

**BRUCELLOSIS'İN TEŞHİSİNDE COMPLEMENT - FİKSİYON
TESTİNİN TÜP - AGLUTİNASYON TESTİYLE MUKAYESESİ
VE BÜ TESTİN AŞILI İNEKLERİN ENFEKTELERDEN
TEFRİKİ BAKIMINDAN ÖNEMİ**

Mes'adet DOĞUER (*)

(Bu araştırma Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumunun VHAG-25 No'lu projesine göre Kurumun desteği ile yapılmıştır.)

Ö N S Ö Z

Brosellosis'in eradikasyonunda muvaffakiyet şartlarından birincisi, hastalığın herhangi bir safhasında bulunan bütün enfekte-leri meydana çıkarabilecek kapasitede, tatbiki en kolay, neticesi çabuk olunan ve en emin bir teşhis metodunun bulunması olduğundan araştırmalar daha ziyade bu istikâmete yönelmişse de henüz bu evsafa bir metod vazedilememiştir. Bu konuda en başta gelen Tüp - aglutinasyon testinin standard bir hale getirilmesiyle de kronik vak'aların meydana çıkarılmasında ve Non - spesifik reaksiyonların ekarte edilmesindeki açık kapatılmadığı gibi, aynı zamanda S. 19 aşısının geniş ölçüde tatbikini müteakip meydana gelen aşılı ve enfekte sığırların tefriki problemini de bu test yalnız başına halledememiştir.

Brosellosis'in insan ve hayvan serumlarıyla teşhisinde Complement - fixasyon testi yarım asırdan beri kullanılmakta ve bu tes-

(*) Yetiştirme Hastahkları Laboratuvarı Şefi

tın inkişafı maksadiyle geniş araştırmalar yapılmakta, son yıllarda ise muhtelif memleketlerin lâboratuvarlarında tatbik edilen çeşitli metodların ve kabul edilen diagnostik kriterlerin en uygununu, en emin olanını bulup üniformiteyi sağlamağa çalışılmaktadır. Vaksine sığırın naturel enfektelerden tefrikinin basit testlerle mümkün olamadığının anlaşılması ve 1954 yılında yapılan araştırmalara göre 12 aylığa kadar S. 19 aşısı ile aşılanmış olan sığırın aşından 6 ay gibi kısa bir zaman sonra, takriben onda dokuzunun CF testi ile negatif netice verdiklerinin bildirilmesi üzerine CF testi daha fazla önem kazanmış ve araştırmacıların bu konu ile ilgili çalışmaları hızlanmıştır.

1961 YILINDAN İTİBAREN TÜRKİYE'DE DE DEVLETE AİT KURUMLARDAKİ DANALARA S. 19 AŞISININ TATBİKE BAŞLANMASIYLA VAKSİNE SİĞİRLARIN, NATUREL ENFEKTELERDEN TEFRİKİ BİR PROBLEM HALİNİ ALMIŞ VE COMPLEMENT - FİKSİYON TESTİNİN TÜP - AGLUTİNASYON TESTİNE İLÂVE OLARAK TATBİKİNİ ZARURİ KILMIŞTIR. REFERANS LÂBORATUVAR OLARAK KABUL EDİLEN ETLİK VE PENDİK BAKTERİYOLOJİ ENSTİTÜLERİNDEKİ BRUSSELLOSİS İLE İLGİLİ LÂBORATUVARLARDA STANDARD COMPLEMENT — FİKSİYON METODU ÜZERİNDE YAPILAN ARAŞTIRMALARDAN SONRA BU TEST HAKKINDA HAZIRLANAN RAPOR, 1967 YILINDA BRUSSELLOSİS MÜCADELE TÂİMATNAMESİNE DÂHİL EDİLMİŞTİR.

Bu araştırmadan gayemiz, Brusellosis teşhis lâboratuvarlarında rutin test olarak kullanılmakta olan klacik Standart Tüp - aglutinasyon testiyle Komplement - fixasyon testinin aktiviteleri bakımından birbirleriyle mukayesesi, aralarındaki uyarlık nisbetinin tayini, inhiraf noktalarının, aşılı ve aşısız sığırındaki diagnostik kriterlerin tesbiti, Post - enfeksiyonel reaksiyonları Post - vaksinal reaksiyonlarından ayırmak bakımından iki testin tefrik etme kapasitelerinin tayini olduğu gibi, aynı zamanda mezkûr testlerle reaktör bulunan sığırın genital organlarından veya atık ceninlerinden Brusella üretilmesine çalışılarak, serolojik testlerin doğruluk derecelerini, mikrop izolasyonu ile bakteriyolojik olarak da kontrolundan ibarettir.

LİTERATÜR BİLGİSİ

Brusellosis'in teşhisinde takriben 1911 yılındanberi muhtelif memleketlerde Komplement - fixasyon testiyle ilgili denemeler yapıldığı, bu hastalıkla radikal bir mücadele yapabilmek için S. 19 aşısının tatbikine başlanmasıyla testin daha fazal önem kazandığı, 1961 yılında **BÜRK**'nin ilk defa mukayese ünitesi olarak International Standard Anti - brucella Serumunu (ISS) kullanarak testi standardize etmesiyle o tarike kadar muhtelif memleketlerde tatbik edilmekte olan çeşitli metodlardan aynı neticeler alınmağa başlandığı, bundan sonra daha da ileri gidilerek testin **ÜNİFORM** bir hale getirilmesiyle ilgili araştırmalar yapıldığı bilinmektedir.

Araştırmacıların bir kısmı tüp içinde Makro metodu kullanırken diğer bir kısmını şeffaf plâstik - plate'lerde Mikro - metodu tatbik etmişler, yine bir kısmı Primer fixasyonu 37 C derecede yaparken diğer bir kısım araştırmacı ise ilk fixasyonu soğukta + 4 C. derecede yapmıştır. Fakat 1954 yılından itibaren Tüp - aglutinasyon testinin standardizasyonunda daha geniş olarak kullanılmaya başlanan İnternasyonal Standard Serumun (ISS) Komplement - fixasyon testinin standardizasyonunda da kullanılabilceği fikri 1958 yılında WHO Brusellosis Experler Komitesi tarafından ileri sürülmesini müteakip Bürk'nin teşebbüsü ile bir çok araştırmacılar kendi tekniklerini ve antijenlerini bu seruma göre ayarlamaya başlayarak karışıklık kısmen önlenmişse de Sıcak metodun da bazı mahzurları sebebiyle **KOLMER** ve arkadaşlarının **RENAUX** ve **ALTON** ta en sonrada **ALTON** ve **JONES**'un neşriyatını müteakip Soğukta fixasyon metodunun taraftarları çoğalmağa başlamıştır.

Memleketimizde Brusellosis'in Komplement - fixasyon testiyle teşhisi ilk defa 1914 yılında **NOYAN** tarafından yapılmış olup bu tarihten 1964 yılına kadarki çalışmaların birinci safhada toplanması uygun bulunmuştur. **GOLEM** (1948) CF testi üzerindeki tecrübelerin Etlik Veteriner Enstitüsü şeflerinden İhsan Esin'e ait olduğunu, 35 serumdan alınan neticelere göre Aglutinasyon testiyle ancak 3 serumda konkordans tesbit edildiğini, **ERDÖL** (1950) Komplement tesbiti teamülünün, Aglutinasyon şüpheli hatta menfi, fakat kuvvetli bir enfeksiyon şüphesi mevcut olan hallerde büyük fayda sağlayacağını, mükerrer şüpheli aglutinasyonlarda Komplement teamülüne baş vurulmasını önemli vak'alarda kesin sonuçlar almak için Komplement teamülünden sık sık faydalandıklarını, **ERENÇİN** (1968) Etlik Bakteriyoloji Enstitüsü Teşhis laboratuvarında takriben 25 sene evvel Dr. Abidin Erdöl'le birlikte Bruselloz'un teşhisinde CF testini kullandıklarını, antijenini de kendilerinin hazırladıklarını ve iyi neticeler aldıklarını, **BAŞKAYA** (1952) bu testi Bruselloz'un teşhisinde Aglutinasyon testiyle beraber kullandığını, mikrop ekstraktından ibaret olan antijenini de kendisinin hazırladığını. Ankara mezbahasında kesilen 3774 baş sığır üzerinde yapılan denemelerde Çabuk aglutinasyon testiyle 39, Yavaş aglutinasyonla 33, CF testiyle 30 müsbet reaksiyon tesbit ettiğini, serolojik muayenelerde en iyi sonucu Yavaş aglutinasyon, Meinicke reaksiyonu ve Komplement tesbit teamülü ile aldığını, **BEŞE** (1959) az adette koyun serumu ve kendisinin hazırlanmış olduğu antijenle yaptığı CF testinde Aglutinasyon testiyle

her muayenede paralel sonuç almadığını, **YILMAZ** (1962) Aglutinasyonla şüpheli reaksiyon veren 44 sığır serumunu Bürki metoduna göre CF testiyle muayene ettiğini bu iki test arasında % 70.5 oranında bir uyarılık bulunduğunu bildirmişlerdir.

1960 yılından evvelki Bruselloz Mücadele Tâlimatnamesinde Komplement-fiksasyon testi mevcut ise de 1960 da yenilenen Tâlimatnameye konmamış 1967 de tekrar dahil edilmiştir. İkinci safhada İnternasyonal Standard serum, testin ve antijenin ayarlanmasında kullanılmış olup Etlik ve Pendik Enstitülerinde önce MCKINNON'un (1963) sonra da ALTON ve JONES (1964)'un bildirdikleri şekilde metodlar tatbik edilmiş ve geniş çapta yapılan denemelerden elde edilen neticelere göre bu gün bir çok memleketlerde tatbik edilmekte olan Standard şekil bizde de Rutin testler arasına dahil edilerek metod, 1967 de Brusellosis Mücadele Tâlimatnamesine ilâve edilmiştir.

Brusella antijeninin Brusella antikoru ile birleşmesinden ibaret olan CF testinde bugüne kadar bir çok antijen çeşitleri denenmiş olup bunların bazıları doğrudan mikrobun kendisi veya hülâsasıdır. **BAŞKAYA** (1952) Brusella abortus ve melitensis suşlarının agar kültürlerini santrifüje ettikten ve mikrop kütlelerini 50 C. derecede kuruttuktan, havanda ince olarak ezdikten ve muayyen miktardaki kuru mikroba fenallü tuzlu su ilâve ettikten sonra iki gün devamlı çalkalanan emilziyonu santrifüje edip üstteki mayii geliserinli tuzlu su ile dilüe ederek, elde ettiği ekstraktı titrasyona tâbi tuttuğunu, **BEŞE** (1959) CF testinde antijen olarak kendisinin hazırladığı Brucellinin fizyolojik tuzlu su ile yaptığı dilüsyonlarını kullandığını, **GARGANI** ve **ALEANDRI** (1960) Br. abortus ve Br. melitensis organizmlerinden dondurulup eritme usulü ile ayrı ayrı hazırlamış oldukları antijenleri sığırlarda Abortusa, koyunlarda ise Melitensis'e karşı kullandıklarını, **CLAPP** (1961) koyun serumlarıyla yapılan CF testinde bakterî suspansiyonları yerine hücre ve hücre döküntülerinin giderilmesinden sonra elde edilen antijenlerin kullanılmasiyle antijenin anti-komplementer aktivitesinin tamamen elimine edildiğini, **KHRISTOFOROV** ve **SOROKIN** (1961) Aglutinasyon testiyle şüpheli reaksiyon göstermiş olan sığırların % 10-12'sinin serumlarının polysaccharide antijeni kullanarak yapılan CF testinde müsbet sonuç verdiğini, nücleoprotein fraksiyonunun Polysaccharid'den daha az hassas olduğunu, lipid fraksiyonunu ise antijenik bulmadıklarını, **LAMBERT** ve **AMERULT** (1962) Brusella organizmlerinin normal tuzlu sudaki suspansiyonunu 100 C. derecede 10 dakika da öldürdükten sonra antijen olarak kullandıklarını, **HILL** (1963) S. 19 suşunun kültürünü 60. C. derecede yarım saat ısıtarak organizmleri öldürdüğünü ve bunu CFT de antijen olarak kullandığını, **ALEANDRI** ve **GARGANI** (1963) dondurulup eritme tekniği ile ayrı ayrı Abortus ve Melitensis antijenleri hazırladıklarını, **RENOUX** (1963) ısıtılarak öldürülmüş hücre antijeninden veya Brusella germelerinin dondurulup - çözdürülerek hazırlanmış olan antijenden, aynı zamanda santrifüjden sonra üstteki mayinin kullanılmasından iyi neticeler alındığını, **SACCO** (1964) plasental materyalden ısıtarak elde ettiği ekstraktı kullandığını, CF testinin spesifik ve faydalı olduğunu, **GARGANI** (1964) Brusella abortus ve Melitensis suşlarından 40 defa dondurulup - çözdürme usulü ile ayrı ayrı hazır-

lamış olduğu antijenleri kullandığını, **TAVAMAİSHVİLİ** (1964) dondurularak kurutulmuş olan standard antijeni Aglutinasyon ve CF testinde kullandığını, **ULBRICH** ve **SCHEIBNER** (1964) 1119 numaralı Br. abortusu ile hazırladıkları Aglutinasyon testi antijenini ISS ile ayarladıktan sonra CFT de kullandıklarını, bu antijenin % 1 suspansiyonunun antikomplementer bir tesiri olmaksızın en yüksek spesifik reaktiviteye malik olduğundan CF testinde kullanmağa uygun bulduklarını bildirmişlerdir.

MCKINNON (1964) preservatif olarak antijene fenol yerine merthiola te kullandığını, fenolün kuvvetli antikomplementer bir tesiri olduğunu bildirmiştir. **LUCAS** (1964) soluble antijenlerin CF testinde iyi netice vermediğinden terk edildiğini buna mukabil bakteri ihtiva eden antijenlerin daha iyi çalıştığını, **Pilet ve arkadaşları** (1968) cellular, acellular ve hypercentrifuged antijenleri, soğuk metoda tatbikinden en yüksek titre elde ettiklerini bildirmişlerdir.

