



# Aksaray Üniversitesi

## TIP BİLİMLERİ

### DERGİSİ



Aksaray University Journal of Medical Sciences

Journal homepage: [www.asujms.com](http://www.asujms.com)

Aksaray, Türkiye

*Araştırma Makalesi/Research Article*

## TOKAT İLİ ÇEVRE KÖYLERİNDEN ELDE EDİLEN SÜTLERDE BRUCELLA CİNSİ BAKTERİLERİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

### INVESTIGATION OF BRUCELLA TYPE BACTERIA IN MILK FROM TOKAT PROVINCE VILLAGES

HÜSNİYE RÜSTEMOĞLU<sup>1,\*</sup>, İSA KARAMAN<sup>2</sup>, AYDIN RÜSTEMOĞLU<sup>3</sup>

1-Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye; 2-Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Tokat, Türkiye; 3-Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Aksaray, Türkiye

**Geliş Tarihi:** 27.01.2020; **Kabul Tarihi:** 24.05.2020; **Yayın Tarihi:** 30.05.2020

#### ÖZET

Brucelloz, Brucella cinsi bakterilerin neden olduğu en sık görülen zoonotik hastalıklardan biridir. Hastalık sığır, koyun, keçi, köpek ve domuz gibi memeli hayvanların dişilerinde genital organlarına yerleşerek yavru atma, infertilite, mastitis, erken doğum, plasenta retensiyonu ve metritis; erkeklerde ise orşitise (erbezi iltihabı) neden olur. Bu çalışmada, Tokat ili ve ilçelerine ait köylerden toplanan sütlerde Brucelloz etmeninin prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla 161 inek, 58 koyun ve 33 keçi sütü örneklerinde Brucelloz etmeni Milk Ring Test (MRT) ve direkt ekim yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 161 inek sütünden 24'ü, 58 koyun sütünden 20'si ve 33 keçi sütünden 5'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. Toplamda 252 adet çiğ süt örneğinden 49 adedinin, yani % 19.41'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. MRT'si pozitif olan 49 örnekten yapılan kültür sonrası 2 adet süt örneğinden Brucella melitensis biyotip 3 izole edilebilmiştir. Brucella izole edilen 2 süt örneğinin de aynı sürüden 2 farklı koyuna ait olduğu belirlenmiştir. Böylece tüm çalışılan örneklerin % 0.79'unda, MRT pozitif çıkan örneklerin % 4.08'inde ve koyun sütü örneklerinin % 3.45'inde Brucella etkeni izole edilmiştir.

Tokat ili ve ilçelerine ait köy ve kasabalardan toplanan sütlerle yapılmış ilk çalışma özelliğinde olan araştırmamız sonucunda örneklerin % 19.41 'inde MRT sonucu pozitif bulunmuş, % 0.79'unda ise etmen direkt ekim yöntemiyle izole edilmiştir. Böylece, bu çalışmayla Tokat ili ve ilçelerindeki hayvanlarda belirli oranda Brucella etmeninin var olduğu belirlenmiş ve süt ürünlerinin Brucelloz bakımından risk oluşturabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Brucella, Süt, MRT, Tokat

#### ABSTRACT

Brucellosis is one of the most common zoonotic diseases caused by Brucella. The disease is located genital organs in the females of mammals such as cattle, sheep, goats, dogs and pigs and cause to infertility, mastitis, preterm birth, placenta retention and metritis; in men it causes orchitis (gonorrhoea inflammation). The bacteria can also spread from animals to humans and cause disease in humans. The aim of this study was to determine the prevalence of Brucellosis in milk collected from villages of Tokat province and districts.

For this purpose, 161 cows, 58 sheep and 33 goat milk samples were investigated by Brucellosis agent with Milk Ring Test (MRT) and direct sowing method. At the end of the study, 24 of 161 cow's milk, 20 of 58 sheep's milk and 5 of 33 goat's milk were found to be positive by MRT. Of the 252 raw milk samples, 49 (n = 19.41%) were positive for MRT. Brucella melitensis biotype 3 were isolated from the 2 milk samples after the culturing from 49 samples with positive MRT. It was determined that 2 milk samples isolated from Brucea belong to 2 different sheep from the same herd. Thus, Brucella was isolated in 0.79% of all studied samples, 4.08% of MRT positive samples and 3.45% of sheep milk samples.

As a result of our first study with milk collected from the villages and towns of Tokat province and districts, 19.41% of the samples were positive for MRT and 0.79% of the samples were isolated by direct planting method. Thus, in this study, it was determined that there is a certain amount of Brucella agent in Tokat province and its districts and it shows that dairy products may pose a risk for Brucellosis.

