçlar dışlanarak testler arasında duyarlılık ve özgüllük değerleri hesaplandı. İstatistiksel analizler SPSS 13.0 istatistik paket programı ile for Windows ortamında yapıldı (5).

BULGULAR

Rose Bengal Pleyt Test (RBPT) ile incelenen 200 serumdan 57 (% 28,5)'si pozitif, 143 (% 71,5)'ü ise negatif bulundu (Tablo I). Serumların SAT ile incelenmesi sonucu, 22 (% 11)'si pozitif, 168 (% 84)'i negatif ve 10 (% 5)'u ise şüpheli olarak saptandı (Tablo I), C-ELISA ile incelenen 200 serumdan 36 (% 18)'sı seropozitif bulundu. Serumların 164 (% 82)'ü negatif olarak belirlendi (Tablo I). Serumların CFT ile incelenmesi sonucu 30 (% 15)'unun pozitif, 163 (% 81,5)'ünün negatif ve 7 (%3,5)'sinin ise şüpheli olduğu saptandı (Tablo I).

Rose Bengal Pleyt Test (RBPT), referans testin saptamış olduğu 163 negatif serumdan 141 (% 86,5)'ini negatif kabul ederken 22 (% 13,5)'ini pozitif olarak belirledi. Pozitif olarak saptanan 30 (% 100) serum CFT'nden elde edilen pozitif sonuçlarla uyumluluk gösterdi. CFT'inde belirlenen 7 adet şüpheli serum RBPT tarafından 3 (% 42,9)'ü negatif, 4 (% 57,1)'ü ise pozitif olarak saptandı. Her iki test arasında iyi düzeyde uyumluluk belirlendi (Kendall's tau-b= 0.654, p<0.001) (Tablo II). RBPT'nin CFT ile kıyaslanması sonucu duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla % 100 ve % 86,5 olarak tespit edildi.

Serum Aglutinasyon Testi (SAT), CFT'nin saptamış olduğu 163 negatif serumdan 158 (% 86,5)'ini negatif, 2 (% 1,2)'sini pozitif ve 3 (% 1,8)'ünü ise şüpheli olarak saptandı. Referans test ile bulunan 30 (% 100) pozitif serum, yapılan SAT ile 5 (% 16,7)'i negatif, 20 (% 66,7)'si pozitif ve 5 (%

16,7)'i şüpheli olarak belirlendi. Aynı şekilde 7 şüpheli serum, SAT ile 2 (% 28,6)'si şüpheli olarak değerlendirilirken 5 (% 71,4)'i negatif olarak kayıt edildi. Her iki test arasında iyi düzeyde uyumluluk belirlendi (Kendall's tau-b= 0.693, p<0.001) (Tablo III). SAT'nin % 80 duyarlılığa ve % 98,8 özgüllüğe sahip olduğu ortaya konuldu.

C-ELISA, referans testin saptamış olduğu 163 negatif serumdan 161 (% 98,8)'ini negatif ve 2 (% 1,2)'sini pozitif olarak belirledi. CFT ile pozitif olarak saptanan 30 (% 100) serum, C-ELISA'de 29 (% 96,7)'u pozitif ve 1 (% 3,3)'i negatif olarak değerlendirildi. CFT'nde belirlenen 7 adet şüpheli serum C-ELISA ile 2 (% 82)'si negatif, 5 (% 57,1)'i ise pozitif olarak saptandı. Her iki test arasında çok iyi düzeyde uyumluluk belirlendi (Kendall's tau-b= 0.892, p<0.001) (Tablo IV). C-ELISA testinin sırasıyla %96,7 ve % 98,8'lik bir duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu kayıt edildi.

Tablo I. Çalışmada incelenen serum örneklerinden elde edilen genel sonuçlar

Sonuçlar	Serolojik Testler			
	RBPT	SAT	C-ELISA	CFT
Pozitif	57 (% 28,5)	22 (% 11,0)	36 (% 18,0)	30 (% 15,0)
Negatif	143 (% 71,5)	168 (% 84,0)	164 (% 82,0)	163 (% 81,5)
Şüpheli	-	10 (% 5,0)	-	7 (% 3,5)
Toplam	200	200	200	200

Tablo II. RBPT ve CFT'lerinden elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi.

		CFT			Toplam
		Negatif	Pozitif	Şüpheli	
RBPT	Negatif	141 (% 86,5)	0 (% 0,0)	3 (% 42,9)	144 (% 72,0)
	Pozitif	22 (% 13,5)	30 (% 100,0)	4 (% 57,1)	56 (% 28,0)
	Toplam	163 (% 100,0)	30 (% 100,0)	7 (% 100,0)	200 (% 100,0)

Kendall's tau-b= 0.654, p<0.001

Tablo III. SAT ve CFT'lerinden elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi.