CF testinde reaksiyonun ilk safhası olan antijen-antikor-komplement üçlüsünün birleşmesi yani komplemantin fixe edilmesinden ibaret olan ilk kısım, 37 C. derecede yarım saat bekletilerek yapıldığı gibi soğukta + 4 C derecede bir gece aşırı bırakılarak da tamamlanabilir. **Jones ve arkadaşları** (1963) bir çok araştırmacıların sıcak ve soğuk metodları mukayese ettiklerini ve soğuk metoddan daha iyi neticeler aldıklarını, kendilerinin ise yüksek titreli serumlarla yapılan iki usulde bir fark bulmadıklarını buna mukabil alçak titreli serumların sıcak metodla işlermesinden iyi sonuç almadıklarını, aynı zamanda soğuk metotta diagnostik titreyi sıcak metoddakine nazaran bir iki dilüsyon yüksek bulduklarını, **BÜRKİ** (1953) soğuk metodun bir avantajı olduğunu, soğukta fixasyonda serumların büyük bir kısmının önemli derecede anti-komplementer aktivite gösterdiklerini, **LUCAS** (1964) soğukta fixasyonu tercih ettiğini bildirmişlerdir.

Her serum bir miktar komplemantı ihtiva ettiğinden teste tâbi tutulacak serumların mutlaka evvelden ısıtılarak tabii olarak kendilerinde bulunan komplemantın tahribi icabetmektedir. Umumiyetle bu hararet derecesi ve müddeti 58-60 C derece ile 20 dakika veya yarım saat arasında değişmektedir.

LUCAS (1964) serumların 60 C derecede yarım saat inaktive edilmesinin uygun olduğunu bildirmiştir.

Enfeksiyon esnasında aglutininlerinmi yoksa CF antikorlarınınmi daha evvel görüldüğü hususunda değişik fikirler mevcuttur. Bazılarının denemelerine göre CF antikorları aglutininlere tekaddüm etmektedir. Enfeksiyonda aglutininlerin erken teşekkül edip çabuk kaybolduğu hususu ekseri araştırmacılar tarafından kabul edilmekle beraber aksi tezi savunanlar da mevcuttur. **AY. GÜN** (1950) hastaların kan serumlarında komplemantı tesbit eden bir sinsi bilisatris bulunduğunu, bunun aglutininlerden geç meydana çıktığını ve daha uzun zaman devam ettiğini, aglutinasyonla şüpheli bulunan serumların teşhisinde CF testinden istifade edilebileceğini, **FOZ** ve **GARRİGA** (1954) aglutinin titresini CF titresinden yüksek olan serumların umumiyetle enfeksiyonun baş-

langıcını, bunun aksine CF titresi aglutininin titresinden yüksekse enfeksiyonun ilerlemiş olduğunu gösterdiğini, **BRODHAGE (1955)** aglutininlerin önce husule gelip daha uzun müddet devam ettiğini, **LAMBERT ve AMERAULT (1962)** enfeksiyonu müteakip CF titresinin aglutininin titresinden daha uzun müddet devam ettiğini aynı zamanda efektelerde sıcağa mukavim olan aglutininlerin komplemanı fixe eden antikorlardan daha çabuk meydana geldiklerini, **JONES ve arkadaşları (1963)** enfeksiyonun yeni başladığı muhtelif sürelerde sığır serumlarının CF titrelerinin aglutinasyon titresinden evvel inkı saf ettiğini, hastalığın kontrolü bakımından bunun bir değeri olduğunu, zira bu gibi ineklerin sıkıt yapmadan yeni enfeksiyonu etrafa yaymadan evvel sürüden uzaklaştırılabileceğini, **Experler komitesi (1964)** yeni enfekte hayvanlar da aglutininin titresi şüpheliyken CF reaksiyonunun aşıkâr bir şekilde positif olduğunu, kronik enfeksiyonlarda da aglutininin titresi negatif veya şüpheli olduğu halde CF reaksiyonunun positif bulunduğunu, **WAVEREN (1965)** enfeksiyon esnasında aglutininlerin yoksa CF antikorlarının daha evvel görüldüğü hususunda değişik fikirlerin mevcut olduğunu, bazılarının denemelerine göre CF antikorlarının aglutininlere tekaddüm ettiğini bildirmişlerdir.

Aşılı sığırların efektelerden tefriki bakımından CF testinin lâboratuvarda çalışanlara en büyük yardımcı olduğu evvelce de bildirilmiştir. Burada en önemli husus aşılı müteakip kan serumundan aglutininlerin CF antikorlarına nazaran daha sür'atle kaybolması olup bu fikir üzerinde bir çok araştırmacılar birleşmekte iseler de müddet bakımından bazı ihtilâflar mevcuttur. **RİCE ve arkadaşları (1952)** S. 19 ile aşıllarda vaksınasyonu müteakip CF testinin Aglutinasyon testinden daha çabuk negatif olduğunu, **YUSKOVETS (1956)** aşılı sığırların agglutin'in titrelerinin, CF reaksiyonunun kaybolmasından sonra da devam ettiğini, **FAGARD ve arkadaşları (1959)** aşılı sığırlarda CF antikorlarının, agglutin'inlere nazaran kan serumunda daha sür'atle azaldıklarını, dört ay sonra tamamen kaybolduklarını, 4 aydan sonra CFT ilereaksiyon veren sığırların bir çoğunun aşılama esnasında hastalığa yakalanmış olabileceklerini, **KOCOWICZ ve arkadaşları (1960)** 5450 baş aşılı kâhil sığırlardan temin ettikleri serumları CF ve ST testlerine tâbi tuttuklarını, aşılama son- ra 9 ay müddetle her iki antikorun da devam ettiğini, 9 aydan sonra CF antikorlarının kaybolduğunu, buna mukabil aglutininlerin daha devam ettiğini, istisnaî olarak aşılama dan 6 sene sonra bile aglutininlerin sabit kaldığını, **LAMBERT ve AMERAULT (1962)** aşıllarda CF titrelerinin aglutinin titrele- rinden daha çabuk kaybolduğunu, enfeksiyonu müteakip ise CF titresinin AGG. titresinden daha uzun müddet bâkî kaldığını, **MCKINNON (1963)** 1134 baş gençken aşılansın hâlen kâhil bir halde olan aşılı ve aynı zamanda aşısız sığırlara ait kan serumlarını kendi tekniğine göre şeffaf plâstik plate'lerde CF SA testleriyle mukayeseli olarak muayene ettiğini, aşısızlarda 1/2 lik bir dilisyonunda ++ lik CF titresinin hayvanın şüpheli olduğunu ifade ettiğini en- feksiyona maruz kalmamış aşıllara ait serumların hiçbirinin 1/10'da ++ ve ya daha yüksek bir titre göstermediklerini, buna mukabil enfekte hayvanlar- dan alınan serumların ekserisinin 1/10'da ++ likten fazla bir reaksiyon ver- diklerini ve neticede 1/10'da ++ lik titrenin KRİTİK TİTRE olarak kabul

edildiğini, aşı: fakat enfeksiyona maruz kalmamış sığırlardan toplanmış serumların % 93,9'unun 1/4 de ++ lik bir titrenin altında reaksiyon gösterdiklerini, yine müşahadelerine göre Br. abortus organizmleri çıkartan sığırlara ait serumların büyük bir çoğunluğunun 1/10'da ++ lik veya bunun üzerinde bir titreye sahip olduklarını, aşı olmayıp enfeksiyona da maruz kalmamış olan sığırlardan temin edilen serumların hiç birinin 1/2 de ++ den daha yüksek bir titreye sahip olmadıklarını, netice olarak ISS'nin 1/24 nisbetinde Komplement-fixasyon antibody aktivitesi gösteren aşısız veya aşı durumu bilinmeyen sığırların positif, 1/48 aktiviteli serumların ise şüpheli olarak mütelâa edileceğini, **BLAGOVESCHTSCHENSKAYA** (1954) 12 aylığa kadar aşılansız olan sığırların % 98 inin 6 aydan sonra CF. testine negatif reaksiyon verdiklerini, **WISNIOWSKI** (1934) S.19 aşısı ile bir defa dana iken aşılansız sığırlarda CF. titresinin yüksek olmasına mukabil Ag. titresinin düşük bulunduğunu ve bu şekilde bir defa aşılansız sığırların takriben üçte birinde titrelerin 8 ay müddetle sabit kaldığını, bildirmişlerdir. **JERZYWISNIOWSKI** (1934) Brucellosis'in serolojik teşhisinde esas güçlüğü aşidan sonraki reaksiyonlardan ileri geldiğini, S.19 aşısı mükerrer olarak tatbik edildiği takdirde her iki testin de titrelerinin uzun müddet devam ettiğini, aşı bir defa tatbik edildiği takdirde titrelerin devamlı olmadığını, **EXPERLER KOMİTESİNİN** raporunda (1964) S. 19 ile aşı sığırların ekserisinde CF. titresinin Serum-aglutinasyon titresinden daha hızla düştüğünü, 4.8 aylar arasında aşılansız olan sığırların bir çoğunun kan serumu aşılansızdan 6 ay sonra aglutininin titresi şüpheli veya düşük positif seviyede bulunmasına rağmen CF. testinin negatif olduğunu, **STUDENTSOV** (1965) bir veya iki defa S.19 ile aşılansız olan kâhil sığırlarda CF elementleriyle aglutininlerin iki sene veya daha uzun müddet kanda kaldığını, bu müddetin bir defadan fazla aşılansız olanlarda daha da uzun sürdüğünü, **WAVEREN** (1965) Brucellosis mevcut olmayan bir sürede vaksınasyondan 1 sene sonra sığırların takriben % 94'ünün CFT ile menfi olarak tesbit edildiğini, enfekte sürülerde ise CFT, SA testine nazaran % 14 nisbetinde daha fazla sığırı müsbet olarak tasnif ettiğini, **SARISAYIN ve EROĞLU** (1967) 4 - 8 aylıkken S. 19 aşısı ile aşılansız olan 1002 dişi dana serumunun aglutinasyon ve CF testlerine tâbi tutulduğunu, elde edilen sonuçlara göre aşidan ileri gelen çeşitli antikorların aşılamağı müteakip 9 ay içinde müsbet sınırlar altına düştüğünü veya tamamen kaybolduğunu, aglutinin antikorlarının komplemanı tutan antikora göre organizmada daha uzun bir süre kaldığını, enfekte olmayan sürülerde aşılansızdan sonra 19'cu aya kadar aglutinin antikor taşıyan hayvanların bulunduğunu enfekte sürülerde de aşidan mütevellit antikorlar normal kaybolmakla beraber bazı sürülerde enfeksiyonun şiddetli olması dolayısıyla mukavemetin kırılarak tâbi enfeksiyonun ortaya çıktığını, **NAGY ve arkadaşları** (1967) danalık aşılansızına tâbi tutulmuş fakat enfekte bir muhitte büyütülen düveler, enfekte olmayan bir sürüde yetiştirilmiş düvelerinkine nazaran daha yüksek nisbette ve devamlı olarak serum titresine sahip olduklarını bildirmişlerdir.

CF testinin Serum-aglutinasyon testine nazaran üstün özelliklerinden biri de Aglutinasyon testinde sık rastlanılan spesifik olmayan reaksiyonları ber-

taraf edebilmesidir. **HAJDU** (1956) sık zuhur eden Non-spesifik reaksiyonlarda, Brucella enfeksiyonunun teşhisi bakımından CF testinin aglutinasyon testinden daha güvenilir bir metod olduğunu, **BUCHMEIZER** (1961) Coombs ve CF testlerinin Non-spesifik reaksiyonları bertaraf etmesi bakımından kıymetli testler olduklarını, **MCKINNON** (1963) Komplement-fixasyon testinin aglutinasyon testinden bariz bir şekilde daha spesifik olduğunu, bu teste Nonspesifik reaksiyonların zararlı bir etkisi olmayacağını bildirmişlerdir.

Serum aglutinasyon metodunda rastlanılan prozone fenomenine CF testinde de rastlanmaktadır. **WISNIOWSKI** ve **KROLAK** (1965) araştırmalarına göre yüksek nisbette antikör ihtiva eden serumlarda prozone görüldüğünü, bu sebepten testin asgari üç dilisyonda yapılmasını, bazı araştırmacıların antijen konsantrasyonunu çoğaltarak prozone hadisesini azalttıklarını bildirmişlerdir.

İnternasyonal Standart Serumun bir miyar olarak kullanılmağa başlama-
siyle ancak muhtelif araştırmacıların CF testinden aldıkları neticeler arasında bir korelasyon husule gelebilmiştir. **HILL** (1963) muhtelif memleketlerde yapılan CF testlerinin, sabit bir serumla standardize edilmesi lüzumunu belirterek, Komplement-fixasyon reaksiyonu için bir konstant tesbit edilmesini, **BÜRKİ** (1963) internasyonal standart serum mililitre de 600 CF ünitesi ihtiva ettiği takdirde 25 ünite ihtiva eden sığır serumlarının şüpheli 25 den fazla olursa müsbet kabul ettiğini, **ALTON** ve **JONES** (1964) muhtelif laboratuvarlarda kullanılan CF testi tekniğinin farklı olması sebebiyle neticelerin ISS'e göre ayarlanmasının lüzumlu olduğunu, **WISNIOWSKI** ve **KROLAK** (1965) kullanmakta oldukları CF metoduna göre aşısız sığırlarda 1/5 dilisyonunda % 75 lik reaksiyonun şüpheli, 1/10 da % 75 lik reaksiyonun ise müsbet kabul edildiğini, aşıların durumunun henüz münakaşalı olduğunu, **ALTON** ve **JONES** (1967) soğuk CF metodunda 1/40 lık bir CF titresinin sığın enfekte, 1/20 nin ise şüpheli olarak bildirdiğini iki hafta sonra tekrar muayenesinin icabettiğini, **ÜNEL** (1969) koyun serumlarıyla CF testinde 1/4 dilisyonundaki reaksiyonların hayvanın enfekte olduğunu, 1/20 deki reaksiyonların ise şüpheliyi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Serolojik metodların hassasyeti hakkında karar verirken testlerin ayarı için elde sabit ve kat'i bir üniteyi ihtiva eden serumun bulunması icabeder. Yapılan araştırmalara göre ISS'nin کافی miktarda complementi fixe eden antikorları da ihtiva ettiği anlaşılmış ve bu sebepten aynı Standard serumun CF testinin standardizasyonunda da kullanılabilceği fikri meydana çıkmıştır. **STABLEFORTH** (1954) Weybridge de istihşal edilip muhtelif merkezlere gönderilmekte olan İnternasyonal Standard Anti-Brucella abortus serumu sayesinde çeşitli metodlardan elde edilen neticelerin yeknesaklığının temin edildiğini, serumdaki Brusella antikorlarının İnternasyonal ünite ile ifade edildiğini, **BÜRKİ** (1961) Weybridge Standard Anti-brusella serumunun CF testinin standardizasyonunda kullanılabilceğini bu testin hassasiyetinin ISS ile mukayese edilmesini, ISS'nin 1/40 dilisyonu ile % 100 lük bir fixasyon 1/120 dilisyonu ile ise % 50 fixasyon elde ettiğini, Standard serumun 1/24'ünü diagnostik titre kabul ettiğini, **HILL** (1963) yavaş aglutinasyon testinde kullanı-