**Key Words:** Brucella, Milk, MRT, Tokat

\*Sorumlu Yazar: HÜSNİYE RÜSTEMOĞLU İletişim Adresi: Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye  
e-mail: [hakkanat2009@hotmail.com](mailto:hakkanat2009@hotmail.com) ORCID: 0000-0002-3143-5475

## Giriş

Brucella cinsi bakteriler 0.6 µm eninde, 1.5 µm boyunda, küçük, Gram negatif boyanan, hücre içi parazitidirler. Bruselloz olarak adlandırılan zoonotik hastalığa neden olurlar (1,2). Bruselloz hastalığı ilk kez Epidemics adlı eserinde Hippocrates (M.Ö. 450) tarafından "humma" olarak tanımlanmıştır (3,4). Brucella infeksiyonları için günümüze kadar değişik isimler kullanılmıştır. Hastalık ilk kez Malta Adası'nda saptandığından "Malta Humması" veya "Akdeniz Humması"; tipik ateşi nedeniyle "Dalgalı Humma" (Ondülan Ateş), koyunlardan insanlara bulaşması nedeniyle halk arasında "Koyun Hastalığı" veya "Mal Hastalığı" olarak adlandırılmıştır (3,5).

Hastalık siğir, koyun, keçi, köpek ve domuz gibi memeli hayvanların dişilerinde genital organlarına yerleşerek yavru atma, infertilite, mastitis, erken doğum, plasenta retensiyonu ve metritis; erkeklerde ise orşitise (erbezilihtihabı) neden olur. Her iki cinste de özellikle diz eklemlerinde artrite neden olur (6). Bu enfeksiyon etkenleri, sadece hayvan sağlığını zarara uğratmak ve ekonomik kayıp oluşturmakla kalmayıp insan sağlığını da tehdit eder (7).

Bruselloz, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı (OIE) tarafından dünyada en yaygın zoonoz olarak kabul edilmektedir. Dünyada birçok ülkede bruselloz ile mücadele kampanyaları başlatılmış ve birkaç ülkenin siğir brusellozunu büyük ölçüde yok etmeyi başarmış olmasına karşın, koyun ve keçi brusellozu ise başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir şekilde devam etmektedir. Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ülkeleri, Avustralya ve Yeni Zelanda'da yıllar süren yoğun çabalarla bruselloz büyük ölçüde eradike edilmiştir. Buna karşın bazı Güney Avrupa ülkelerinde, özellikle Akdeniz Bölgesi, Orta Doğu, Batı Asya'nın gelişmekte olan ülkelerinde, Hint Yarımadası, Afrika, Orta ve Güney Amerika'nın bir kısmında insan ve hayvanlarda yaygınlığını sürdürmektedir. Akdeniz ülkelerinde ise bu enfeksiyon bir çok hastalık arasında ön sırada yer almaktadır. Türkiye'de ise hayvan bruselloz prevalansı siğir popülasyonunda %1.43, koyun popülasyonunda %1.97 olarak tespit edilmiştir (8).

Akdeniz ve Orta Doğu ülkelerinde insanlarda yıllık bruselloz görülme sıklığı her 100.000 kişide 1-78 vaka arasında değişmektedir. Ancak hastalığın yaygın olduğu ve hayvanlarda kontrol programları uygulanmayan bölgelerde 550'nin üzerinde vaka bildirilmiştir. Hayvanlarda kontrol tedbirlerinin zorunlu olduğu bazı Güney Avrupa ülkelerinin bir kısım topluluklarında 100.000 kişide 77 vaka bildirilmiştir. Dünya'da 100 ülkeden yılda 500.000'in üzerinde bruselloz vakası bildirilmektedir (4).

İnsan brusellozu birçok ülkede bildiri zorunlu bir hastalık olmasına rağmen, resmi rakamlar gerçek enfekte insan sayısını yansıtmamaktadır. Vakaların bildirilenden 10-25 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Bunun başlıca nedeni vakaların çoğunlukla doğru teşhis edilememesidir (4).

İnsanlarda hastalık, ortalama olarak iki-üç hafta süren kuluçka döneminden sonra, dalgalı seyir gösteren bir ateş, özellikle geceleri olan terleme, eklem ağrıları, iştahsızlık, bitkinlik, halsizlik, kilo kaybı, baş ağrısı gibi özgül olmayan belirtilerle ortaya çıkar (9).

