

Koyun ve Keçilerde Brucellosisin Teşhisi

Mesadet DOĞUER
Yetiştirme Hastalıkları
Laboratuvarı Şefi

(Bu yazı, CENTO'nun Ziraat, Hayvan mahsulleri ve hayvan sağlığı ile alakalı Ekonomik Komitesinin 20-30 Haziran 1960 tarihinde, Pendik Bakterioloji Enstitüsünde tertiplemiş olduğu toplantıda tebliğ edilmiştir.)

Memleketimizde koyun ve keçinin ehemmiyetini aşağıda, bir kaç noktada hülâsa etmeğe çalıştıktan sonra halkın birinci derecede geçim vasıtası olan bu gibi hayvanların Brucellosisinde, reaktörlerin en çabuk, en kolay, en emin ve en ucuz bir teşhis yolu ile meydana çıkarılmasında kullanılacak metodun bir an evvel tesbitinin önemi kendiliğinden meydana çıkacaktır.

1 — Koyun ve keçi, Türkiye nüfusunun % 80 nini teşkil eden köylünün en çok istifade ettiği hayvanlardır.

2 — Et, süt, yapağı ve bilhassa tiftik gibi mahsulleri dolayısıyla memleket iktisadiyatını çok yakından ilgilendiren mevzulardır.

3 — Halkın büyük bir kısmı bu gibi hayvanlarla sıkı temas halinde olduğu gibi aynı zamanda hayvanî menşeli yiyecek maddeleriyle de direkt veya indirect olarak bu hastalığın tehdidi altındadır.

4 — Büyük sürüler hariç, köylerde umumiyetle bu gibi hayvanlar ineklerle aynı yerlerde barındırılmakta olduğundan sığırlar için tehlikeli portördürler. Bu sebepten de sığır Brucellosisin'de yapılacak eradikasyonda rolleri büyüktür.

1942 denberi yürürlükte olan Brucellosis talimatname ve nizamnamesinde bu hayvanlarda yapılacak teşhis, tedbir, mücadele usulleri hakkında hükümler mevcut değildir. Veteriner Sağlık Zabıtasında ihbarı mecburî hastalıklar arasınada yeni konmuştur. Sığırlar için yeniden hazırlanmış ve yakında meriyete girecek olan Brucellosis Talimatname ve Nizamnamesi gibi koyun ve keçiler için de en kısa zamanda bir talimatnamenin hazırlanmasına şiddetle ihtiyaç vardır.

Bu gibi hayvanlar için halihazırda, henüz kat'i neticeli bir aşı tatbikata çıkmamış olduğundan bizim de memleketimizde kullanmakta olduğumuz metodun Teşhis ve Kesim Usulünden ibaret olması, tesbit edilecek kat'i neticeli bir teşhis metodunun ehemmiyetini bir kere daha ortaya koyar.

Bu güne kadar muhtelif memleketlerde yapılan araştırmalara göre, koyun ve keçilerde, tek bir teşhis metodu ile neticeye varmanın kabil olmadığı anlaşılmıştır. Bilindiği üzere, Brucellosis de keçi ve koyunlardaki teşhis metodları aşağıda hülâsa edilmiştir (1) :

- 1 — Kan serumu ile Tüp Aglutinasyon Reaksiyonu,
- 2 — Plate (Çabuk aglutinasyon) reaksiyonu,
- 3 — Complement - fixasyon reaksiyonu,
- 4 — Flokulasyon reaksiyonu,
- 5 — Anti Globulin reaksiyonu,
- 6 — Allerji reaksiyonu,
- 7 — Ring test,
- 8 — Süt serumu ile aglutinasyon reaksiyonu,
- 9 — Kültür.