lan antijenin CFT de de kullanılabileceğini, ISS 1000 ünite ihtiva ettiği takdirde diagnostik titrenin yani pozitif hududun kendi tekniğinde 12.5 ünite olduğunu, Stableforth'un 1954 yılında yavaş aglutinasyon için teklif etmiş olduğu standard serumun CF testinin standardizasyonunda da kullanıldığını, **BÜRKİ** (1963) Weybridge standard serumu ile CF testinin standardizasyonunun 1961 de yapıldığını bunun hem sıcak hemde soğukta fixasyon metodlarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Literatür bilgisine istinaden araştırmacıların büyük bir kısmı yavaş aglutinasyon testiyle CFT nin müşterek kullanılması fikrindedirler. **SURFACE** (1912) serum aglutinasyon testine ilâve olarak CF testinin çok güvenilir bir metod olduğunu, **HADLEY** ve **BEACH** (1912) yalnız başına aglutinasyon testine güvenilemeyeceğini hayvanların klinik tablolarıyla CF testinin neticeleri arasında iyi bir korelasyon olduğunu, **CONNWAY** ve arkadaşları (1921) CF testini aglutinasyon testine tercih ettiklerini, **BOERNER** ve **STUBBS** (1924) Zeisig ve **MANSFIELD** (1930) CF testinin aglutinasyon testinden daha vazih bir şekilde sığırları reaktör veya non-reaktör olarak klasifiye ettiğini, **VICENTJEVITCH** ve **BOHM** (1955) klâsik aglutinasyon ve CF testlerinin simultan olarak tatbikiyle fazla miktarda enfekte hayvanın yakalanabileceğini, **GODGLÜCK** (1955) akut Brusellosis'in teşhisinde Ag. testinin, kronik enfeksiyonların teşhisinde ise CFT nin uygun olduğunu, **HADJU** (1956) non-spesifik reaksiyonlara sık sık rastlanması sebebiyle CF testinin Ag. testinden daha güvenilir bir metod olduğunu, **HILL** (1958) CF testine pozitif olan ve sütleriyle de Br. abortus excre eden 65 sığır üzerinde yaptığı bir araştırmada bazı sığırların Ag. testine reaksiyon vermediğini, **STABLEFORTH** ve **GALLOWAY** (1959) CFT'den elde edilen neticelerin umumiyetle Ag. testinden alınan neticelere benzediğini, bazı araştırmacıların bu testin kıymetli bir ilâve test olarak mütalââ ettiklerini, **FAGARD** ve arkadaşları (1959) aşılama ve enfeksiyondan sonra serumda husue gelen aglutininlerin tesbit ve tefrikinde, enfektelerin teşhisinde CF testinin çok değerli bir metod olduğunu, Ag. testine nazaran CFT'nin daha fazla adette pozitif sonuçlar verdiğini, CFT nin daha üstün bir test olduğunu, **KOCOWIEZ** ve arkadaşları (1960) Ag. ve CF testlerinin kombine olarak tatbikiyle vaksınasyondan ve enfeksiyondan mütevellit titrelerin tefrik edilebileceğini, **BERSCHINGER** (1961) meme glandı enfeksiyonu tesbit edilen 46 ineğin 45'inin serumunda CF titresi tesbit edildiğini, **BÜRKİ** (1961) Brusellosis'in teşhisi bakımından CFT n'in Ag. testinden daha hassas olduğunu, **BUCHMISER** (1961) 402 sığır serumunu mukayeseli olarak üç teste tâbi tuttuğunu, şüpheli vak'alarda Ag, CF ve Coombs testlerinin kombine olarak tatbikini tavsiye ettiğini, **JONES** ve arkadaşları (1963) 1424 serum numunesini CF, Plate ve aglutinasyon testleriyle mukayeseli olarak muayene ettiklerini, Ag. testiyle reaktör bulunan 56 serumdan 52 adedinin CFT ile müsbet reaksiyon verdiğini, diğer 4 menfi serumun enfeksiyon mevcut olmayan sürülere ait olduğunu, CF testinin bilhassa Ag. testiyle şüpheli reaksiyon veren serumlarda kullanılmasının en faydalı olacağını, bundan başka CF testi aşından mütevellit şüpheli aglutinasyon titresi devam ettiren genç düvelerin teşhisinde de bir kıymet ifade ettiğini, CF ve Ag. test.

lerinir simultan olarak kullanılmasıyla aşı sığırlarda vaksinal titrenin natu-
rel enfeksiyondan tefrik edilmesine yardım edebileceğini, **HILL** (1963) Aglu-
tinasyon, Plate ve diğer testlerin CFT ile mukayese edildiğini bu metodlarla
yapılacak kombine bir araştırma ile vaksınasyon ve hakiki enfeksiyondan
mütevellit reaksiyonlarla, Non spesifik reaksiyonların ayırd edebileceğini, kro-
nik hastalıkların da bu metocla çıkarılabileceğini, Ag. testinin yalnız
başına kullanılmamasını bu iki test'in simultan olarak tabik edilmesini tavsiye
ettiğini, **STABLEFORTH** (1964) Vaksınasyondan mütevellit antikor titreleri-
nin tefrik'inde CFT'nin faydalı olduğunu, aynı zamanda, Aglutinasyonla şüp-
heli bulunan vakalarda suplementar test olarak da bu testin yardımcı oldu-
ğunu, **LUCAS** (1964) CF testinin daha spesifik ve daha hassas olduğunu,
WISNIEWSKI (1964) aşı tatbik edilmemiş enfekte sürülerde eCF ve Ag. test-
lerinin simultan olarak kullanılmasıyla Ag. testinin yalnız olarak tatbik edil-
diği zamankine nazaran % 40 nisbetinde fazla enfekte sığır tesbit edildiğini
JERZYWISNIEWSKI (1964) iki testin simultan olarak kullanılmasında SAT
'nin yalnız olarak kullanılmasına nazaran % 14 nisbetinde fazla pozitif reak-
siyona rastlandığını, naturel enfektelerde CFT'nin umumiyetle Ag. testinden
daha yüksek titre gösterdiğini, enfekte hayvanların uzun müddet bir iki sene
kadar iki teste de pozitif reaksiyon verdiklerini S. 19 ile aşılamaadan sonra CF
titresinin Ag. titresini aşmadığını ve Ag. titresine nazaran daha kısa zamanda
düşüğünü, kâhilkem aşılamamış ineklerde her iki test titrelerinin de uzun müd-
det devam ettiğini, CFT'nin naturel enfeksiyonu aşının tesiriyle husule gelen
aglutinin yükselmesinden emin bir şekilde tefrik ettiğini, **PENNEC** (1965)
1734 serum numunesini üç testle mukayeseli olarak muayene ettiğini ve neti-
cede Ag. testinin % 10, CFT'nin ise % 12.5 nisbetinde pozitif reaksiyon verdi-
ğini, **REDAELLI** (1965) CF testinin Ag. testinden daha hassas ve daha spe-
sifik olduğunu bu iki testin S. 19 ile aşılama yapılan yerlerde hakiki enfek-
siyonun teşhis için simultan olarak kullanılabileceğini, **GOYON** (1965) yavaş
aglutinasyon ve CF testlerinin sistematik ve kombine olarak kullanılmasının
teşhiste bir değeri olduğunu, **WAVEREN** (1965) simultan usulun tatbikiyle
enfekte sürü nisbetinde % 30 dan % 6'a düşürüldüğünü ve sığırların % 99.4'
nün Brucellosis den âri bir hale geldiğini, yalnız Ag. testi tatbikiyle enfekte
nisbeti % 2 olduğu halde bu iki testin simultan olarak tatbikiyle nisbetin %
20 ye yükseldiğini iki test müşterek olarak kullanılırsa eradikasyonda zaman-
dan da istifade edileceğini, **WISNIEWSKI** ve **KROLAK** (1965) vaksınasyon-
dan husule gelen serolojik reaksiyonları naturel enfeksiyondan tefrik etmek
maksadıyle bu testin çok kullanıldığını **PENNEC** ve **GOYON** (1966) muhte-
lif testleri mukayese ettiklerini Coombs ve CF testlerini en hassas bulduklarını
fakat rutin olarak kullanılmalarının pratik olmadığını, **UNEL** (1967) ko-
yunların Brucellosis'inin eradikasyonunda bugüne kadar kullanılmakta olan
Ag. testinin yalnız başına sürülerdeki reaktörleri ortaya çıkarmağa yeterli
olmadığını, bu durum enfeksiyonun devamına sebep olduğundan sürü eradi-
kasyonunu güçleştirdiğini, **UNEL** ve **STABLEFORTH** (1969) 3323 baş Brucel-
losisden âri ve aşısız, 60 adet Brucellosis'li koyunu mukayeseli olarak üç testle
muayene ettiklerini, 60 enfekte koyunun CFT ile % 63'ünü ve ag. testiyle ise
% 43'ünü müsbet reaktör olarak tesbit ettiklerini bildirmişlerdir.

Araştırmacıların bugüne kadar yapmış oldukları denemelere göre CF testi- nin klacik Tüp-aglutinasyon testine nazaran daha hassas olduğu kat'iyetle te- b'it edilmiştir. Brusellosis Experler Komitesi (1958) CFT nin Ag. testinden daha güç fakat daha hassas bir test olduğunu, aynı komite 1964 de yayınladığı raporunda CF testinin ilâve bir test olarak bir kıymet ifade ettiğini, kronik Brusellosis'in teşhisinde Ag. testinden daha elverişli olduğunu, **LAMBERT ve AMEREAULT** (1962) aşılı ve aşısız sığırları canlı, virulan Br. abortus orga- nizmleriyle konjuktival yolla sun'i olarak hastalığa maruz bıraktıklarını ve kan serumlarını muayyen fasillarla üç testle mukayeseli olarak muayene et- tiklerini, hastalığın başlangıcında Ag. testinin CFT'e nazaran daha fazla fay- dalı olduğunu, fakat CFT'nin daha hassas bir metod olduğunu, Brusellosis eradikasyonu yapılan kurumlarda Ag. testine ilâve olarak CF testinin de kul- lanılmasını, **BÜRKİ** (1963) CFT'nin naturel enfekteleri vaksine ineklerden tef- rikde bir üstünlüğü olduğunu, bir sığır aşılana 12 ayı geçtiği halde CFT ile müsbet reaksiyon veriyorsa kasaplığa sevk edildiğini, Ag. testiyle aşılı bir sığır 80 veya 160 aglutinin ünitesine sahip olsa bile eğer CFT ile menfi veri- yorsa bu ineğin hastaliksız olarak kabul edildiğini, **HİLL** (1963) CFT saye- sinde enfeksiyon ve aşı titrelerinin birbirinden ayırd edilmesinin mümkün oldu- ğunu bunun hasit Tüp-aglutinasyon testiyle halledilemeyeceğini, aşılı hayvan- ların bir kısmında aglutininlerin bir seneden de fazla devam ettiğini, halbuki bunların CF testiyle negatif bulduklarını, kronik enfektelerde komple- mentifixe eden antikorların yıllarca devam ettiğini ve bu sebeble müzmin vak'aların bu testle meydana çıkarılabildiğini, **MCKINNON** (1963) CF tes- tinin aglutinasyon testinden daha hassas ve spesifik olduğunu, **WAVEREN** (1965) CF ve Ag. testlerinin % 85 vakada aynı neticeyi verdiğini, Ag. testi- nin % 5 nisbetinde CFT den daha erken teşhis ettiğini, CFT ise % 14 kadar Ag. testinden daha fazla miktarda müsbet yakaladığını, CFT'nin enfeksiyonla vaks'nasyon titrelerini tefrik edebildiğini, kronik olarak enfekte hayvanların da Ag. testine nazaran bu testle daha kolaylıkla meydana çıkarıldığını, nata- mam antikorları ihtiva eden sığırların Ag. testiyle meydana çıkarılmadığını halbuki CFT nin bu gibi hayvanları yakalayabildiğini, **NICOLETTI ve MU- RAECCHI** (1966) CF testinin daha spesifik ve daha hassas olduğunu, fakat bu test'in reakt'if maddelerinin çokluğu, testin icrasında zaman kaybı ve standar- dizasyonu gibi sebeplerden çok adette serum işlemesine uygun olmadığını bil- dirmişlerdir.