Bruselloz daha çok kırsal kesimde, hayvancılıkla uğraşanlarda, mezbaha işçilerinde, kasaplarda,

veterinerlerde ve laboratuvar çalışanlarında görülmektedir. Ayrıca çiğ süt içme ve kaynatılmamış süttten yapılan taze peyniri yeme alışkanlıkları olanlarda da görülmektedir (9).

Bu çalışmanın amacı, Tokat ili ve ilçelerine bağlı köylerden toplanan çiğ koyun, keçi ve inek sütlerinde Brucella bakterisine karşı oluşan antikorların varlığının Milk Ring Test (MRT) ile tespiti ve direkt ekim yöntemiyle de bakteriy izolasyonun yapılmasıdır.

## Materiyal ve Yöntem

Çalışmamızda Tokat iline bağlı 18 farklı köy ve ilçelerinden toplanan 161 adet inek sütü, 58 adet koyun sütü ve 33 adet keçi sütünde olmak üzere toplam 252 adet örnekte Brucella cinsi bakteriler aranmıştır. Örneklerin özellikle Brucella aşısı olmamış hayvanlardan toplanmasına dikkat edilmiş, ancak hayvan sahiplerinin bu konuda yeterince bilgi sahibi olmamasından dolayı kesin tespit yapılamamıştır. Koyun, keçi ve inek sütleri Tokat iline bağlı 18 farklı köy ve kasabadan toplanmıştır.

Süt örneklerinden yaklaşık 50'er ml örnek steril ağız kapalı plastik kaplara alınmıştır. Süt sağımı hayvanın her bir memesinden olacak şekilde steril kap içerisine yapılmış ve kapların ağızı hemen kapatılmıştır. Örnekler buz çantalarında soğuk zincir korunarak aynı gün içerisinde Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. İnek, koyun ve keçiden alınan süt örnekleri MRT'de yalnızca pozitif reaksiyon vermemesi için analize alınmadan önce buzdolabında 48-72 saat bekletilmiştir.

Brucella MRT antijeni Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden, Brucella kontrol suşu ise Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Süt örneklerinde Brucella izolasyonunda ticari firmalardan sağlanan seçici besiyeri, üretilen bakterilerin kesin tanısında Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen Polivalan Brucella antiserumu, ticari firmalardan sağlanan Katalaz, Oksidaz ayırıcı, kurşun asetat kâğıdı ve üre besiyeri kullanılmıştır.

Daha önce steril şartlarda steril kaplara alınan ve buzdolabında 24-48 saat saklanan her bir süt örneği iyice karıştırılarak homojenize edilmiştir. Her bir süt örneğinden ayrı ayrı 1'er ml alınarak ince test tüplerine (11\*100 mm) konmuştur. Üzerlerine 1'er damla Milk Ring Test Antijeni damlatılmıştır. Test tüplerinin kapakları kapatılarak köpürtmeden birkaç defa alt üst edilmiştir. 1 dakika bekleyip antijenin karışıp karışmadığı kontrol edilmiş ve 37 °C'lik etüvde koyun ve keçi sütleri 3 saat, siğir sütleri 1 saat inkübe edilmiştir. Bu sürelerin sonunda pozitif sonuç veren örneklerden Brucella agar besiyerlerine çiftli ekimler yapılmıştır. Ekim yapılmış Brucella agarlardan biri aerob ortamda inkübe edilirken diğeri %5-10'luk CO<sub>2</sub> 'li etüvde 37 °C'de inkübe edilmiştir. Beşinci günün sonunda etüvden çıkarılan besiyerleri incelenmiştir. Ekimi yapılan toplam 49 adet örnekten 2'sinde Brucella'lara uyan kolonilerin olduğu gözlemlenmiştir. Şüpheli kolonilerden öze ile alınarak preparat hazırlanmış ve gram boyama yapılarak mikroskopla incelenmiştir.

Pendik Veterinerlik'ten temin edilen polivalan Brucella antiserumundan lam üzerine bir damla damlatılmış ve şüpheli kolonilerden bir öze dolusu alınarak damlatılmış

olan antiserum ile homojen hale gelinceye kadar karıştırılmıştır. Daha sonra lam elde rotasyona tabi tutulmuş ve her ikisinde de aglütinasyon meydana geldiği görülmüştür. Gram boyama sonucunda Brucella bakterilerinin görünümüne uyan ve yapılan aglütinasyon testi pozitif olan bu iki örneğe katalaz ve oksidaz testleri uygulanmış ve pozitif sonuç alınmıştır.