		CFT			
		Negatif	Pozitif	şüpheli	Toplam
RBPT	Negatif	141 (% 86,5)	0 (% 0,0)	3 (% 42,9)	144 (% 72,0)
	Pozitif	22 (% 13,5)	30 (% 100,0)	4 (% 57,1)	56 (% 28,0)
	Toplam	163 (% 100,0)	30 (% 100,0)	7 (% 100,0)	200 (% 100,0)

Kendall's tau-b= 0.693, p<0.001

Tablo IV. C-ELISA ve CFT'lerinden elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi

		CFT			
		Negatif	Pozitif	şüpheli	Toplam
C-ELISA	Negatif	161 (% 98,8)	1 (% 3,3)	2 (% 28,6)	164 (% 82,0)
	Pozitif	2 (% 1,2)	29 (% 96,7)	5 (% 71,4)	36 (% 18,0)
	Toplam	163 (% 100,0)	30(% 100,0)	7 (% 100,0)	200(% 100,0)

Kendall's tau-b= 0.892, p<0.001

TARTIşMA

Dünyanın birçok ülkesinde brusellozise karşı mücadele kampanyaları başlatılmış ve birkaç ülke enfeksiyonu yok denecek kadar azaltmayı başarmıştır. Akdeniz ülkelerinde ise bu enfeksiyon birçok hastalık arasında ön sıralarda yer almaktadır (6).

Ülkemizde sığırlarda brusella enfeksiyonunun prevalansının ortaya konulmasına yönelik serolojik olarak yapılan çalışmalardan İzmir, Aydın, Manisa, Muğla, Uşak, Balıkesir ve Denizli illerinden % 4,1 (7), Orta Anadolu bölgesinden % 0,92-24,15 (8), Kırıkkale yöresinde % 19 (9), Kayseri yöresinde % 10,37 (10), Kars ve yöresinde % 53,89 (11), Kuzeydoğu Anadolu bölgesinden % 39,45 (12) ve Van'da % 2,1 (13) oranında seropozitiflik elde edilmiştir.

Bu çalışmada Develi yöresinde abort yapan 200 sığırdan 30 (% 15)'unun brusellozis yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. Ülke genelinde brusellozisin prevalansına yönelik mevcut serolojik verilere göre bir değerlendirme yapıldığında en dü-

şük % 0,92 ile en yüksek % 53,89 arasında enfeksiyonun varlığından söz etmek mümkündür. Elde ettiğimiz bu sonuçlar Güllüce ve Leleoğlu (11)'nin elde ettiği bulgulardan düşük olmasına rağmen Kenar (8)'in elde ettiği bulgulardan ise daha yüksektir. Brusellanın batı bölgelerinde daha düşük düzeylerde seyrettiği bunun aksine doğu bölgelerinde ise prevalansın daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Özellikle doğu bölgelerinde hayvan hareketlerinin çok yoğun olması, sığır yetiştiriciliğinin modern yetiştiricilik şartlarında yapılamaması ve enfeksiyonun eradikasyonuna yönelik yeterli tedbirlerin alınmaması en önemli faktörler arasında bulunmaktadır. İnci ve ark. (10), Develi ilçesinde abort yapan 6 sığır serumundan 1 (% 16,66)'isinden seropozitiflik tespit etmişlerdir. Araştırmamızdan elde edilen % 15'lik değer İnci ve ark (10)'nın saptadıkları değer ile birbirine paralellik göstermektedir. Bu sonuçlar Develi bölgesi açısından değerlendirildiğinde 1999 yılından günümüze kadar Brusella insidensinin belirli düzeyde seyrettiği, önemli bir artış veya azalışın görülmediği şeklinde yorumlanmaktadır. Eradi-

kasyona yönelik olarak bölgede son yıllarda suni tohumlama çalışmaları, genç hayvanların aşılması ve işletmelerin rutin serolojik analizlerini yaptırma-ları büyük bir hız kazanmıştır. İleriki yıllarda bu uygulanan tedbirlerin bir sonucu olarak araştırmamızda elde edilen insidens değerinde büyük bir düşüş görüleceği düşünülmektedir.