Brusellosis'e hassas olan hayvanlarda enfeksiyonu müteakip bakteriyemi safhası başlar. Bu devre kısa süreceği gibi aylarca da devam edebilir. Bu müddet içinde dişi veya erkek hayvanlar bol miktarda etrafa mikrop saçabi- lirler. **STABLEFORTH ve GALLOWAY** (1959) Brusellosis sonucu gebelerde placentitis husule geldiğini, sığıtların en fazla 7.8'nci aylarda görüldüğünü, hasta ineğin normal doğum veya sıkıt esnasında vajen akıntısıyla bol miktarda mikrop saçtığını, reaktörlerin % 34.53'ünün sütleriyle de mikrop saçtıklarını, hasta boğaların da genital organlarının umumiyetle enfekte olduğunu, semi- nal visiküllerde lezyonların teşekkül ettiğini, akut safhada semen mayi'nde çok miktarda mikrop bulunduğunu, kronik safhada azaldığını, mikrop itrahi.

nın fasıllı olarak senelerce devam edebileceğini, **MORGAN** ve **MCDIARMID** (1960) sütle mikrop itrahinin fasıllı olduğunu, umumiyetle laktasyonun sonunda mikropların daha kesif olarak bulunduğunu, meme glandında mikropların yaygın bir halde olduğunu, kolestromda çok miktarda mikrop mevcutsa da sonradan fasıllı olarak çıktığını, **STABLEFORTH** (1960) bakteriyemi devrinin 4 veya aylarca devam ettiğini, umumiyetle bu devrenin gebelik esnasında yeniden vukua geldiğini, vajen akıntısında 6 ay bazen 2,5 sene mikrop itrahinin devam ettiğini, dalak, karaciğer, dı, omuz mafsallarında hygomalarda mikrop bulunabileceğini, boğalarda akut safhada semen mayiinde çok miktarda mikrop bulunduğunu, sonra azaldığını, **MİURA** ve arkadaşları (1961) Weybridge aglutinasyon testiyle yaptıkları serolojik muayenelerde müsbet buldukları sığırları mecburi kesime tâbi tuttıklarını, mikrop izolasyonu ile aglutinasyon reaksiyonunun hemen hemen paralel gittiğini, umumiyetle hayvanların memelerinden ve meme ile ilgili organlarından ve lenf uktelerinden, parankim organlarına nazaran daha fazla mikrop izole edildiğini, en fazla mikrobun ischiadic lenf uktelerinden sonra sırasıyla meme lenf uktelerinden, iliak lenf bezlerinden, fetusdan, diğer lenf yumrularından, süttten, memeden, uterusdan, dalak, yumurtalık ve karaciğerden ayrıldığını, **DRİEUX** (1963) sıkıt yapan ineklerin vajen mayileriyle mikrop çıkardıklarını, üç haftadan sonra daha az tehlikeli olduklarını, enfeksiyondan sonra Brusella organizmlerinin genital organlarda, meme glanalarında, bütün reticulo-histiocytic sisteme a' nesil. lerde yerleştiğini, **REDAELLI** (1964) Brusellosis bakımından yapılan aglutinasyon testine müsbet veren 60 baş kasaplık sığırın 30'unun CFT ile reaktör bulunduğunu bunların 11'inden Brusella izole edildiğini, Brusella ayrılan organların meme, lenf uktesi ve dalak olduğunu, süttten da ayrıldığını, **REDAELLI** (1965) simultan olarak Ag. ve Cf testleriyle reaksiyon veren ineklerin % 28.5 unun süt ve iç organlarından Brusella izole edildiğini, **GAUMONT** (1965) 50-150 İnternasyonal ün'eyi ihtiva eden bazı serumlarla yapılan Ag. testlerinde Non-spesifik reaksiyonlar görülebildiği gibi bu sığırların muayenelerinde de patolojik olarak bir şey bulunamadığını, buna mukabil alçak titre gösteren ve kan serumlarında 30-50 İ. Brusella ünitesine sahip ineklerin ve aynı zamanda serumları menfi reaksiyon verenlerin Brusella çıkardıklarını, **NICO. LETTI** ve **MURASCHİ** (1963) 914 aşılı ve aşısız sığira ait serumların mukayeseli olarak muhtelif testlerle işlendiğini ve testlerin mikrop izolasyonu ile kontrollerinin da yapıldığını, S. 13 ile aşılı sığırların 111 başından Brucella izole edilmiş olup nisbetin % 82, 152 aşısız sığırdan ise 24 suş izole edilip nisbetin % 18 olduğunu, CF testi 117 baş enfekte sığırın 114'ünü yani % 98'ini teşhis ettiği halde Tüp.ag. testinin % 61'in' reaktör olarak ayırdığını, normal antijenle yapılan plate.test'in % 66, asitleştirilmiş antijenle yapılan plate.testin ise % 96'ı nisbetinde müsbet reaksiyon verdiğini, SAT ile reaktör oldukları anlaşılamiyan aşılı sığırların bir çoğunun enfeksiyona rezerver olduklarını, **CEDRO** ve arkadaşları (1967) 211 baş boğanın genital organ ve genito-inguinal glandlarını muayeneye tâbi tutup 24 adet Brucella organizmi elde ettiklerini, aynı zamanda Brucella izole edilmiş olanlardan 9 baş boğanın genital organlardan elde edilen organ suyunun ve kan serumlarının SAT ile müsbet bulunduğunu, hiç bir klinik belirti olmaksızın ve aynı zamanda alçak Ag.

titresi gösteren boğaların da mikrop saçtıklarını tesbit ettiklerini, boğalarda Sperm - aglutinasyon testinin uygulanmasının lüzumlu olduğunu bildirmişlerdir.

KOCOWICZ ve arkadaşları (1960) aşı sığırlarda yapmış oldukları müşahadelere göre aşidan 3 ay sonra Sero.ag. testi pozitif olduğu halde süt serumunda aglutininlere rastlanmadığını bunun neticesinde S. 19'la aşı ineklerin sütlerinden aglutininleri erken kayborduğu halde tâbii enfektelerin sütlerinde daha uzun müddet devam ettikleri kanaatine vardıklarını, **MCKINNON** ve arkadaşları (1961) aşılama bir veya iki defa tatbik edilse de Brusellosisden âri sürülerdeki ineklerin sütlerinin pozitif reaksiyon vermesine sebep olduğunu, sütleriyle Br. abortus çıkararak ineklerin % 16.9'unun süt serumuyla yapılan Plate - testle, % 23.3'ünün ise Tüp - testle menfi bulunduğunu, **LOKTEVA** (1965) aşidan iki hafta sonra sütle aglutininler teşekkül ettiğini ve 5 ay içinde kaybolduklarını, fakat Brusellosis'li sürülerdeki ineklerin sütlerinde aglutininlerin altı aydan daha fazla bir müddet müsbet reaksiyon verecek kadar devam ettiğini; bu bakımdan süt muayenelerinin hastalığın eradikasyonunda çok faydalı olduğunu, **STUDENTSOV** (1965) S. 19 aşısının kan serumunda antikorların husulüne sebep olduğunu ve aşılanmış olanlarda aşılanmamışlara nazaran pozitif Ring - test reaksiyon adedinin daha yüksek bulunduğunu, **NICOLETTI** ve **MURASCHI** (1966) meme enfeksiyonlarında reaksiyonların fazla olduğunu, ayrılan 135 Brusella suşunun 103'ü süttten, 10'u memeden, 3'ü kolostromdan diğer 19'unun ise muhtelif nesiclerden ayrıldığını, 135 Brusella suşundan 112'sinin Br. abortus biotype 1, 18'inin Br. abortus biotype 11,4 adedinin S. 19 suşunun benzeri ve birinin de tipinin belli olmadığını, **LOKTEVA** (1967) Brusellosisden âri olan bir sığır sürüsünde yaptıkları araştırmada S. 19 ile aşılamadan 8 - 14 gün sonra sütle aglutininlerin husule geldiğini ve ancak 1.5 ilâ 5 ay arasındaki zamanda süttten kaybolduklarını, Brusellosis'li sürülerde ise vaksınasyondan 6 ay veya daha fazla bir zaman sonra dahi sığırların yarısından fazlasının pozitif süt titresine sahip olduklarını, 1/20 süt titresi gösteren ineklerin hemen hepsinin 1/800 ilâ 1/3200 nisbetinde kan titresine de sahip olduklarını, **NAGY** ve arkadaşları (1967) yüksek nisbette enfeksiyon vak'aları görülen bir inek sürüsünde süt, serum ve Vaginal - mucus aglutinasyon testlerini mukayese ettiklerini, süt serumu ile yapılan testlerden alınan neticelerin, Milk ring - testden alınanlardan daha güvenilir olduğunu, pozitif süt serumu testlerinin nisbetinin gebeliğin ilerlemesiyle yükseldiğini, bildirmişlerdir.

ÇALIŞMALARIMIZ

Muhtelif serolojik ve bakteriyolojik metodlarla işlenmiş olan materyal adedinin fazlalığı sebebiyle muayenelerin iki bölümde toplanması uygun bulunmuştur.

1. Serolojik muayeneler,
2. Bakteriyolojik muayeneler.

SEROLOJİK MUAYENELER

M A T E R Y A L

1 — Brusella S. 19 aşısı ile danalık aşılmasına tâbi tutulduktan sonra 30 aylarını tamamlamış durumdaki, ekserisi Devlet Kurumlarına ait, 1087 adet sığır kan serumu ile,

2 — Büyük bir çoğunluğu halkın elinde bulunan aşısız sığırlara ait 1542 kan serumu olmak üzere cem'an 2629 adet kan serumu Tüp - aglutinasyon (SAT) ve Complement fixasyon (CFT) testleriyle mukayeseli olarak muayeneye tâbi tutulmuştur.

3 — Bu serumlardan 681 adedi ayrıca, yine mukayeseli olarak ilk iki teste ilâveten Plate - aglutinasyon (PAT) testiyle de muayene edilmiştir. Bu 681 serumun 213 adedi aşılı, geriye kalan 468 serum ise aşısız sığırlara aittir.

4 — Kesime tâbi tutulan ineklerin bir kısmına ait 27 ekstrakt materyali,

5 — Serolojik muayeneleri yapılan 24 baş inekten temin edilebilen vajen mayii, Tüp - aglutinasyon testiyle,

6 — Araştırma esnasında sağmal durumda olan 120 baş ineğe ait süt nünuneleri Ring - test ve Lacto - sero aglutinasyon testleriyle,

7 — 167 hemolize serum ise Sero - ring testle muayeneye tâbi tutulmuştur.

M E T O D

1 — Aglutinasyon, Plate ve Ring testde kullanılan teknik 1960 gün ve 189 sayılı Brucellosis Mücadele Tâlimatnamesinde bildirildiği şekildedir.

2 — 27 organ ekstraktının supernatant mayileriyle yapılan Tüp - aglutinasyon testi ve kullanılan antiijen Sero - aglutinasyondakinin aynı olmakla beraber nesiclerde teşekkül eden antikorların serumdakilerine nazaran daha spesifik olması sebebiyle dilisyonlar 1/2 den başlayarak bir misli aralıkla 1/512'ye kadar hazırlanmış ve 1/4 müsbet teşhis kriteri olarak kabul edilmiştir.

3 — Mucus - aglutinasyon testi için, pipetle veya servix uteriye tampon tatkikiyle alınan vajen mayii nünunelerine 4 ml. phenöllü tuzlu su ilâve edilerek bir gece aşırı buz dolabında bırakıldıktan sonra tampon, forseps ile iyice

sıkılarak şişede toplanan mayi bir tüpe aktarılır ve santirifüje edilir, üst kısımdan 1/5 den 1/40'a kadar dilisyonlar hazırlanır, antijen ilâvesinden sonra dilisyonlar bir misli olur. Vaginal mucusdaki antikorlar serumda teşekkül edenlerden daha spesifik olduğundan 1/20 teşhis kriteri olarak kabul edilmiştir.

4 — Süt nümunelerinin Ring - test ve Lacto - sero aglutinasyonla talimatnameye göre muayeneleri yapılmışsa da Ringtestle kuvvetli müsbet bulunan sütlerin menfi sülle 1/2 den 1/64'e kadar dilisyonları hazırlanıp üzerlerine 0.03 ml. renkli antijen ilâve edilip bir saat etüvde bekletildikten sonra Ring - testin neticeleri daha hassas olarak derecelendirilmiştir. Sütteki aglutininler de mucusdaki gibi daha spesifik olduğundan 1/20 dilisyonunda görülecek bir reaksiyon müsbet olarak kabul edilmiştir. Bundan başka kan serumundaki gibi süt serumu ile de Plate - test yapılmıştır.

5 — Lâboratuvarımızda, hemolize olmuş serumları Sero - ring teste tâbi tutmaktayız. Bilindiği üzere antijen ve sulandırma mayisindeki phenol, haemolyse sonu serumda serbest kalan hemoglobin ile presibite olarak çökeceğinden yalnız aglutinasyon husule gelebilir. Böyle serumları Tüp - aglutinasyon metodu yerine Sero - ring teste tâbi tutmakla beraber aynı zamanda ait oldukları kurumdan tekrar serum istemekteyiz. Sero - ring test için 1 veya 0.9 ml. süt nümunesine 0.1 ml. kanlı serumdan ilâve edilir, üzerine 0.05 ml. kırmızı antijenden (2,3,5 triphenyltetrazolium) damlatıldıktan sonra neticeler Ring - test'de olduğu gibi değerlendirilir. Bu metodla 167 adet kanlı serum muayeneye tâbi tutulmuştur.

6 — Komplement - fixation testi için kullandığımız metod, İngiltere Weybridge Merkez Veteriner Enstitüsü şeflerinden Dr. D. J. MACKINNON'un lâboratuvarında görmüş olduğumuz ve 1963 yılında Bull. Int. Epiz. 1963, 60 sayılı neşriyatında bildirdiği şekilde uygulanmıştır. Bu metod, Primer Fixationu 37. C. derecede yapılan bir MICRO - COMPLEMENT FIXATION Metodudur.

KOMPLEMENT . FIXATION TESTİNİN TEKNİĞİ

1 — Fizyolojik tuzlu su (Veronal - buffer), bu spesifik tuzlu su bacto - jelatini ihtiva etmektedir.

2 — Yıkılmış koyun kırmızı küreyveleri : % 3 nisbetinde suspansiyon hazırlanır. Defibrine kanın muhafazası için ALSEVER solusyonu ile karıştırılır.

3 — Haemolytic immun serum (Haemolysin). Amboceptor'un titresinin tayininde serum dilisyonları sık, matematik aralıklarla hazırlanır. Eritrositle ri tamamen eriten en dilüe serum mahlülü, haemolytic amboceptor'un sabit miyarını bildirir. Test de, aktivitesi evvelce tesbit edilmiş olan immun serumdan 5 hemolitik ünite kullanıldığından, bir üniteyi 1/3000'lik serum dilisyonu ihtiva ediyorsa hemolisinin 1/600'lük dilisyonu hazırlanacak demektir. Eksi

20 C. derecede bırakıldığı takdirde saf serum üç ay müddetle aktivitesini muhafaza etmektedir. Lyophilise edilerek saklanması uygun değildir.

4 — Complement (taze kobay serumu). Komplementin titrasyonu immun serum ve spesifik antijenle yapılır. Daha hassas olması bakımından Kolmer metodu tercih edilmiştir. Komplement, preservatif ilâve edilmeden, eksi 20 C. da bir ay müddetle titresinde düşme olmadan muhafaza edilebilmektedir. Lyophilise edilerek muhafazası uygun değildir.

5 — Antijen, Brusell organizmlerinden ibaret CELLULAR ANTİJEN-DİR; Antikomplementer hassası sebebiyle, fenol yerine preservatif olarak mertiolet ihtiva eden antijenin en zayıf konsantrasyonu ile en yüksek serum dilisyonunda positif reaksiyon veren antijen suspansiyonu, kullanılacak antijenin titresini bildirir, Antijen titraji, standard serum (ISS) ve yerli referans serumlarla yapılır. Bir ünite antijen, İnternasyonal Standard Serum'un 1/120 dilisyonu ile % 50 nisbetinde komplementi fike eden en dilü'e antijen suspansiyonudur. 1/36 lık antijen dilisyonunda ++'lik bir reaksiyo elde edilmiş olsa, bu bir üniteye tekabül ettiğinden ve esas test de de 6 Ünite antijen kullanılacağından, antijenin 1/6 nisbetinde suspansiyonu hazırlanacak demektir. Kesif antijen 4 C. da uzun müddet muhafaza edilebilirse de sulandırılmış olanın bir hafta içinde kullanılması icap etmektedir.