Şüpheli kolonilerden Christensen's Üre Agar besiyerlerinin yüzeylerine ve dip kısımlarına iğne öze ile her iki izolattan ikiyeşerli ekim yapılmıştır. Ekim yapılmış üre agarlardan biri aerob ortamda inkübe edilirken diğeri %5-10'luk CO<sub>2</sub> 'li ortamda 37°C'de inkübe edilmiştir. Yapılan her iki ekimden de pozitif sonuç alınmıştır. Diğer bir ifadeyle tüplerde kırmızı rengin oluşması pozitif, sarı renkte kalması negatif olarak kabul edilmiştir. Aynı kolonilerden içerisinde Brucella agar bulunan tüplere ekim yapılmış ve tüplerin içerisine sarkacak fakat besiyerine değmeyecek şekilde kurşun asetat kağıtları sarkıtılmıştır. Besiyerleri hergün kontrol edilerek kurşun asetatlı kağıt şeritlerde siyahlanma olup olmadığı gözlenmiştir. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilen Brucella suşu çalışmalarını her aşamasında kontrol mikroorganizma olarak kullanılmıştır. Hazırlanan besiyerleri ve ayıraçlar bu suşlar ile denenmiştir.

Çalışmamızdaki şüpheli suşlar ileri identifikasyon ve tiplendirme amacıyla Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşıları Üretim Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Bunun yanısıra, herhangi bir hatayı önlemek amacıyla Milk Ring Test'i pozitif olup üreme elde edilemeyen süt örnekleri de Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşıları Üretim Laboratuvarı'na gönderilmiştir

### Bulgular

Çalışmaya dahil edilen bütün örneklere Milk Ring Testi uygulanmıştır. 252 adet süt örneğinden toplam 49 adedinin Milk Ring Test sonucu pozitif olarak bulunmuştur. Bunlardan 24'ü (%48.98) inek, 20'si (%40.82) koyun ve 5'i (%10.2) keçi sütü örneklerinde bulunmuştur. Her türe kendi içerisinde değerlendirme yaptığımızda tüm inek sütü örneklerinin %14.91'i, koyun sütü örneklerinin %34.48'i ve keçi sütü örneklerinin %15.15'i pozitif olarak tespit edilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** MRT pozitif süt örneklerinin yüzde olarak oranları

Süt örnekleri	Örnek sayısı	MRT pozitif örnek sayısı	Yüzde (%)
İnek sütü	161	24	% 14.91
Koyun sütü	58	20	% 34.48
Keçi sütü	33	5	% 15.15
TOPLAM	252	49	% 19.44

Milk Ring Testi pozitif olan numunelerden Brucella Agar besiyerine çiftli ekimler yapılmıştır. Ekimi yapılan 49 adet süt örneğinden 2'sinde (46 ve 48 no'lu örneklerde) Brucella cinsi bakterilerin koloni morfolojisine uygun kolonilerin oluştuğu tespit edilmiştir (Şekil 3.3). Koloni oluşumu

gözlenen her iki süt örneğinin de koyun sütü olduğu belirlenmiştir. İzole edilen şüpheli suşlar ekim yapılan iki ortamda da, %5-10'luk CO<sub>2</sub>'li ortamda da aerobik ortamda da üremiştir. Ancak aerobik ortamda % 5-10'luk ortama göre daha çabuk ve daha iyi üreme elde edilmiştir.

Toplanan örneklerin Brucella pozitif çıkan örneklerin numaraları, toplandıkları yer, MRT sonuçları, Brucella agarda üreme durumları, ait oldukları hayvanların cinsi ve abort bilgileri Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** MRT (+) örneklerin toplandıkları yer, Brucella agarda üreme durumları, ait oldukları hayvanların cinsi ve abort bilgileri