Gelişmiş ülkelerde bile brusellozis tam olarak eradike edilememiş ancak % 0,1 düzeylerine düşürülebilmektedir. Uygulanan eradikasyon programının başarıya ulaşması, her şeyden önce enfeksiyonun teşhisine bağlıdır. Brusellozis tanısında RBPT, SAT, CFT ve ELISA testlerinin duyarlılıklarının ortaya konulmasına yönelik karşılaştırmalı birçok çalışma yapılmıştır (2, 12, 14-18). Spesifik antikor gruplarının sınıflandırılmasında ELISA verilerinin, geleneksel serolojik verilerden çok daha spesifik, çok daha çabuk elde edilebilir ve şüpheli hayvanların teşhisinde tamamlayıcı bir test olduğu ortaya konulmuştur (3, 12, 18, 19).

Araştırmamızda serumlardan 57 (% 28,5)'si RBPT'ini ile 22 (% 11)'si SAT ile pozitif sonuç vermiştir. RBPT'inde pozitifliğin daha fazla tespit edilmesinin nedeninin nonaglutininlerin yoğunluğuna bağlanmaktadır. RBPT'inin basit tarama testi olarak görülmesine rağmen özellikle nonaglutininleri göstermesi ve IgG'leri saptaması açısından uygulanabilirliği uygun bir test olarak görülmektedir. SAT'ini başta IgM olmak üzere IgG'leri de tespit etmesinden dolayı sıklıkla kullanılan test olma özelliğini korumaktadır. Bununla birlikte, Tarım Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğünün 189 no'lu brusellozis mücadele talimatnamesinde danalık ve ergin *Brucella abortus* S19 aşısı yapılmış sığırlara SAT'nin uygulanamayacağı bildirilmektedir. Bu durum SAT'nin uygulanmasında bir dezavantaj olarak görülmektedir (20).

Ülkemizde hayvan hareketlerinin yoğun şekilde olması ve düzenli bir pedigrisi sisteminin olmamasından dolayı hayvanların Brusella aşısı durumları çoğunlukla net olarak bilinmemektedir. Son yıllarda C-ELISA'da kullanılan mAb teknolojisi sayesinde titrenin aşından mı yoksa enfeksiyondan mı kaynaklandığı tespit edilir hale gelmiştir. Araştırmacılar C-ELISA ile diğer serolojik testlerden elde edilen so-

nuçların uyum gösterdiğini ve kros reaksiyonlara bağlı yanlış pozitifliğin bu testte görülmediğini ifade etmişlerdir (2, 3, 18).

Yapılan bu çalışmada, incelenen 200 serumdan 30 (% 100)'u referans test ile pozitif olarak bulunurken RBPT, SAT ve C-ELISA testlerinden sırasıyla 30 (% 100), 20 (% 66,7) ve 29 (% 96,7) numunede pozitiflik saptanmıştır. Bu sonuçlara göre RBPT diğer iki teste göre (SAT ve C-ELISA) daha duyarlı gibi görülmektedir. Ancak, RBPT'ini referans testin saptamış olduğu 163 negatif serumdan 22 (% 13,5)'ini pozitif olarak saptarken diğer her iki testten herbiri 2 (% 1,2) numunede yanlış pozitiflik saptamıştır. Bu sonuçların istatistikî olarak değerlendirilmesi sonucu CFT'ne en yakın olarak sonuç veren testin C-ELISA olduğu tespit edilmiştir. Testler arasındaki duyarlılık farklılığının nedenleri arasında ise, hayvanlarda enfeksiyonun değişik dönemlerinde olabileceği ve buna bağlı olarak serumlarında farklı immunoglobulinlerin tanımlanmasının etken olacağı düşünülmektedir. CFT referans test olarak kullanılmasına rağmen, rutin uygulamalar açısından oldukça zahmetli ve sınırlı sayıda laboratuvarda yapılabilmektedir. Kros reaksiyonlara bağlı olarak yanlış pozitiflik sonuç alınması CFT'inin diğer bir dezavantajı olarak görülmektedir.