6 — İnternasyonal Standard anti-Brucella abortus Serumu lyophilise edilmiş bir halde Weybridge Enstitüsünden temin edilmekte, 1 ml. steril distile su ilâvesinden sonra 1/48 nisbetinde sulandırılıp, ufak ampullerde 0.7 ml. miktarında eksi 20 C. derecede muhafaza edilmektedir. İşleneceği gün 58 C. da 50 dakika inaktivaşyona tâbi tutulup, 1/48, 1/120, 1/240, 1/480 lik solusyonlarıyla antijen muvahaçesinde CF testine tabi tutulur. Miyar olarak kullanılan buserumla ancak muhtelif laboratuvarlar'da tatbik edilmekte olan CF testinin üniformitesi sağlanmaktadır. Bundan başka Routin testlerin hassasiyeti, üç farklı titreyi havi yerli referans serumlarla da kontrol edilmektedir. Ender de olsa bazı serumlarda PROZONE hadisesi görüldüğünden, bu fenomenin teyidi mahksadiyle, takıma bu vasfı haiz bir serumun da ilâvesi uygun bulunmaktadır.

7 — Muayenesi istenen serum V. B'lı fizyolojik su ile 1/2 nisbetinde sulandırılır. 50 dakika 58 C. derecede inaktive edilir.

8 — Reaksiyon volumu 1.0 ml. olduğundan IX10 cm. eba'dında ufak tüpler kullanılmışsa da orijinalinde routine testler, şeffaf, plâstik, 80 adet ufak kaviyeti ihtiva eden özel Plate'lerde yapılmaktadır.

DIAGNOSTİK TESTİN TEKNİĞİ... Serumun anti - komplementler kontrolü ile birlikte serum dilisyonlarını havi tüp adedi 5 olup, dilisyonlar 1/2, 1/4, 1/10, 1/20 olarak hazırlanır. Antijen, komplement miktarları 0.2, haemolycin ve eritrosit solusyonlarının karışığı 0.4 ml., yekûn hacim ise 1.0 ml. dir. Test iki safhalı olup,

primer ve segonder fixasyonlar, takımın bütün tüplerini 37 C.lık su banyosunda yarımşar saat bırakmakla tamamlanmaktadır. Reaksiyon neticeleri iki defa da okunur, acele olması istendiğinde tüpler santrüfüje edildikten sonra, inhibisyon veya hemoliz dereceleri % 25, % 50, % 75 ve yüzde yüzlük olarak tesbit edilir. 1/10'lük serum dilisyonu KRİTİK TİTRE olarak kabul edildiğinden aşılarda 1/10, aşısızlarda ise 1/4 ve yukarısı müsbet olarak değerlendirilir.

Komplement birleşmesi, ANTİJEN - ANTİKOR birleşmesine merbut tâli bir fizikal adsorbsiyon hadisesi olarak kabul edilmekte olup çift test esasına dayanmaktadır. Birinci reaksiyonda : Komplement, antijen - antikor kompleksini fixe eder. İkinci reaksiyon yani ikinci sistem ise : Birinci testin endikatörü olarak kullanılmaktadır. Bununla komplementin, birinci reaksiyonda fixe edilip edilmediği, kullanılıp kullanılmadığı kontrol edilmiş olur. Birinci reaksiyonda komplement sarf edilmişse kırmızı küreyveler naemolysinle birleşemeyeceklerinden haemolyse husule gelemeyecek ve reaksiyon pozitif olacaktır. Aksi vukua gelirse, muayenesi yapılan serumda spesifik Brusella antikorları mevcut değilse komplement serbest kalacağından, ikinci çiftin yani eritrositlerle haemolytic serumun birleşmesine harcanacak neticede kırmızı küreyveler erimeyecek, tüplerde haemolyse husule gelecek ve reaksiyon menfi sonuçlanacaktır. Bu metod, reaktif maddelerin hassas bir şekilde titre edilmesi esasına dayandığından, reaksiyonun sağa veya sola inhirafıyla yanlış neticeler alınması mümkün olduğundan devamlı dikkat ve mümareseye ihtiyaç gösteren, iş hacmi çok, manipilasyonu vakit olan oldukça komplike bir testtir. Bundan başka CF testi enfekte bir sığıri yeni aşılanmış bir sığırdan ayıramamakta aşılı bir inek, bulaşık bir muhitte bırakılma neticesi hastalığı almışsa, aşı müddeti tamamlanmadıkça CF reaksiyonunun sonucuna göre kesin bir hükme varmak kabil olamamakta bu safhadaki sığırlar süt ve vajen mayi'lerinin muayeneleleriyle kısmen teşhis edilebilmektedirler. Diğer testlere nazaran bütün üstünlükleri yanında yukarıdaki hususiyetler CF testinin desavantajları olarak vasıflandırılabilir.

Evvelce de bildirildiği gibi işlenen materyalin fazlalığı sebebiyle özel çalışmaların SEROLOJİK ve BAKTERİYOLOJİK olarak iki bölümde toplanması uygun bulunmuştur.

SEROLOJİK ARAŞTIRMALARDA KONULAR

1 — Aglutinasyon ve Komplement - fixasyon testleriyle yapılan muayeneler :

a — Aşılı sığırlara ait kan serumlarıyla yapılan mukayeseli muayene sonuçları

b — Aşısız sığırlara ait kan serumlarıyla yapılan mukayeseli muayene sonuçları

2 — Serumla yapılan Tüp - aglutinasyon (SAT) Komplement - fixasyon (CFT) ve Plate - aglutinasyon (PAT) testleriyle yapılan muayeneler :

a — Aşılı sığır serumlarının üç testle mukayeseli muayene sonuçları :

b — Aşısız sığır serumlarının üç testle mukayeseli muayene sonuçları :

3 — C.F. ve Tüp - aglutinasyon testlerinin genel olarak mukayesesi :

4 — Organ ekstraktlarının muayenesi :

a — Ekstraktların hazırlanması

b — Ekstraktlarla yapılan Tüp - aglutinasyon testi

5 — Vajen mayilerinin muayenesi :

6 — Süt numuneleriyle yapılan muayeneler :

BAKTERİYOLOJİK ARAŞTIRMALARDA KONULAR

1 — Kobay inokülasyonları

a — Besi yerlerine ekim.

b — Kobaylardan ekim.

2 — Kesime tâbi tutulan reaktörlerin sıkıt durumu

3 — Kesime tâbi tutulmayan reaktörlerin sıkıt durumu

4 — Ceninlerin muayenesi

5 — Suş izolasyonu

6 — Suşların idantifikasyonları

**AGLUTINASYON VE KOMPLEMENT - FIXASYON
TESTLERİYLE YAPILAN MUAYENELER**

**AŞILI SİĞİRLARA AİT KAN SERUMLARIYLA YAPILAN MUKAYESELİ
MUAYENE SONUÇLARI**

T A B L O : 1

Her iki testle aynı sonucu veren serum		Tüp - aglutinasyon ve Komplement - fixasyon testi arasında									
		UYARLIK			AYKIRILIK						
Adedi	Nisbeti %	Agg.	+	?	—	+	+	?	—	?	—
		Cf.	+	?	—	?	—	+	+	—	?
910	83.71	100	25	785	7	19	39	76	9	27	

1 — Bu araştırma esnasında muayenesi yapılan cem'an 1087 aşılı sığira ait kan serumunun 910 adedinden aynı neticeler elde edilmiş olup uyarlık nisbeti % 83.71 dir. Bu sonuç, hâlen resmî test olarak kullanmakta olduğumuz iki tekniğin tamamen lehine kaydedilecek bir husustur. 1 ve 2 No : lu tablolar da görüleceği üzere 66 serum (25 + 41) her iki testle de şüpheli reaksiyon vermiştir. Bu şekilde henüz reaktör statüsüne girmemiş, düşük pozitif seviyede olan kan serumlarına sahip sığırların bir kısmı hastalığın aktif safhasını geçirip müzmin safhasına girmiş olabileceği gibi bazılarının da enfeksiyona geçici olarak maruz kalmış olmaları mümkündür. Bundan başka bu bakiye antikorlar aşidan da mütevellit olabilir.

2 — 1087 serumdan 177'si ise mezkûr iki testle işlendiğinde birbirine uymayan neticeler vermişlerdir. Tabloda da görüleceği üzere 28 serum (19 + 9) (SAT) ile müsbet ve şüpheli olduğu halde CFT ile menfi bulunmuştur. Bu netice CF testinin SAT'ye olan en önemli üstünlüğünü göstermektedir. Agglutinlerin Komplementi .fixe eden antikorlara nazaran aşidan sonra kanda uzun müddet devam ettikleri bilinmektedir.

Bu araştırmamızda elde edilen önemli neticelerden biri, Naturel Enfekte İnekler'in, vaksine ineklerde: tefriki bakımından CF testinin Aglutinasyon testine üstünlüğü ve bu testin aşı ve enfeksiyon titrelerini birbirinden ayırd etmesini mümkün kılmasıdır.

Araştırmacıların bir kısmı, aşidan 6 ay veya bir sene sonra kan serumunda aglutininlere rastlanmasına mukabil Komplementi .fixe eden antikorların hiç bulunmadığını bildirmekte iselerde, biz iki testle yaptığımız mukayeseli muayenelerde müsbet veya şüpheli reaktör olarak tesbit ettiğimiz 30 aylarını tamamlamış 7 baş aşılı ineği kesime tâbi tuttuğumuzda bunlardan brusella orga-

ganizmlerini izole edememiş olmamız aşının lehine, memnuniyet verici bir husus olup, istisnai de olsa aşından iki sene sonra kanda her iki antikorun da bulunduğu ineklerin mevcudiyetini bildirmektedir.

3 — Bir numaralı tabloda da görüleceği veçhile aşıli sığırlara ait 142 serum SAT ile menfi veya şüpheli bulunduğu halde bunların 115'i CFT ile müs. bet 27'si ise şüpheli bulunmuştur. 30 aylarını tamamlamış olan bu ineklerin serumunda ideal olarak her iki spesifik antikorun da bulunmaması icabederken bunların CFT ile reaktör çıkmaları bir enfeksiyona duçar olduklarını göstermektedir. SA testiyle iktifa edilmiş olsaydı bunlar Brusellosis'den sâlim adedilerek ait oldukları kurumda bırakılacak ve bu suretle hastalığın idâmesinde birinci derecede aktif rol oynayacaklardı. S. 19 aşısının verdiği muafiyet re. lativ olduğundan bu aşı ile vakcinasyonda muvaffakiyet, aşıhların enfekte bir mühitte bulundurulmamalarına ve bilhassa hasta boğalarla temas ettirilmemelerine bağlıdır. Aşının koruyucu tesiri hudutlu, takriben % 70 olduğundan aşıli sığırların bulaşık bir mühitte enfeksiyona maruz kalmaları her zaman mümkündür. Burada da CF testi muvaffak olmuş, aşıhlar arasındaki yeni intaniarı meydana çıkararak o kurumdaki enfekte adedinin minimuma indirilmesini mümkün kılmıştır. Her iki test arasındaki uyarlık kadar aykırılığın da diagnostik bakımdan önemi olup CF testinin bilhassa aşıhlar arasındaki enfekteleri meydana çıkarması bu testin hastalığın eradikasyonunda da büyük faydalar sağlandığını göstermektedir.

4 — 1087 aşıli sığırın aşı müddetlerini tamamladıktan sonra yapılan muayenelerinde 126 serum SAT ile 215 serum ise CF testiyle müsbet reaktör bulunmuş olup aşılama müddetinin sonunda ineklerin serumlarındaki aglutininlerin % 83.5, Komplementi fixi eden antikorların ise % 80.23 nisbetinde kayboldukları tesbit edilmiştir. Hernekadar bu neticeye göre aglutininlerin CF antikorlarından daha çobuk kayboldukları görülyorsa da buna, serumların ekserisinin enfekte kurumlardaki aşıli sığırlara ait olması sebep gösterilebilir.

AŞISIZ SİĞİR SERUMLARIYLA YAPILAN MUKAYESELİ MUAYENE SONUÇLARI

TABLO : 2

Her iki testle aynı sonucu veren serum		Tüp aglutination testiyle komplement - fixasyon testi arasında.									
		UYARLIK			AYKIRILIK						
Adedi	Nisbeti %	Agg.	+	?	—	?	—	+	+	—	?
		Cf.	+	?	—	+	+	?	—	?	—
1309	84.88	429	41	839	17	15	68	22	67	44	

1 — 1542 baş aşısız sığır serumunun iki testle mukayeseli olarak yapılan muayenelerinde 1309 serum aynı sonucu vermiş olup mutabakat nisbeti % 84.88 dir. Aşılı ve aşısız sığırlara ait muayene edilmiş olan 2629 serumun 2219'u iki testle aynı sonucu vermiş korelasyon nisbeti yukarıda bildirilenlere yakın % 84.4 olarak tesbit edilmiştir. İki tablonun tetkikinden elde edilen neticelere göre, aşılı veya aşısız sığır serumlarıyla olsun SAT ve CF Testleri büyük bir nisbette aynı kapasitede işlemektedir.

2 — Yukarıdaki tabloda da görüleceği veçhile 1542 serumdan 233 adedi mezkûr iki testle ayrı neticeler vermiş olup CF testi aşılılarda olduğu gibi, 82 baş (15 + 67) sığırı sâlimler katagorisine ayırmıştır.

3 — 67 serum SAT ile şüpheli CFT ile menfi reaksiyon vermiştir. Kanda dolaşan bu aglutinlerin spesifik olmaması, hayvanın evvelte geçirmiş olduğu Pasteurelosis, Vibriosis, Paratifo, Leptosprosis gibi hastalıklardan Anthrax, Şap aşılılarından ileri geldiği ihtimal dahilindedir. Lâboratuvarda çalışanları nihai kararda zor duruma düşüren bu gibi yalancı reaksiyonları bertaraf etmek için şimdiye kadar bazı testler vaz edilmişse de hâlen bunları kesinlikle elimine eden CF testi olabileceği hükmüne varılmıştır. Bu bakımdan da CFT'nin SAT'ye bir farkiyeti vardır.