Memleketimizde bugüne kadar koyun ve keçi Brucellosisinde tatbik edilen metodlar ve alınan neticeler :

1 — Kan serumu ile tüp aglutinasyon reaksiyonu : Türkiye'de bu usulle koyunlarda Brucellosisin tesbiti ilk defa *Köylüoğlu ve Aktan* (13) tarafından yapılmıştır. *Golem* (9) serolojik olarak yaptığı bir araştırmada koyunların % 13,3 ü ve keçilerin % 50 sinin Brucellayı aglutine ettiğini bildirmiştir. Lâboratuvar kayıtlarımıza göre, 1957 senesi dahil değil, 1960 Temmuz ayı nihayetine kadar, son 7 nendenberi 56377 koyun ve keçi kan serumunun bu metodla yapılan muayenesinde % 2 nisbetinde müsbet ve şüpheli reaksiyon tesbit etmiş bulunmaktayız. Reaktör nisbetini, S. B. Goleme nazaran, az bulmamıza, muayene edilen hayvanların Hara ve Devlet çiftliklerine ait olması sebep gösterilebilir. Bu muayenelerde Etlik ve Pendik enstitülerinde hazırlanmış olan Standart Bru. Tüp. Agg. antijenleri kullanılmıştır. Teknik kendi talimatnamemizde yazılı olduğu şekildedir. Serum dilisyonları 1/25, 1/50, 1/100, olarak hazırlanır. 1 ml. lik serum dilisyonlarına 1 ml. antijen ilâvesiyle 1/50, 1/100 ve 1/200 nisbetleri elde edilmiş olur. Bizim talimatnamede sığırlar için 1/100 ve daha yukarı dilisyonlarda görülen reaksiyonlar müsbet kabul edilmiştir. İnternasyonal Standard Brucella abortus anti-serumuna göre ayarlanmış olan antijenle bir sığır serumu 1/100 dilisyonunda müsbet reaksiyon vermişse bu hayvanın serumunun 1 ml.

sinde takriben 100 internasyonal Brucella anticor ünitesi var demektir. Koyunlar için talimatnamede bir kayıt mevcut olmadığından 1/50 serum + antijen dilisyonunda müsbet bir reaksiyon görüldüğü takdirde bilhassa bulaşık sürülerde hayvan reaktör kabul edilmektedir. Yeni hazırlanmış olan talimatnamede Dr. Stableforth'un metodu aynen kabul edilmiştir. Bu usulde müsbet ve şüpheli kriterler değişiktir. Yürürlüğe girer girmez Türkiye'nin bütün lâboratuvarlarında bu usulle çalışılacaktır (2).

Beşe (6) Devlet üretme çiftlikleriyle, Ankara mezbahasından temin ettiği 479 koyun kan serumunu tüp aglutinasyon testine tâbi tutmuş % 18,7 müsbet % 3,96 şüpheli reaksiyon tesbit etmiştir.

2 — Plate (Çabuk aglutinasyon) aglutinasyon reaksiyonu : Bizde koyun serumlarında bu usulle çalışmalar hakkında sadece Beşe (6) nin neşriyatına rastlanılabilmektedir. Beşe bu mesaisinde, 179 koyun kan serumunda Amerika Ziraat Vekâleti Plate Antijeni ile yaptığı denemelerde % 33,5 müsbet reaksiyon tesbit ettiği halde, tüp aglutinasyonunda müsbet nisbetini % 44,6 olarak bulmuştur. Bu neticeye göre tüp ag. metodu daha hassas demektir.

Erdöl (8) sığır serumlarında yapmış olduğu mukayeseli denemede bu test ile tüp aglutinasyon testi arasında % 96 nisbetinde mutabakat olduğunu bildirmiştir.

3 — Complement - Fixasyon testi : 1942 senesinden beri, bizim lâboratuvarlarımızda bu testin koyun ve keçi serumları için hiç kullanılmadığı mevcut neşriyatdan anlaşılmaktadır. Erdöl (8) nadir olarak sığır serumlarında çalışıldığını bildirmiştir.