Örnek no	Örnek Alındığı Yer	Hayvan Türü	Abort Bilgileri	MRT Sonucu	Agarda Üreme
16	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	Pozitif	-
21	Avlunlar Kasabası	Koyun	-	Pozitif	-
42	Ballidere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
44	Ballidere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
45	Ballidere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
46	Bakımlı Köyü	Koyun	+	Pozitif	+
48	Bakımlı Köyü	Koyun	+	Pozitif	+
52	Ballidere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
64	Ballidere Köyü	İnek	-	Pozitif	-
70	Döllük Köyü	İnek	-	Pozitif	-
85	Çöreği Büyük Köyü	İnek	-	Pozitif	-
96	Keşlik Köyü	İnek	-	Pozitif	-
97	Keşlik Köyü	İnek	-	Pozitif	-
104	Tahtoba Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
111	Tahtoba Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
132	Şehitler Köyü	İnek	-	Pozitif	-
135	Şehitler Köyü	İnek	-	Pozitif	-
150	Şenyurt Kasabası	İnek	-	Pozitif	-
151	Şenyurt Kasabası	İnek	-	Pozitif	-
153	Yıldıztepe(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
155	Yıldıztepe(Zile)	İnek	-	Pozitif	-
157	Evren Köyü(Zile)	Keçi	-	Pozitif	-
158	Evren Köyü(Zile)	Keçi	-	Pozitif	-
159	Evren Köyü(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
160	Evren Köyü(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
161	Evren Köyü(Zile)	Koyun	-	Pozitif	-
163	Evren Köyü(Zile)	İnek	-	Pozitif	-
165	Bozatalan Köyü	İnek	-	Pozitif	-
169	Bozatalan Köyü	İnek	-	Pozitif	-
171	Bozatalan Köyü	İnek	-	Pozitif	-
172	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
174	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
182	Eski Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
185	Eski Köyü	Keçi	-	Pozitif	-
186	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
187	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
188	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
190	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
191	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
192	Bozatalan Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
197	Kömeç Köyü	İnek	-	Pozitif	-
200	Kömeç Köyü	İnek	-	Pozitif	-
208	Kömeç Köyü	İnek	-	Pozitif	-
211	Kömeç Köyü	Koyun	-	Pozitif	-
219	Tahtoba Köyü	İnek	-	Pozitif	-
220	Tahtoba Köyü	Keçi	-	Pozitif	-
221	Tahtoba Köyü	Keçi	-	Pozitif	-
231	Tahtoba Köyü	İnek	+	Pozitif	-
244	Tahtoba Köyü	İnek	-	Pozitif	-

Şüpheli kolonilerden ve standart Brucella suşlarından hazırlanan Gram boyama preparatlarının incelenmesi sonucu, şüpheli kolonilerin mikroskopik morfolojilerinin standart suşlardan hazırlanan Gram boyalı preparatlarda olduğu gibi gram negatif küçük kokobasiller şeklinde olduğu gözlenmiştir.

Şüpheli kolonilere Brucella bakterilerine ait olup olmadığını anlamak için polivalan antiserumlarla aglütinasyon, oksidaz, katalaz, üreaz, H<sub>2</sub>S deneyleri yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda şüpheli izolatların ikisinin de polivalan antiserumla pozitif sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Oksidaz, üreaz ve katalaz deneyleri de pozitif olarak değerlendirilmiştir. H<sub>2</sub>S testi sonucunda 48 nolu örneğin kurşun asetat kağıdında çok az siyahlanma oluşturduğu, 46 nolu örneğin ise herhangi bir değişiklik oluşturmadığı görülmüştür.

Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşıları Üretim Laboratuvarı'nda da yapılan tetkikler sonucunda, üreme elde edilen her iki süt örneğinde de Brucella melitensis biyotip 3 suşunun var olduğu kesin olarak tespit edilmiştir. Böylece çalışılan tüm süt örneklerinin % 0.79'unda, koyun süt örneklerinin %3.45'inde Brucella varlığı tespit edilmiştir.

Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşıları Laboratuvarı'nda elde edilen veriler Tablo 3' de verilmiştir.

**Tablo 3.** Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Brucella Aşıları Laboratuvarı'ndan elde edilen veriler

izolat no	46	48
Oksidaz	+	+
Katalaz	+	+
H <sub>2</sub> S Aktivitesi	-	-
Üreaz	+	+
CO <sub>2</sub> ihtiyacı	-	-
Thionin (20mg/ml)	+	+
Bazik fuksin (20 mg/ml)	+	+
A antiserum ile aglütinasyon	+	+
M antiserumu ile aglütinasyon	+	+
Tb fajı ile lizis	-	-
Penisilin (5 IU)	+	+
Streptomisin (2,5 mg/ml)	-	-
Safranin (100 mg/ml)	+	+
i-eritritol (1 mg/ml)	+	+
Sonuç	<i>B. melitensis</i> biyotip 3	<i>B. melitensis</i> biyotip 3

## Tartışma ve Sonuç

Tokat ilinde yapılan bu çalışmada 161 inek sütünden 24'ü, 58 koyun sütünden 20'si ve 33 keçi sütünden 5'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. Böylece, inek sütü örneklerinin %14.91'i, koyun sütü örneklerinin %34.48'i ve keçi sütü örneklerinin de %15.15'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur. Toplamda 252 adet çiğ süt örneğinden 49

adedinin, yani %19.41'inin MRT sonucu pozitif bulunmuştur.