4 — 1 ve 2 no'lu tablolarda görüleceği üzere aglutinasyon testiyle müsbet olup da CF ile tamamen menfi bulunan 34 (19 + 15) serumdan bazılarının menfi olmasına enfeksiyonun ilk safhasında sıcağa dayanıksız, komplementi fixe eden antikorların sebep olabileceği akla gelebilir. Biz bu ilk husule gelen antibodylerin lâbil olmasını hesaba katarak aynı zamanda testleri inaktive edilmemiş serumla fakat dilisyonları yarım dozla hazırlıyarak da tekrarlanmaktadır.

5 — Aglutinasyon testiyle menfi reaksiyon veren 66 baş aşısız sığır ise (22 + 44) CFT ile müsbet ve şüpheli reaktör bulunmuştur. Her iki netice de SA testinin aleyhine buna mukabil CFT'nin lehine kaydedilecek hususlardır. 68 sığıra ait serum ise SAT ile şüpheli CFT ile müsbet bulunmuştur. Bu grup hayvanların hastalığın kronik safhasında bulduklarına hükmedilebilir. Kan serumlarında aglutininler azalmış buna mukabil komplementi fixe eden spesifik antikorlar ise azami bir seviyeye ulaşmıştır. Bu sığırların ekserisinin hiperimmunité safhasında olması da ihtimal dahilinde olup incomplete antikorları, complete antikorlara nisbetle, daha çok sayıda sahip olduklarına da hükmedilebilir. Neticede aglutinasyon testinde tam bir reaksiyon husule gelemeyeceğinden şüpheli olarak değerlendirilir. Tek bir testin neticesi ile iktifa edilmiş olsaydı diognostik seviyenin altındaki bu 68 sığır ve bilhassa biraz evvel bahsettiğimiz 66 baş hayvan hastaliksız olanlarla aynı ahırda beraber bulundurulacaklarından gizli portör olarak kalacak ve enfeksiyonun o kurumda uzun müddet eradike edilememesine sebep olacaktır. Kronik safhadaki enfektelerin yalancı kalınmasında CF testi SAT'in açığını kapayarak enfeksiyonun epidemiyolojisi bakımından da yardımcı olmuş, Simultan metodun değeri bir kere daha tebarüz etmiştir.

**TÜP — AGLUTİNASYON, KOMPLEMENT — FİKSİYON VE
PLATE — AGLUTİNASYON TESTLERİYLE YAPILAN
MUAYENELER**

Sürülerde yapılacak sondaj mahiyetindeki araştırmalarda, tatbikindeki kolaylık, ve çabuk netice almak bakımından faydalı bir metod olması sebebiyle Plate - aglutinasyon testini diğer testlere yardımcı olarak kullanılmaktadır. Normal Plate aglutinasyon test antijeninin asitleştirilmesiyle aynı zamanda Non - spesifik reaksiyonların ekarte edilmesinde de bu test faydalı rol oynamaktadır. Bilindiği üzere antijen - antikor birleşmesi en kuvvetli olarak normal Ph. derecesinde vukua gelmektedir. Spesifik Brusella antikorlarının bruella antiyetiyle bu vasatta kuvvetli bir bağlantı kurduğu Ph. derecesi düştükçe bu bağlantıda bir zayıflama huule geldiği, asit vasatın antikorları tahribetmesi mevzu bahis olmasa bile aktivitelerini kısmen azalttığı, buradaki mekanizmanın daha ziyade Non - spesifik aglutinasyonun inhibisyonundan ibaret olduğu, bunun rezervibel bir reaksiyon olup neutralizasyon temin edilince inhibisyonun bertaraf edilebileceği bilinmektedir. Asitleştirilmiş antijen kullanılmadığı takdirde Non - spesifik aglutinasyonlar şüpheli veya pozitif gibi görüleceğinden titrenin kıymeti, Tüp - aglutinasyon testiyle kontrol edilmelidir. Prozone fenomeninin bu test de görülmemesi hemolize serumlara ait reaksiyonların tüpdekine nazaran daha kolay okunabilmesi de bu testin avantajlarından biridir. Bununla beraber SAT gibi bu testin de hassasiyeti hudutludur.

**AŞILI SIĞIR SERUMLARININ ÜÇ TESTLE (SAT, PAT, CFT)
MUKAYESELİ OLARAK YAPILAN MUAYENELERİNDEN
ALINAN SONUÇLAR**

TABLO : 3

Her üç testle aynı sonucu veren serum		UYARLIK		AYKIRILIK											
		Agg	+ ? -	+ + ? ? - + + ? - - ? - ? - ?											
Adedi	Nisbeti %	Pl	+ ? -	+ ? + ? ? ? ? - - ? ? - - ? -											
		Cf	+ ? -	- + + + + ? - + + ? - ? ? - -											
154	72.3		22 1 131	3 10 2 5 1 1 4 3 2 1 7 3 5 6 6											

3 no'lu tabloda da görüldüğü gibi 213 baş aşılı sığıra ait serum üç testle mukayeseli olarak muayene edilmiş olup 154 serum aynı sonucu vermiştir. Korelasyon nisbeti % 72.3 dür.

**AŞISIZ SIĞIR SERUMLARININ ÜÇ TESTLE (SAT, PAT, CFT)
MUKAYESELİ OLARAK YAPILAN MUAYENELERİNDEN
ALINAN SONUÇLAR**

TABLO : 4

Her üç testle aynı sonucu veren serum	
	Adedi 308
	Nisbeti % 65.8
UYARLIK	AYKIRILIK
Agg. + ? —	+ + + ? ? + ? ? — — — + — — ? ? ? — —
Pl. + ? —	+ + ? + ? ? + + + ? — ? + ? — — ? — ?
CF. + ? —	? — + + + ? ? — + + + — ? ? — ? — ? —
168 7 133	5 5 17 12 12 6 5 6 2 6 8 6 5 5 5 127 17 10

4 numaralı tabloda da görüldüğü gibi aşısız sığırlara ait 468 serumun üçlü muayenesinden 308 serumdan aynı neticeler alınmış ve mutabakat nisbeti % 65.8 olarak tesbit edilmiştir.

**COMPLEMENT — FİKSASYON VE TUP AGLUTİNASYON
TESTİNİN GENEL OLARAK MUKAYESESİ**

TABLO : 5

Aşı Durumu	Muamene edilen serum adedi	Aglutinasyon testiyle bulunan positif		Complement . fixasyon testiyle bulunan positif	
		Adedi	Nisbeti %	Adedi	Nisbeti %
Aşılılar	1087	126	11.59	215	19.78
Aşısızlar	1542	461	29.90	519	33.65
Toplam	2629	587	22.32	734	27.91

5 no'lu tabloda da görüleceği üzere bugüne kadar iki testle mukayeseli olarak, aşıli veya aşısız sığırlara ait 2629 serum muayene edilmiş olup aglutinasyon testiyle 587, CFT ile 734 positif reaktör tesbit edilmiştir. CFT bilhassa aglutinasyon testiyle müsbet

ve şüpheli bulunan bir çok aşılu sığırları menfiye ayırdığı halde yine de yakalandığı reaktör adedi SA testininkinden fazladır. Bu da bize SA TESTİNİN HASSASİYETİNİN HUDUTLU, BUNA MUKABİL CF TESTİNİN BU HUSUSDA DA SA TESTİNE NAZARAN AŞIKÂR BİR AVANTAJI OLDUĞUNU, BİLHASSA NATUREL ENFEKTELERDE CFT NİN UMUMİYETLE SAT DEN DAHA YÜKSEK TİTRE VERDİĞİNİ BİR KERE DAHA GÖSTERMEKTEDİR. Yine 5 no'lu tabloda görüleceği üzere Tüp - aglutinasyon testi % 22.32 CF testi ise % 27.91 oranında positif reaktör yakalamıştır. Bu durum CFT nin AGLUTİNASYON TESTİNE NAZARAN % 24.32 NİSBETİNDE DAHA FAZLA HASTALIKLI SIĞIRI MEYDANA ÇIKARDIĞINI GÖSTERMEKTEDİR. BÜTÜN BU NETİCELERDEN ELDE ETTİĞİMİZ KANAATA GÖRE BRUSELLOSİS'İN SEROLOJİK TEŞHİSİNDE CF TESTİ AGLUTİNASYON TESTİNİ SADECE TEYİT EDER MAHİYETTE YARDIMCI BİR TEST OLMAYIP, İHMALİ HASTALIĞIN MÜCADELESİ BAKIMINDAN, ZARARLI NETİCELER TEVLİT EDEBİLECEK ÖNEMLİ BİR SEROLOJİK METOD'DUR.

ORGAN EXSTRAKTLARININ MUAYENESİ

Extraktların Hazırlanması : Kesim günü sığırlardan alınan taze materyaller : genital organların hepsi, dalak ve karaciğerden alınan irice parçalar, memeler (Glandula mammae) meme üstü (Lymphonodisupramamar.) Subiliac lenf uktelerinden ibarettir. Bu organlar temiz şartlarda yağ ve diğer nesiclerden disike edilip, ufak parçalara ayrılıp, steril havada kumla iyice ezildikten sonra fizyolojik tuzlu su ile emilziyonlar hazırlanmış, bu emilziyonlar nesic parçalarının çökmesi için 10 dakika 200 devirde santrifüje edildikten sonra üstteki mayi tekrar steril godelere aktarılıp bu defa 3000 devirde 45 dakika santrifüje tâbi tutulmuştur. Serolojik muayene için supernatant mayiden bir miktar ayrı bir tüpe alındıktan sonra üstteki mayi atılmıştır.

Extraktlarla Yapılan Tüp - Aglutinasyon Testi : Foetal membran veya foetus mide suyu ekstraktlarının antijen olarak kullanılması esasına dayanan Holt muayene metodunun aksine biz karaciğer, dalak, genital organ, meme ve lenf uktelerinden hazırladığımız 27 adet ekstraktı serum gibi kullanarak normal Brusella Tüp . aglutinasyon antijeniyle teste tâbi tuttuk.

6 no'lu tabloda da görüleceği üzere ekstraktlarından Brusella organizmleri ürettiğimiz, 10 baş ineğe ait supernatant mayii ile yapılan Tüp - aglutinasyon testinde 1/2 - 1/32 dilisyonları arasında müsbet reaksiyon elde edilmiş buna mukabil, Brusella ayıramadığımız 12 baş sığırın ekstraktları menfi işlemiştir. Demek oluyor ki ekstraktların aglutinasyon sonucu ile mikrop izolasyonu arasın.

EXSTRAKTILARLA YAPILAN TÜP AGLUTINASYON TESTİ

TABLO : 6

DİLİSYONLAR										
Ineğin kulak numarası	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	Brusella
493	4	4	4	4	4	2	3	2	±	üredi.
816	4	4	4	4	4	1	±	—		üredi.
817	4	4	4	4	3	1	—	—		üredi.
586	4	4	4	3	2	1	—			üredi.
587	4	4	4	3	2	±	—			üremedi.
491	4	4	4	3	2	±	—			üredi.
824	4	4	4	3	1	—	—			üredi.
562	4	4	4	2	2	2	±	—		üremedi.
561	4	4	4	2	+	±	—			üremedi.
511	4	4	3	2	1	1	—	—		üredi.
495	4	4	3	±	—					üredi.
442	4	2	1	—	—					üredi.
413	2	3	1	±	+					üredi.
496	—	—	—	—	—					üredi.
12 adet menfi...	—	—	—	—	—					üremedi.
483	»	—	—	—	—					ceninden üredi.

VAJEN MAYİİLERİNİN MUAYENESİ

TABLO : 7

Aynı neticeyi veren Vajen Mayii		UYARLIK		AYKIRILIK	
Adedi	Nisbeti %	Mucus testi —	—	—	—
		Agg testi —	—	+	?
		Cf testi —	—	—	—
18	75		18	5	1

da % 81.4 oranında bir uyarlık mevcuttur. Bu da bize testin doğruluğunu bildirmektedir.

1 — 7 no'lu tabloda da görüleceği üzere bu araştırma esnasında Devlete ait kurumlardan 24 vajen mayii gönderilmiş olup bunların hepsi MUCUS - AG. LUTİNASYON TESTİYLE menfi reaksiyon vermiştir .Serolojik testlerle mu. tabakat nisbeti % 75 dir.

2 — CFT ile serumu menfi bulunan ineklerin vajen mayiileri de menfi işlemiştir.

3 — 24 vajen mayii nümunesinin ait olduğu ineklerden 19'u aşılı olup bunlardan 5'inin SA testiyle müsbet, birisinin şüpheli reaksiyon vermesine mukabil CFT ile hepsi menfi reaksiyon vermiştir. Mucus test, CFT ile Paralel işlemek.

le onu teyid etmiş olup, kan serumunda SAT ile tesbit edilen aglutininlerin aşı bakiyesi olduğuna hükmedilmiştir.

4 — Vajen mayileri muayene edilen aşı ve aşısız ineklerin 15 inden aynı zamanda süt de gönderilmiş ve menfi bulunmuştur. Demek oluyor ki LAK. TO. SERO AGLUTİNASYON, MUCUS TEST VE CFT AYNI PARALELDE İŞLEMİŞ OLUP HER ÜÇ METOD BİRBİRİNİ KAT'İYETLE TEYİD ETMİŞTİR.

Memeler enfekte olunca mustakil olarak antikor husule geldiği gibi bakteriyemi devrini müteakip organizmler birinci derecede genital organlara yerleştiğinden buralarda da spesifik aglutinler zuhur etmekte ve Brusellalar da vajen mayi ile, inek tekrar gebe kalıncaya kadar, itrah edilmeğe devam etmektedirler. Kotilodonlarda husule gelen erythritol (erythrol) maddesinde Brusella organizmleri üremek için iyi bir vasat bulmakta, gebeliği veya sıkıtı müteakip bol miktarda akıntı ile aylarca dışarı atılmaktadır. Bu bakımdan Mucus Test ve vajen mayiinden mikrop izolasyonu bilhassa sexüel olgunluğa erişmiş Aşılı Reaktörlerin Naturel Enfektelerden tefrikinde kat'i sonuç vermektedir.

SÜT NÜMUNELERİYLE YAPILAN MUAYENELER

Serolojik reaksiyonları değerlendirirken çok defa müsbet statüsüne yakın şüphelilere veya şüpheli statüsüne yakın reaksiyon veren menfi serumlara rastlanılmakta bu gibi durumlarda süt, vajen ve sperma mayilerinin muayenelerinden alınacak sonuçlar yardımcı olmaktadır. Bu araştırma esnasında serumlarımızı muayene ettiğimiz sığırlardan 120 süt numunesi gönderilmiş olup bu hususta 8 numaralı tabloda bilgi verilmiştir.