Beşe (6) 10 enfekte koyun serumu üzerinde yaptığı Comp. fixasyon testinin allerjik reaksiyon ile yüzde yüz mutabakat göstermiş olmasına mukabil aglutinasyon ile her muayenede paralel sonuç vermediğini bildirmiştir.

4 — Meinicke teamülü : Almanya'da olduğu gibi bazı memleketlerde bu testin kullanılmakta olduğu bildirilmektedir. Azami 45 dakika gibi kısa bir zamanda netice alınan bir test olmasına rağmen, hazırlanması güç bir lipoid antijenine ihtiyaç gösterdiğinden şimdiye kadar bizde ne koyun ne de sığır serumları için kullanılmamıştır.

5 — Allerji reaksiyonu : Vardar ve esin (17) Brucellosis bakımından müsbet, şüpheli ve menfî olan ceman 182 sığır üzerinde yapmış oldukları denemelerde intradermik teamüllerin kan aglutinasyonlarına nisbetle daha iyi işlediğini, lâm üzerinde taze sütle seri

usulde yapılan aglutinasyonların intradermik teamüllere % 2 kadar noksan farkla yaklaştığını bildirmişlerdir.

Golem (10), *Başkaya* (4) kendilerinin hazırlamış oldukları alergenlerle yine sığırlarda yapmış oldukları denemelerde bu testten iyi neticeler aldıklarını, *Aygün* (3) ise insan ve koyunlarda da tatbiki kolay, az yanıtıcı ve çabuk netice alınan bir reaksiyon olduğunu bildirmişlerdir.

Beşe (6) 179 enfekte koyun üzerinde, *Aygün* (3) nün hazırlamış olduğu allergenlerle intradermal zerkler yaptığında % 67,03 nisbetinde müsbet reaksiyon elde ettiği halde aynı hayvanları tüp aglutinasyon reaksiyonu ile muayenesinde % 45,1 müsbet reaksiyon tesbit etmiştir. Bu hale göre koyunlarda allerjik reaksiyonlar tüp aglutinasyonuna nazaran üstün bir kıymettedir.

Beşe (6) kendisinin hazırlamış olduğu K. No : 12 allergenilye enfekte koyunlarda yaptığı denemelerde koyun brucellosisinde intradermo - palpebral allergic reaksiyonların daha bariz şekillenmesinden, allerjik reaksiyon süresinin daha uzun olmasından keza sağlam gözle mukayese ve tatbik sahasının daha müsait, okunmasının daha kolay olması bakımından intradermo - palpebral reaksiyonları intradermal reaksiyonlara tercih edilmesini bildirmiştir. Aynı K. No : 12 allergeni tatbik edilen enfekte koyunların aglutinasyon titrilerinin genel olarak cüzî miktarda arttığını, sağlam koyunlarda allergen tatbikinden mütevellit teşekkül eden aglutininlerin 6 hafta kadar devam ettiğini, 8 inci haftada ise tamamen kaybolduğunu müşahade etmiştir. Bir devlet çiftliğinde hasta olmayan 120 koyun üzerinde yapmış olduğu aglutinasyon ve intradermo - palpebral allerjik denemelerinde, aglutinasyonla % 3,3 müsbet reaksiyon alınmasına mukabil allerjik reaksiyonla % 34,16 enfekte koyun tesbit etmiştir. Bu rakamlara istinat eden çalışmalar bize, koyun brucellosisinde allerjik reaksiyonun kan serumu ile yapılacak araştırmalara faik olduğunu göstermektedir.

6 — Ring Test : *Yalınalp* (18) Bursa ve Balıkesir havalisinde, ayrıca iki Devlet çiftliğinde bulunan koyun; keçi, sığır ve mandalarda Ring test ile yapmış olduğu Brucellosis muayenelerinde enfeksiyonun en ziyade koyunlarda bulunduğunu bildirmiştir.

Durusan (7) ile yaptığımız bir araştırmada Ring testin, inek sütlerinde enfeksiyonu meydana çıkarma nisbetini % 81 olarak tesbit etmiştik.