Benzer bir çalışmada Güllüce ve Leloğlu (1996), Kars bölgesinden topladıkları 712 inek sütü örneğinin 401'inde Milk Ring Test ile %56.32 oranında Brucella abortus antikorunu pozitif bulmuşlardır (10). Diğer bir çalışmada ise Uraz ve Yücel (1998), 211 çiğ süt örneğinde yaptıkları çalışmada Milk Ring Test sonucu örneklerin 32'sinde %15.16 oranında Brucella antikorunu pozitif olarak bulmuşlardır (11). Alpar ve Tunus (1967), Ankara ve civarından temin ettikleri 31 inek sütü ve 9 karışık süt örneği olmak üzere toplam 40 örnekte MRT ile % 8.7 oranında Brucella antikorunu tespit etmişlerdir (12). Abbasoğlu (1988), ise Ankara'nın farklı semtlerinden temin ettiği 32 adet çiğ süt ve 100 adet pastörize şişe ve paket süt örneğinde yaptığı çalışmada pastörize şişe ve paket sütlerde Brucella antikorunu bulamazken 32 adet çiğ süt örneğinden 1'inde MRT ile Brucella antikorunu izole etmiştir (13). Yine başka bir çalışmada Kenar ve Altındış (2001), Afyon bölgesinden topladıkları 120 süt örneğinde yaptıkları Aglütinasyon testi ve Ring testi sonucunda 6 örnekte %5 oranında Brucella antikorunu bulmuşlardır (14). Bizim elde ettiğimiz oran Güllüce ve Leloğlu (1996) tarafından yapılan çalışmadan daha düşük, diğer çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur (10). Bunun sebebi, bölgelere göre hayvanlarda Brucella görülme sıklığını ve aşılama oranlarının farklılığı olabilir.

Yukarıda verdiğimiz değerlerden de anlaşıldığı gibi, çalışmamız sonucunda özellikle koyun sütlerinde pozitiflik oransal olarak (%34.48) daha yüksek çıkmıştır. Türütöğlü ve ark.,(2003) Burdur ve çevresinde yaptıkları çalışmada 404 inek sütü örneğinin 12'sinde (%3) ve 226 koyun sütü örneğinin 40'ında (%17.7) MRT sonucunu pozitif bulmuşlardır (15). Bu çalışmada elde edilen pozitif değerlerin oranı bizim çalışmaya nazaran daha düşük çıksa da, koyun sütlerinde pozitifliğin daha yüksek olması bakımından bizim sonuçlarla uyum gösterdiği görülmektedir. Koyunlarda pozitifliğin fazla çıkmasının nedeni, siğir brusellozunun büyük ölçüde eradiye edilmiş olmasına karşın, koyun ve keçi brusellozunun başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere dünyanın birçok yerinde halen yaygın bir şekilde devam etmesi olabilir.

Araştırmamızın devamında, MRT'si pozitif olan 49 örnekten yapılan kültür sonrası 2 adet süt örneğinden Brucella izole edilebilmiştir. Brucella izole edilen 2 süt örneği de aynı sürüden 2 farklı koyuna aittir. Böylece, tüm çalışılan örneklerin % 0.79'undan, MRT pozitif çıkan örneklerin % 4.08'inden ve koyun sütü örneklerinin % 3.45'inden Brucella etkeni izole edilmiştir. Doğrulama ve tiplendirme amacıyla Pendik Veterinerliğe göndermiş olduğumuz MRT pozitif süt örnekleriyle yapılan çalışmanın sonucu da bizimkiyle aynı çıkmıştır. Pendik Veterinerliğinin yaptığı araştırmalar sonucunda da MRT pozitif süt örneklerinin ikisinde Brucella izole edilebilmiştir. Bu iki örnek bizim de izole ettiğimiz iki koyun sütüyle aynıdır.

49 örnekten geriye kalan 47 örneğin MRT'si pozitif olduğu halde izolasyonun gerçekleştirilememesinin nedeni olarak şunlar akla gelmektedir.