SÜT VE SERUM MUAYENELERİNDEN ALINAN NETİCELERİN MUKAYESESİ

TABLO : 8

Serolojik muayenelere uyan süt Adedi Nisbeti %	Süt. + - + + + + + - - - - -													
	Agg.	+	-	+	?	?	-	-	+	+	+	?	-	?
CF.	+	-	?	-	+	+	-	+	-	?	?	?	-	
87	72.5	24	63	1	1	1	1	1	8	2	1	4	2	12

1 -- 8 no'lu tabloda da görüleceği üzere süt numuneleriyle simultan olarak yapılan serolojik muayeneler arasında % 72.5 nisbetinde bir uyarlık mevcuttur.

2 — Süt ve serumları müsbet reaksiyon veren 24 baş inekten 7'sinin organ ekstraktlarından, birinin de cenininden Brusella üretilmiştir.

3 — Tabloda da görüleceği üzere 29 inek serolojik testlerle müsbet veya şüpheli olup sütleri menfi bulunmuştur. Aynı zamanda serolojikman menfi olup süt muayeneleriyle enfekte oldukları anlaşılan inekler de mevcuttur. Bilhassa yaşlı ineklerde hastalığın sinsi seyretmesi muhtemel olduğundan bu gibi gizli portörlerin yakalanması için laktasyon devrindeki her inekten serumla birlikte süt de gönderilmesinin sürüdeki gizli Enfeksiyon Rezervuarlarının meydana çıkarılması bakımından faydalı olacağı aşikârdır.

4 — S. 19 aşısını müteahip, aşı suşunun sütle itrah edilmediği, memelerde lokalize olmadığı aşlamadan sonra bir müddet süt de teşekkülüne sebep olduğu aglutininlerin ise bir kaç hafta içinde kayboldukları bilinmektedir. Muayene ettiğimiz 120 süt nümunesinden 21'i aşı ineklere ait olup hepsi menfi bulunmuştur. Serumlarında müsbet veya şüpheli seviyede antikor tesbit edilen aşıların laktasyon devresindeyseler, sütlerinin de serolojik testlere paralel olarak muayene edilmesi aşılar arasındaki naturel enfektelerin tesbitini kolaylaştırmakta aşı kâhil bir inek serolojikman menfi dahi bulunsa sütü müsbet reaksiyon verdiği takdirde enfekte olduğuna hükmedilmektedir.

BAKTERİYOLOJİK MUAYENELER

MATERYAL

1 — Devlete ait kurumlarla halkın elindeki 99 aşısız ve 7 baş aşı olmak üzere cem'an 105 baş inekle bir baş boğa kesime tâbi tutulmuş, bunlardan temin edilen genital organlar, dalak, karaciğer, meme ve lenf uktelerinden ekstraktlar hazırlanmıştır.

2 — Bu ineklerden 35 başı sıkıt yapmışsa da ceninler her zaman gönderilemediğinden lâboratuvarımız tarafından bunlardan ancak 10 adedi bakteriyolojik muayeneye tabi tutulabilmiştir.

3 — Kesime tâbi tutulan sığırlardan başka serolojikman muayene edilen ineklere ait 56 adet cenin de muayenelere dahil edilmiştir.

METOD

Kobay İnokulasyonları : Organ materyallerinin 3000 devirde 45 dakika müddetle yapılan ikinci santrifüjünde üstte toplanan mayi serolojik muayenelerde kullanılmış, d'pteki sedimentin fizyolojik tuzlu su ile emiziynu yapıp

3-5 adet kobayın iki arka bacaklarının adesi içine 0.5 ml. miktarında zerk edilmiştir. Kış aylarında kobayların vakitsiz ölümleri başlayınca materyalin bir kısmına penisilin ilâve edilmiştir. Fakat penisilin bazı Brusella suşlarını inhibe ettiği bilindiğinden kobaylardan sadece birine, zerk materyalinin mililitresinde 8 - 10.00 Ünite penisilin ilâve edilerek verilmiştir. Aynı zamanda spesifik besi yerlerine de bu antibiotikli materyalden ekim yapılmıştır.

Besi Yerlerine Yapılan Direkt Ekimler : Santrifüj godesinin dibinde toplanan materyale penisilin ilâvesinden sonra Ethyle - violeli 1/800.000 ve Ethyle violesiz olmak üzere Serumlu Nutrient agarı [bir litre distile su + 25 gr. agar + 15 gr. pepton + 5 gr. sodium chloride + 5 gr. et ekstraktı + 50 ml. dextroslu serumun stok solusyonu (100 ml. inaktive beygir serumu + 20 gr. dextrose)] ihtiva eden Petrilere 0.1 ml. miktarında ekim yapılmıştır. Ethyle violetin stok solusyonu % 0.1 olarak distile su ile hazırlanıp filtre ve sterilize edilmeden muhafaza edilmekteyse de bu solusyon üç aydar fazla bekletilmemektedir. Ekilen petri kutuları volumetrik olarak % 10 nisbetinde CO₂'i havi desikatörlerde, 37 C l'k etüvde asgarî beş gün bırakıldıktan sonra, stereoskopik mikroskopta 45 derecelik oblique ışık altında petri kutularının muayenesi yapılarak tipik veatipik kolonilerin tefrikine çalışılmış ve bu direkt metotla 106 materyalden ancak 4 Brusella suşu elde edilebilmiştir. Tipik kolonilerden preparatlar yapılarak boyandıktan sonra 1/5 nisbetinde fizyolojik tuzlu su ile sulandırılmış pozitif Anti - brusella serumu ve menfi bir serumla kolonilerden alınan germeler seri aglutinasyona tâbi tutulup yatık agarı havi tüplere pasajları yapıldıktan sonra, tip tayini için İngiltere'deki Weybridge Enstitüsü şeflerinden Dr. Morgan'a gönderilmiştir.

Kobaylardan Ekim : a) Evvelce bahsedildiği tarzda hazırlanan ekstraktlar kobaylara zerk edilmiş olup kobay inokulasyonları sonunda 36 adet Brusella suşu izole edilmiştir.

Suş izole edilen	KESİM GÜNLERİ																
	21	24	26	30	31	32	33	35	36	38	39	43	44	45	48	51	52
Kobay adedi	2	2	1	3	2	5	1	2	2	3	1	2	3	1	1	1	3

b) Yukarıdaki tabloda da görüleceği üzere umumiyetle 21 - 52 günleri arasında kesime tâbi tutulmuş olan kobaylardan Brusella'ların izolasyonları mümkün olabilmıştır.

c) Takriben 10.000 ünite penisilinle karıştırılmış ekstrakt zerkettiğimiz 45 kobaydan 6 suş izol edilmiştir. Aynı zamanda bu penisilinli materyaller besi vasatlarına da ekilip 4 suş ayrıldığına göre penisilin bu miktarının umumiyetle Brusella suşlarına bir zarar vermediği neticesine varılmıştır.

d) Kobay inokulasyonları ile 36, direkt ekimlerle ise ekstraktlardan 4 Brusella suşu ayrılmış olup kobay yolu ile izolasyon nisbeti % 34 olduğu halde direkt usulde % 3.7 dir.

Kesime tâbi tutulan reaktörlerin sıkıt durumu : Kesime tâbi tutulan 106 baş ineğin 36'sı sıkıt yapmış bunların düşük ceninlerinden 10 tanesi ancak elde edilebilmiş ve 8'inden Brusella üretilmiş

tir. Burada ceninlerden Brusella üretme oranı % 80 dir, sığıtın biri ölü doğumdur. Sığıt yapan bu 35 inekten 33 başı, iki ana testle yapılan mukayeseli muayenede müsbet reaktör bulunmuş olup serolojik testlerle sığıt yapma arasında % 94 oranında mutabakat tesbit edilmiştir.

Kesime tâbi tutulmayan reaktörlerin sığıt durumu : 1 — Kesime tâbi tutulmayan fakat sığıt yapmış olan 95 baş reaktörden ancak 56 cenin elde edilmiş olup 14'ünden Brusella üretilmiştir. Burada ceninlerden Brusella izolasyon oranı % 25 dir. Muayenesi yapılan cem'an 66 adet ceninden ise suş izolasyon nisbeti % 33.33 dür.

2 — Kesime tâbi tutulmayan fakat sığıt yapmış olan bu 95 reaktörün 44'ü simultan usulla müsbet reaksiyon vermiş, iki ana testle müsbet bulunan ineklerin sığıt yapımları arasında % 46.31 oranında mutabakat tesbit edilmiş, kesilenlerde ise bu nisbet % 94.2 bulunmuştur. İki ana testle kuvvetli reaktör olan cem'an 77 (33+44) baş aşılı, aşısız ineğin bu durumda sığıt yapma oranı ise % 59.23 dür. Sığıt yapan ineklerin yarısından fazlasının kan serumlarında her iki antikor da azâmi seviyede bulunuyor demektir.

Ceninlerin Muayenesi : 1 — Evvelce de bahsedildiği gibi serolojikmuayeneleri yapılan cem'an 130 baş aşılı, aşısız inek bu araştırma müddeti içinde sığıt yapmış olup, bunlara ait ancak 66 cenin lâboratuvarımıza gönderilmiştir.

2 — Kesilen veya kesilmiyen ineklere ait bu 66 ceninden 22 Brusella suşu ayrılmış ceninlerden suş izolasyon nisbeti % 33.33 dür.

3 — Sığıt yapan ineklerin 28'i aşılıdır. Bunlardan 23'ü her iki testle yapılan serolojik muayenede menfi bulunmuştur. Gönderilen 18 ceninden de Brusella üretilmemiştir.

SUŞ İZOLASYONU

1 — Kesime tâbi tutulan 106 baş sığıra ait ekstraktlardan 40 suş izole edilmiştir.

2 — Kesilen 106 baş sığırın 77 başının ekstraktlarından suş ayrılmamışsa da bunlardan 6 baş ineğin yalnız ceninlerinden suş izole edilmiştir. İki ineğin ise ceninlerinden, aynı zamanda genital organ ekstraktlarından da Brusella ayrılmıştır.

3 — Kesime tâbi tutulan sığıtlıların her iki testle müsbet ve-

ren 33 başının 12'sinin genital organlarından Brucella izole edilmiş olup, sıkıt yapan reaktörlerden Brucella izolasyon oranı % 36.36 dır.

NETİCE OLARAK İNEKLERİN ORGAN EKTRAKTLARINDAN 40, CENİNLERİNDEN 22 OLMAK ÜZERE BU ARAŞTIRMA ESNASINDA 62 ADET BRUSELLA SUŞU İZOLE EDİLMİŞTİR. EKTRAKTLARDAN SUŞ İZOLASYON ORANI % 37.73 KESİLEN VEYA KESİLMİYEN İNEKLERE AİT CENİNLERDEN SUŞ AYIRMA ORANI % 33.33 DÜR.

GENİTAL ORGANLARINDAN VEYA CENİNLERİNDEN BRUCELLA ORGANİZLERİ ÜRETİLEN İNEKLERİN AGLUTINASYON VE KOMPLEMENT - FİKSASYON TESTLERİNE AİT TİTRELERİNİN MUKAYESESİ

TABLO : 9

Suş Adedi	Hastalık durumu	Aglutinasyon testi				Hastalık durumu	Complement fixation testi					
		1/10	1/20	1/40	1/80		1/2	1/4	1/10	1:20		
	müsbet											
27	reaktör	4	4	4	4	Müsbet	4	4	4	4		
1	» »	4	4	4	3	reaktör	4	4	4	3		
2	» »	4	4	4	4	» »	4	4	4	1		
1	» »	4	4	4	3	» »	1	4	4	4		
1	» »	4	4	4	4	» »	4	4	4	4		
2	» »	2	4	4	4	» »	4	4	4	4		
1	» »	4	4	2		» »	4	4	4	4		
1	» »	4	4	4		» »	4	3	3	2		
1	» »	4	4	4	4	» »	—	4	3	4		
1	» »	4	4	3	2	» »	4	4	1	—		
1	» »	4	4	4	3	» »	2	3	2	1		
1	» »	4	3	4		» »	4	4	2	—		
1	» »	4	3	3		» »	4	2	1	—		
1	» »	4	3	2		» »	3	3	2	—		
1	» »	3	3	3	4	» »	4	4	4	4		
1	» »	3	4	2	—	» »	4	4	2	1		
1	» »	4	4	2	—	şüpheli	4	1	—	—		
1	şüpheli »	3	2	2		müsbet	4	4	4	4		
1	» »	3	3	2		müsbet	4	4	4	4		
1	» »	4	1	—		şüpheli	2	—	—	—		
1	menfi »	2	1	—		müsbet	4	2	—	—		

Reaksiyon dereceleri :

4 = % 100 lük, 3 = % 75 lik, 2 = % 50 lik, 1 = % 25 lik inhibisyon — = Tam hacmolyse.

1 — 9 no'lu tabloda da görüleceği üzere kesilen ineklerin ekstraktlarından 29, ceninlerinden 6, kesilmeyen ineklerin ceninlerinden ise 14 olmak üzere izole edilen ORJİNİ FARKLI CEM'AN 49 ADET SUŞUN. ait oldukları ineklerin serolojik reaksiyon derecelerine göre 34 suş, kan serumları her iki testin bütün dilisyonlarında komple yüksek bir reaksiyon gösteren sığırlara ait olup suşların % 69.38'i bu gibi simultan olarak yapılan muayenelerde kuvvetli müsbet bulunan ineklerden ayrılmıştır.

2 — Yukarıdaki tabloya göre iki ana testle de müsbet reaktör bulunan ineklerden 44 suş ayrılmış olup suşların % 89.79 unu bunlar teşkil etmektedir. Neticede simultan olarak SAT ve CFT İLE POSİTİF REAKTÖR BULUNAN İNEKLERİN TAKRİBEN % 90 NINDAN BRUSELLA İZOLE EDİLMİŞTİR.

3 — Yine 9 no'lu tablo da görüleceği üzere 1/2 de komple, 1/4 de % 25 lik ve % 50 lik derecede CF testine reaktif olan üç baş aşısız inekten de Brucella organizmleri ayrılmıştır. Bundan anlaşıldığına göre AŞISIZ İNEKLERDE CFT'nin 1/2 DİLİSYONUNDA BİLE TAM BİR FİKSİYON YANI İNHİBİSYON ENFEKSİYONU BİLDİREBİLMEKTEDİR.