Memleketimizde mevcut 55 milyon koyun ve keçinin Brucellosis bakımından yapılacak eradikasyonunda, bugün için hayvanların teker teker kan serumlarının muayenelerine imkân olmadığına göre, hiç olmazsa şimdilik sürü muayenelerinin Ring test ile yapılması zarurîdir. Aynı zamanda koyun, keçi sütünün ve bu sütlerden yapılan yiyecek maddelerinin fazla istihlâk edildiği Marmara, Garp ve Cenup mıntakalarımızdaki mandralardan temin edilecek gurup sütlerinin yine Ring testle muayenelerinden elde edilecek rakkamlara, sürü muayenelerinden bulunanların ilâvesiyle Türkiye'de koyun, keçi brucellosisinin nisbeti ve hastalığın intişarı hakkında kısmen olsun bir fikre sahip olmak mümkündür. Üst makamlarca tensip buyurulduğu takdirde, koyun ve keçiler için Brucellosis talimatnamesi hazırlanincaya kadar, lâboratuvarımızda, Kopenhag State Vet. Enstitüsünde Dr. *H. Bendtsen* (5) nın antijen istihsal ve standardize etme tekniğine göre, memlekette geniş mikyasta yapılacak bir araştırmaya yetecek miktarda Ring test antijeni hazırlayıp kısa zamanda pratiğe sevk edebiliriz.

Kopenhag State Vet. Serum Enstitüsünde Dr. *V. Norrung* (15) un orijinal mesaisi de pratikte çalışan veterinerler için çok elverişlidir. Bu da Ring test esasına göre hazırlanmış, çabuk netice alınan kolay bir usuldür. Cepte taşınabilecek kadar ufak, band şeklinde yapıştırılmış sellofon kâğıtlarını havi kartların üzerindeki kuru Tetrazolumlu Ring test antijeniyle birer damla tuzlu su ve muayene edilecek serum bir kürdan parçasıyla karıştırıldığında reaksiyon bir dakikada teşekkül etmektedir.

7 — Süt serumu ile aglutinasyon reaksiyonu: *Golem* (10) yaptığı denemelerde kan serumu aglutinasyonlarının süt serumu ile yapılan aglutinasyonlara nazaran daha üstün kıymette olduğunu tesbit etmiştir.

Kan serumu ile yapılan aglutinasyonlardan Zone fenomeni dolayısıyla bir karara varamamış olduğumuz bazı koyun ve ineklere ait sütleri hem laktosero tüp aglutinasyonu ile hem de Weybridge Enstitüsünden Dr. *B. Morgan* (14) nın metodu ile denemiş her iki reaksiyonun aynı neticeyi verdiğini ve bu hayvanların enfekte olduklarını tesbit etmiştik.

8 — Kültür muayeneleri: Bizde *Berke*, *Özcebe*, *Erdöl*, *Golem* (11) koyun, keçi ve sığırlardan *Brucella* organizmlerini ilk izole edenlerdir.

Son seneler içinde, lâboratuvarımız kayıtlarına göre atık koyun ceninlerinden 25, koyun sütünden 4 Br. Melitensis, inek ceninlerinden 50 Br. Abortus, inek sütünden 5 Br. Abortus, keçi cenininden 1 Br. Melitensis, manda cenininden 1 Br. Abortus olmak üzere ceman 86 brucella organizmi izole etmiş bulunuyoruz. Bu güne kadar koyunlardan hiç Brucella abortus izole etmemiş olmamıza mukabil iki inek cenininden Br. Melitensis suşu ayırdık. Bu 86 Brucella suşunun izolasyonunda kullandığımız vasat % 1 dextrozu, % 10 beygir serumunu havi tryptoz agardır. Süt ve kirli marazi maddelerin ekimlerinde bu vasata nihaî konsantrasyon 1/700000 olacak miktarda kristal viole ilâve edilmiş vasatı da kullanmaktayız. Carbon dioxyde nisbeti volumetrik olarak % 10 dur. Senelerdir lâboratuvarlarımızda âlet ve bilhassa kimyevî materyal bakımından sıkıntı içinde olduğumuzdan, her gün değişen literatür bilgisine ayak uydurarak, günlük muayenelerde çeşitli vasat'ar kullanmak imkânını maalesef henüz bulmuş değiliz. Bununla beraber ananın kan serumu müsbet veya şüpheli olupta, atık cenine ait marazi materyalden Brucella organizmlerini izole etmediğimiz vaka mevcut olmadığına göre bu vasatın kullanılmasına devamda bir mahzur görmemekteyiz.