1-Örnek toplama işlemleri esnasında hayvan sahiplerinin hastalık ve bu hastalığa ait aşılama hakkında yeterli bilgiye sahip olmamaları sebebiyle yeterli anamnezin yapılamamış olması, hayvanların Brucella aşısıyla aşılanmış olabileme ihtimali düşünülebilir. Çünkü hayvan sahipleri hayvanlarının aşılandığını ancak ne amaçla ve ne aşısıyla aşılandıklarını bilmemektedirler.

2-Aynı hayvanlardan belirli aralıklarla süt örneği alınmamış olması izolasyon yapılamamasının diğer bir ihtimali olabilir. Çünkü etkenin sütte her zaman bulunmadığı, aralıklı olarak sütle çıktığı birçok kaynakta görülmektedir (16,17).

Benzer şekilde Türütoğlu ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada MRT'si pozitif çıkan 52 süt örneğinin hiçbirinden Brucella etmenini izole edememişlerdir (15). Mersin'de yapılan bir çalışmada 240 inek, 122 koyun, 95 keçi sütü örneği direk ekim yöntemiyle araştırılmış ve bir inek sütü örneğinden B. melitensis etmeni izole etmişlerdir (4). B. melitensis'in primer olarak koyun ve keçileri enfekte ettiği bilinmesine karşın bu çalışmada inek sütünden izole edilen suş B. melitensis olarak tiplendirilmiştir. Kimi çalışmalarda enfekte keçi veya koyunlarla temas halinde olan ineklerin de B. melitensis ile enfekte olabileceği bildirilmiştir (Koneman ve ark., 2006). Nitekim bu çalışmada pozitiflik saptanan ineğin sahibinin aynı zamanda keçi de beslediği bildirilmiştir (4).

Bizim çalışmamızda izole edilen her iki etmenin B. melitensis tip III olduğu Pendik Veterinerlik tarafından yapılan tiplendirme sonucunda anlaşılmıştır. Bu sonuç yukarıda belirttiğimiz bilgiyle, yani dünyada koyun brusellozunun ve buna bağlı olarak B. melitensis türünün eradike edilememesi bilgisiyle uyusmaktadır.

İzole edilen her iki örneğinde aynı sürüden 2 farklı koyuna ait olması akla hemen hayvandan hayvana bulaşı getirmektedir. Bu durumda aynı ağılda yaşayan ve aynı merada otlayan diğer küçükbaş, büyükbaş ve hatta çoban köpekleri gibi diğer pek çok hayvan ve bu hayvanların sahipleri çok ciddi risk altındadırlar. Bundan dolayı hayvan sahiplerinin konunun ciddiyeti hakkında bilinçlendirilmeleri ve ne yapmaları konusunda da bilgilendirilmeleri esastır. Bruselloz hastalığının eradike edilebilmesi için yapılması gereken en önemli çalışmalardan birisi bulaşmanın önüne geçebilmektir. Bu da halkın bilinçlendirilmesiyle doğru orantılıdır. Zira aksi takdirde hastalığın yayılması ve artması kaçınılmazdır.

Yaptığımız çalışmanın örnek toplama aşamasında hayvan sahiplerinin Bruselloz hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıkları görülmüştür. Ayrıca peynir yapımı esnasında sütlerin kaynatılmadan mayalandığı bilgisi de bu çalışmanın örnek toplama sürecinde hayvan sahiplerinden edinilmiştir. Bu durumda enfekte sütlerden kaynatılmadan hazırlanan peynir ve diğer bazı ürünlerde de bu bakterinin varlığı söz

konusudur. Bu konuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bunlardan bazıları Ataş (2006), Güllüce ve ark. (2003), Buğdaycı (2003), Sancak ve ark. (1993)'nin yapmış oldukları çalışmalardır (19,20,21,22).

Bu çalışmada, Tokat ili ve ilçelerine ait köylerden, çeşitli hayvan besiciliği ile uğraşan köylülerin inek, koyun ve keçi sütlerinde Brucella etmeni MRT ve direkt ekim yöntemi ile araştırılmıştır. Süt örneklerinin hayvanlardan birinci elden toplandığı ve sütle yapılan çalışma literatürde çok fazla bulunmamaktadır. Diğer taraftan çalışmamız, hayvancılığın oldukça yaygın olduğu Tokat ilinde bu konuda yapılan ilk çalışma özelliği taşımakta ve bu bakımından da önem kazanmaktadır.