Sonuç olarak; Develi yöresindeki sığır brusellozisin yüksek sayılabilecek oranlarda seropozitif olduğu, abort yapan hayvanlardaki oranlar dikkate alındığında bölgede abortun önemli nedenlerinden birinin de brusellozis olabileceği saptanmıştır. Sığır brusellozisin serolojik yöntemlerle karşılaştırmalı olarak tanısı gerçekleştirilmiş ve teşhis amacıyla C-ELISA'nın da güvenilir bir şekilde kullanılabileceği kanaatine varılmıştır. Ayrıca, Etlik Veteriner Araştırma Enstitüsü ile koordineli çalışılmış hastalığın ihbarı mecburi ve tazminatlı olması sebebiyle hastalık çıkan bölgelerde gerekli önlemlerin seri bir şekilde alınması sağlanmış, laboratuvar sonucu pozitif olduğu teyit edilen hayvanların hepsi tazminatlı olarak kestirilip hastalığın eradikasyonu sağlanmıştır. Bölgede görev yapan resmi ve serbest veteriner hekimler ile hayvan sahipleri başta olmak üzere diğer sağlık personelinin konu ile ilgili bilgilendirilmesi açısından değerli bir kaynak olmuştur.

KAYNAKLAR

1. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine (10th ed)*. Saunders Elsevier, UK 2008, pp 963-984.
2. McGiven JA, Sawyer J, Perrett LL, et al. A new homogeneous assay for high throughput serological diagnosis of brucellosis in ruminants. *J Immunol Methods* 2008; 337: 7-15.
3. Nielsen K, Smith P, Yu WL, et al. Validation of a second generation competitive enzyme immunoassay (CELISA) for the diagnosis of brucellosis in various species of domestic animals. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 125: 246-250.
4. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Techniques for The Brucellosis Laboratory*. Inra, Paris 1988; pp 63-136.
5. Özdamar K. *Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi (5. baskı)*, Kaan Kitapevi, Eskişehir 2004; ss 203-227.
6. Godfroid J, Käsbohrer A. Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century. *Vet Microbiol* 2002; 90: 135-145.
7. Gökçen S, Eskiizmirliler S. Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne 1988-1997 yılları arasında Ege bölgesi illerinden gönderilen sığır, koyun ve keçi kan serumlarında *Brucella* pozitiflik oranı. *Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi* 1998; 23: 1-10.
8. Kenar B. Konya, Niğde, Nevşehir ve Kayseri illerinde koyun ve sığır brucellozisinin serosurvey epidemiyolojik araştırması. *Veterinarium* 1990; 1: 34-37.
9. Öcal N, Babür C, Yağcı BB, et al. Kırıkkale yöresinde süt sığırlarında brucellozis, listeriosis ve toksoplazmozis'in seroprevalansı ve birlikte görülme sıklığı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2008; 14: 75-81.
10. İnci A, Aydın N, Babür C, Çam Y, Akdoğan C, Kuzan S. Kayseri yöresinde sığır ve koyunlarda toksoplazmozis ve brucellozis üzerine seroepidemiolojik araştırmalar. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1999, 30: 41-46.
11. Güllüce M. Kars ve Çevresinde, Sığırlarda, *Brucella abortus*'a Karşı Oluşan Antikorların ELISA ve Diğer Serolojik Yöntemlerle (RBPT, SAT, MRT) Saptanması ve Sonuçların Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Kafkas Ün. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars 1993.
12. Şahin M, Genç O, Ünver A, Otlı S. Investigation of bovine brucellosis in the Northeastern Turkey. *Trop Anim Health Prod* 2008, 40: 281-286.
13. Gürtürk K, Alan M, Boynukara B, Solmaz H. Van ve yöresinde koyun ve sığır brucellozisinin insidensi üzerinde seroepidemiolojik araştırmalar. *Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg* 1994; 5: 121-125
14. Esendal ÖM, Yardımcı H, Keskin O, Altay G. Sığır, koyun ve keçi brucellozisinin serolojik tanısında konvansiyonel testler ve Coombs testinin kullanılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2001, 48: 97-102.
15. Solmaz H, Tütüncü M, Gülhan T ve ark. Van yöresi süt sığırlarında brucellozis'in insidensi üzerine incelemeler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2002; 13: 54-56.
16. Ghanem YM, El-Khodery SA, Saad AA, Abdelkader AH, Heybe A, Musse YA. Seroprevalence of camel brucellosis (*Camelus dromedarius*) in Somaliland. *Trop Anim Health Prod* 2009, (Basımda).
17. Samartino L, Gall D, Gregoret R, Nielsen K. Validation of enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of bovine brucellosis. *Vet Microbiol* 1999; 70: 193-200.

18. Muma JB, Toft N, Oloya J et al. Evaluation of three serological tests for brucellosis in naturally infected cattle using latent class analysis. *Vet Microbiol* 2007; 125: 187-192.
19. Mantur BG, Amarnath SK. Brucellosis in India. *J Biosci* 2008; 33: 539-547.
20. Anon. Brusellozis Mücadele Talimatnamesi. TKB Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü Sayı 189, Ankara 1990.