Beşe (6) 179 enfekte koyundan 8 Br. Melitensis suşu izole ettiğini bildirmiştir.

9 — Oponocytophajik test : Beşe (6) 189 koyunda yaptığı deneylerde % 7,4 nisbetinde müsbet reaksiyon bulduğunu, bu testin koyun Brucellosisinde yardımcı bir teşhis vasıtası olamayacağını bildirmiştir.

10 — Koyunlarda Vaginal mucus aglutinasyon testi : Memleketimizde koyun Brucellosisinde yapılan en yeni mesai, *Keskintepe* (12) nin doktora tezidir. Keskintepe, koyun Brucellosisinde hastalık genital organlara yerleştiği zaman bu organ hücrelerinin yüksek titrede aglutinin husule getirdiklerini bu anticorların kısa bir müddet ve düşük titrede kan sirkülasyonunda bulunduğunu, keza kan serumunda teşekkül eden anticorların da vagen ve uterusu kısa müddetle yine düşük titrede geçtiklerini bildirmiştir. Araştırmacı kan serumu ile yapılan tüp ag. reaksiyonunda menfi olarak tesbit edilen 136 baş sıkıt yapmış koyunun vaginal - mucus testinde % 8,1 nisbetinde müsbet ve % 2,2 nisbetinde şüpheli reaksiyon tesbit etmiştir. Bu sebepten koyun sürülerinde tatbik edilecek Brucellosise reaksiyonunda kan serumu ile yapılacak tüp - Ag. reaksiyonları ile birlikte muhakkak surette Mucuz aglutinasyon testinin de yapılmasının uygun olacağını bildirmiştir. Keskintepe'nin bu mesaisine istinaden Devlet çiftliklerindeki koyun sürülerinde her iki testin birlikte kul-

lanılması külfetli olacağından, hastalığın ilk devirlerindeki reaktörleri yakalamak bakımından önce kan serumu ile aglutinasyon testinin yapılmasının; müsbet ve şüpheliler elimine edildikten sonra menfî olarak ayrılmış olan koyunların birde mucuz aglutinasyon testine tâbi tutulmasının isabetli olacağı düşünülebilir.

II — Serolojik testlerde kullanılacak tuzlu suyun konsantrasyonu : *Durusan* (7) ile yaptığımız bir araştırmada 401 inek serumunun tüp - ag. testinde % 2 nisbetinde Zone fenomeni tesbit etmiştik. Koyun serumlarında da rastladığımız bu hâdisede *Renoux* (16) nun tavsiye ettiği % 5 nisbetindeki tuzlu su kullandığımızda iyi neticeler almıştık.

Beşe (6) 320 koyun serumu üzerinde muhtelif tuzlu su konsantrasyonlarıyla yaptığı mukayeseli aglutinasyon denemelerinde en iyi sonuçları % 6 tuzlu su ile aldığını bildirmiştir. Koyun sürülerinde Brucellosis bakımından yapılacak araştırmalarda önce % 6 lık tuzlu su ile kan serumu aglutinasyonu reaksiyonunun, sonrada allerjik testin tatbik edilmesini ikinci kan muayenesinin ise allergen tatbik edildiğinden 2 ay sonra yapılmasının cap ettiğini bildirmektedir.