### **Kaynaklar**

1. Corbel, MJ. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis, 1997;3:213-221.
2. Keskin, D, Atay O, Kırcan Ş, Gökdağ Ö, Tekbıyık S., et al 2009. Detection of Brucella melitensis in Milk of Hair Goat (Capra hircus) by Polymerase Chain Reaction (PCR). Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2009;15(2):255-259.
3. Arslan, F. Brucella Suşlarında Antibiyotik Duyarlılıklarının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar. 2006. Tıpta Uzmanlık Tezi.
4. Aydın FE. Süt ve Süt Ürünlerinde Brucella Cinsi Bakterilerin Araştırılması. Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin. 2007. Yüksek Lisans Tezi.
5. Serttaş B. Isparta İli ve İlçelerinde Çiğ Sütlerde Brucella abortus'a Karşı Oluşturulan Antikorların ELİSA ve Ring Testi ile Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta.2006. Yüksek Lisans Tezi.
6. Abdelkareem AA, İkiz S, Ak S. Trakya Yöresinde Yetiştirilen Sığırların Sütlerinde Brucella Türlerinin Varlığının Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırılması Olarak Araştırılması. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. 37 (1), 23-33, 2011
7. Parın U. Sığırlarda Brucella ve Leptospira Türlerinin Multiplex Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Tanımlanması. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın. 2008. Yüksek Lisans Tezi.
8. İyisan AS, Akmaz Ö, Gökçen Düzgün S, Ersoy Y, Eskizmirli S. et al. 2000. Türkiye'de Sığır ve koyunlarda Brucellosis'in Seroepidemiolojisi. Pendik Vet. Mikrobiyoloji Dergisi. 2000;31(1):21-75.
9. Peker E, Doğan M, Albayram S, Bektaş MS, Öner AF Brusellozda Akciğer Tutulumu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Selçuk Tıp Dergisi, 2010;26(2):57-59.
10. Güllüce M, Leloğlu N. Kars ve Çevresinde Süt Sığırlarında, Brucella abortus'a Karşı Oluşan Antikorların ELISA ve MRT ile saptanması, sonuçlarının karşılaştırılması. Turk J Vet Anim Sci. 1996;20:251-255.
11. Uraz G, Yücel N. Çiğ Süt Örneklerinde Ring Test ile Brucella Varlığının Araştırılması. Gazi Üniv Fen Bilimleri Enst Derg. 1998;11 (2):393-401.

12. Alpar S, Tunus, M. Ankara ve Civarındaki Pastörize ve Pastörize Olmayan Sütlerde Çeşitli Hastalık Etkenlerinin Orijin ve Nisbetlerinin Tayini Üzerinde Araştırmalar. 13. Abbasoğlu, U. 1988. İnsan Serumlarında ve Bazı Süt Örneklerinde Brucella Antikorlarının Araştırılmasıyla İlgili Bir Çalışma. Mikrobiyol Bült. 1967;22:25-29.
14. Kenar B, Altındış M. Afyon Bölgesi Süt Örneklerinde Brucella Antikoru Araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg. 2001;58(3):87-92
15. Türütoğlu H, Mutluer B, Uysal Y. Burdur Yöresinden Toplanan Sütlerin Brucella İnfeksiyonu Yönünden Araştırılması. Turk J Vet Anim Sci. 2003;27:1003-1009
16. Thoen CO, Enright FM & Cheville FN. Brucella. In Pathogenesis of bacterial infections in animals (C.L. Giles & C.O. Thoen, eds). Iowa State University Press, Iowa, 1993;236-247.
17. Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, Üzgür M et al. Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar, Medisan Yayın Serisi No. 26, Ankara. 1997;110-124.
18. Koneman E, Winn W, Alen S, Janda W, Procop G et al. Koneman's Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 8th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2006;482-490.
19. Ataş M. Sivas İl Merkezinde Satışa Sunulan Taze ve Salamura Beyaz Peynirlerin Brucella Bakterileri Yönünden İncelenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas. 2006. Yüksek Lisans Tezi.
20. Güllüce M, Adıgüzel A, Algur ÖF. Erzurum Bölgesinde Temin Edilen Çeşitli Peynir Örneklerinde Brucella Antijenlerinin ELISA ile Saptanması. Türk Mikrobiyal Cem Derg. 2003;33:356-360.
21. Buğdaycı K. Kayseri İlinde Çiğ Sütlerden Yapılan Taze Beyaz Peynirlerde Brucella spp. Aranması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. İstanbul. 2003. Doktora Tezi.
22. Sancak YC, Boynukara B, Yardımcı H. Van Otlu Peynirlerinde Brucella'ların Varlığı ve Dayanma Süresi Üzerinde Bir Araştırma. Veterinarium. 1993;4(1):1-3.