SUŞLARIN İDANTİFİKASYONLARI

1 — Yukarıdaki tablodan da anlaşılacağı üzere kesime tâbi tutulan ineklerin genital organlarından 40, ceninlerinden 8, kesilmeyenlerin yalnız ceninlerinden 14 olmak üzere cem'an 62 suş ayrılmış olup bunların tipleri tabloda bildirilmiştir.

2 — İzole edilen 62 suşun 52'si Weybridge Enstitüsünde idantife edilmiş ve 42 suş Brusella Abortus Biotype 3, 8 adet suş Brusella abortus Biotype 1, bir suş Brusella Melitensis Biotype 2, bir suş ise Brusella Abortus'un Rough kültürü olarak bildirilmiştir. Sığırlardan ayrılan bu 61 suşun Brusella abortus Bang olmasına

TABLO : 10

Suş adedi	İN EK L E R İ N Ceninlerinden ayrılan suş- ların tipleri	Extraktlarından ayrılan suş- ların tipleri
27	Brucella abortus biotype 3
15	Brucella abortus biotype 3	
9	Brucella abortus Bang
5	Brucella abortus biotype 1	
3	Brucella abortus biotype 1
1	Brucella abortus Bang	
1	Brucella abortus'un Ro- ugh kültürü.	
1	Brucella melitensis biotype 2
Yekûn : 62		

mukabil bir suş Melitensis karakterde bulunmuştur. NETİCE OLARAK MEMLEKETİMİZDE, SIĞIRLAR ARASINDA SEYRETMEKTE OLAN BRUSSELLA ENFEKSİYONLARINDA PREDOMİNANT TİP BRUSSELLA ABORTUS BİOTYPE 3 DÜR.

ARAŞTIRMADAN ELDE EDİLEN NETİCELERİN MÜNAKAŞASI

Bir hastalığın herhangi bir safhasında bulunan bir canlıyı tek bir metodla meydana çıkaracak kapasitede bir teşhis usulü henüz elimizde mevcut olmadığına göre halen kullanmakta olduğumuz lâboratuvar testlerinin en faydalı olanlarını tesbit etmek zarureti çalışmaların birinci gayesi olmuştur. Halen rutin test olarak kullanmakta olduğumuz diagnostik metodların bakteriyolojik olarak da kıymetlendirilmesi bu araştırmanın ikinci önemli gayelerinden biridir. Diğer enfeksiyöz hastalıklarda olduğu gibi Brusellosis Mücadelesinde de tek bir metodun kullanılmasının, bir çok enfeksiyon rezervuarlarının sürüde kalmasına sebep olacağından SİMÜLTAN USUL, TEK TESTİN HATALARINI ÖNLIYEREK eradikasyonu kolaylaştırmış, bundan başka S. 19 aşısının sexüel olgunluğa erişmemiş sığırlara tatbiki başlanmasıyla meydana gelen vaksine sığırların, naturel enfektelerden tefriki problemi de CF testinin bizde rutin testler arasına dahil edilmesiyle oldukça hal yoluna girmiştir. Bizden evvelki araştırmacılar da iki testin müşterek olarak kullanılması fikrindeydiler. (69,31,76,65,39,11,37,35,68,79,36,54,57,30,78,75,84,41,5,46,74).

Biz de bu araştırmada 2629 serumun simultan usulle muayenesini yapmış, 2219 serum SAT ve CFT ile aynı sonucu vermiş neticede iki test arasında %

84.4 oranında bir mutabakat tesbit etmiş bulunmaktayız. Yüksek derecedeki bu paraleliyet her iki testin lehine kaydedilecek bir husus olmakla beraber CF testinin SAT den daha hassas bir metod olduğu hususunda bizden evvelki araştırmacıların elde ettikleri neticeleri biz de bu araştırmada teyid etmiş bulunmaktayız (84,41,15,35,46,78,52,31,18,83,28,32, 33,66,23,14,37,44,36,54,58,80,55,75). 2629 aşılı ve aşısız sığira ait serumun kombine metoduyla yapılan muayenesinde SAT'nin 587, CFT'nin 734 serumu müsbet bulduğunu yani SAT % 22.32, CFT ise % 27.91 oranında pozitif reaktör yakaladığını CFT'NİN SAT'YE NAZARAN % 24.32 NİSBETİNDE DAHA FAZLA HASTALIKLI SİĞİRİ MEYDANA ÇIKARDIĞI, neticede aglutinasyon testinin kapasitesinin hudutlu bunamukabil CFT nin daha hassas bir test olduğu bir kere daha teyid edilmiştir.

S. 19 aşısının geniş ölçüde tatbiki başlamasıyla CF testinin önem kazandığı, NATUREL ENFEKTELERİN VAKSİNE SİĞİRLARDAN TEFRİKİNDE EN EMİN METOD OLDUĞU hususunda yapılan araştırmalar evvelki çalışmaları tamamen teyid eder mahiyette bulunmuştur (61,23,39,46,8,79,85,78,64). 1 nolu tabloda da görüleceği üzere SAT ile müsbet ve şüpheli reaksiyon veren aşılı sığırlar CFT ile menfi bulunmuşlardır. Bunların süt, vajen mayileri de menfidir. Ekstrakt ve ceninlerinden de Brusella üretilmemiştir. Netice de aşılama iki sene sonra dahi kanda görülen bu aglutininlerin aşı bakiyesi olduğuna kesinlikle karar verilebilir. Yine aynı tabloda görüleceği üzere 1087 aşılı sığır serumunun 785'i simultan muayenelerde menfi bulunmuş olmasına mukabil 100 serum her iki testle müsbet, 25'i ise her ikisiyle şüpheli bulunmuştur. Bütün bu sığırlar aşılama müddetini geçirmiş oldukları halde, bilhassa 100 tanesinin kanlarında her iki antikor seviyesinin de yüksek bulunuşu bunların enfekte olduğunu gösterebileceği gibi Studentsov (1965) araştırmasına göre bu antikorların yabancı aşılama sonunda tahrik neticesi artmış olması da ihtimal dahilindedir. Aynı araştırmacı aşılama iki sene veya daha uzun müddet kanda her iki antikorun devam edebileceğini de bildirmektedir. Bazı araştırmacılar ise, danalık aşılama tabii tutulmuş fakat enfekte bir muhitte büyütülen düvelerin yüksek nisbette ve devamlı olarak serum titresine sahip olduklarını, aşılama mütevellit mukavemetlerinin kırılarak hastalığa yakalandıklarını bildirmişlerdir (23,79,58,52,64,51). Bu 100 baş aşıllının kat'i durumu süt, vajen mayii ve cenin muayeneleriyle ancak belli olacaktır.

Bilindiği üzere S. 19 aşısından sonra aglutininlerin erken teşekkül edip geç kayb olduğu buna mukabil komplementi tutan antikorların geç husule gelip erken kayb olduğu hususunda ekseri araştırmacılar hem fikirdirler (61,82,23,39,41, 46,79,36,8,85,70,78,63,15,35). Araştırmacıların, dana iken aşılama sığırların bir yaşını doldurmadan önce Tüp - aglutinasyon testine nazaran CF testi ile daha çabuk negatif olduklarını tesbit etmelerinden sonra bu test daha çok önem kazanmıştır (52). Mackinnon (1963) yaptığı araştırmada enfekte olmamış aşılı sığırlardan temin edilen serumların % 93.8'inin 1/4 dilisyonunda ++ lik bir titre altında reaksiyon gösterdiklerini, Br. abortus organizmleri çıkaran sığırlardan temin edilen serumların büyük bir kısmının ise 1/10 veya bunun üstünde bir titreye sahip olduklarını, 1/10 serum-antijen dilisyonunu KRİTİK TİTRE olarak kabul ettiğini, Fagard ve arkadaşları (1959) aşılı sığırlardan CF antikorlarının 4 ay sonra tamamen kayb olduğunu eğer devam ediyorsa

hastalığa yakalanmış olduklarını, **Kocowicz ve arkadaşları** (1960) aşidan sonra 9 ay müddetle her iki antikoron da kanda mevcut olduğunu 9 aydan sonra CF antikorları kaybolduğu halde aglutininlerin devam ettiğini. **Blagovesetsc. schenskaya** (1954) 12 aylığa kadar aşılansın olan sığırların 6 aydan sonra CF testine negatif reaksiyon verdiklerini, **Brusella Exper'er Komitesi** (1964) gençken aşılansınların çoğunun aşılansın 6 ay sonra CF testine negatif olduklarını. **Studentsov** (1965) CF antikorlarının ve aglutininlerinin kanda iki sene kaldığını, **Vaweren** (1965) bulaşık olmayan bir sürüde vaksinasyonundan bir sene sonra sığırların takriben % 94'ünün CFT ile menfi bulunduğunu, **Sarısayın ve Eroğlu** (1967) gençken aşılansınların 9 ay içinde aşidan ileri gelen çeşitli antikorların müsbet sınırlar altına düştüğünü veya tamamen kaybolduğunu fakat enfeksiyonun şiddetli olduğu sürülerde ise mukavemetin kırılarak tâbii enfeksiyonun ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Biz de bu araştırmadan elde ettiğimiz neticelere göre 1087 aşılı sığırın aşılama müddeti sonunda yapılan muayenelerinde 126 serumu SAT ile 215 serumu ise CFT ile müsbet reaktör olarak tesbit etmiş bulunmaktayız. Demek oluyor ki aşidan sonra husule gelen spesifik aglutininler % 88.5, komplementi tutan antikorlar ise % 80.23 nisbetinde kaybolmuşlar yani kanda uzun bir zaman devam etmişlerdir. Bu netice literatür bilgisine aykırı görülmekteyse de bazı hara ve inekhanelerimizin bulaşık olması sebebiyle aşılı ineklerde muafiyetin kırılarak çok defa hiç bir enfeksiyon belirtisi göstermiyen naturel enfeksiyonların meydana geldiği bu gibi aşılı rezervarları ise CF testi, SAT den daha fazla yakalayabildiği anlaşılmaktadır. Bu arada, elde ettiğimiz diğer bir sonucu da bildirmek isteriz. SAT ve CFT ile müsbet veya şüpheli bulunan 7 baş aşılı inek kesime tâbi tutulmuşsa da ekstraktlarından veya ceninlerinden Brusella üretilenmiş, laktasyon devrinde olanların sütleri de menfi reaksiyon vermiştir. Keza bu araştırma esnasında 28 baş aşılı inek sıkıt yapmış bunlardan 3'ü müsbet reaktör bulunmuş fakat cenin veya ekstraktlarından Brusella ayrılamamış sütleri de menfi işlemiştir. Bundan anlaşıldığına göre aşılansın 2 sene sonra dahi, ferdi hassasiyetleri dolayısıyla, spesifik antikoru taşıyan inekler bulunabilmektedir. Bu neticeler bize bilhassa enfekte olmıyan kumrullardaki aşılı reaktörleri kesime tâbi tutmadan evvel kabilse süt, vajen mayii muayenelerinin de komple olarak yapılması zaruretinin bildirmektedir. **Keskintepe** (1967) Brusella enfeksiyonu genital organlara yerleştiği zaman bu organ hücrelerinin yüksek titrede aglutinin husule getirdiğini, bu antikorların kısa bir müddet düşük titrede kan sirkülasyonunda da görüldüğünü, serumdaki antikorların da yine kısa bir müddet vajenmayiinde pasif olarak bulunduğunu bildirmiştir. 7 no'lu tabloda da görüleceği üzere Mucuz. aglutinasyon testiyle CFT ve SAT arasında % 75 mutabakat tesbit edilmiştir. 24 vajen mayii nümunesinin 19'u ise aşılı ineklere aittir. Bunların kan serumları CFT ile tamamen menfi bulunduğundan kandaki aglutininlerin aşılı bakiyesi olduğuna hükmedilmiştir. Bütün bu neticeler bize şüpheli aşısızların ve aşılı reaktörlerin enfekte olarak idantifikasyonlarında ihtiyath davranılmasının icabettiğini bildirmektedir. Boğaların da antikör seviyesi düşük olarak gizli portör halinde kalmaları sebebiyle serum muayeneleri yanında SEMİNAL PLASMANIN DA

SPERMO - AGLUTINASYON TESTİNE tâbi tutulması hastalığın sinsi olarak yayılmasını önlemiş olacaktır.

2 no'lu tabloda da görüleceği gibi aşısız sığırlar arasındaki müzmin vak'aların meydana çıkarılmasında da CF testi SAT'ye nazaran büyük bir üstünlük göstermiş olup SAT ile menfi reaksiyon vermiş olan 66 sığır serumu CFT ile müsbet ve şüpheli bulunmuştur. Aynı şekilde SAT ile şüpheli olan 68 sığırdaki CFT ile müsbettir. Bundan anlaşıldığına göre CFT diğer araştırmacıların da (84,35,78,34,79,24,41,28) bildirdiği gibi kronik vak'aları, yaşlı mikrop taşıyıcıları meydana çıkarmakla CF testi hastalığın eradikasyonunu kolaylaştırmakta ve dolayısıyla epidemiyolojisinde aktif bir rol oynamaktadır.

CF testinin diğer önemli bir özelliği ise Ag. testinde görülen Non -spesifik reaksiyonları bertaraf edilebilmesidir. Bürki (1960) bâti serum aglutinasyon testinde pozitif reaktör olan 223 sığıra ait serumu CF testiyle işlediğinde bunların 181'ini, aynı şekilde Bürki (1960) diğer bir araştırmasında enfekte sürülere ait 1000 baş ineğin kan serumunu CFT ile muayene ettiğinde 921 ini menfi bulduğunu, aglutinasyon testiyle tesbit edilen alçak pozitif titrelerle, normal aglutininlerin veya S. 19 aşısının sebep olabileceğini, aşılama sonrası bir sene geçmişse pozitif reaksiyon verenlerin enfekte olarak düşünülebileceğini bildirmiştir. 2 no'lu tabloda da görüleceği üzere 67 sığırag. testiyle şüpheli CFT ile menfi reaksiyon vermiş olup bunların büyük bir kısmının NON -SPE. SİFİK REAKSİYON olması ihtimal dahilindedir. CF testi evvelki araştırmacılarında bildirdiği gibi (32,11,46,34) şüpheli veya ona yakın bir seviyede aglutinin titreleri gösteren sığırları sâlimler arasına katarak ekonomik yönden de bir değer taşımaktadır.

Bu araştırmada elde edilen neticeler, kan serumunda aglutininlerin komplemanı fixe eden antikorlardan daha evvel zuhur etmesi hususundaki görüşleri (4,24,10,41) teyid etmekte olup aglutinasyon metodu ile hastalığın başlangıcında, akut safhada bulunan enfektelerin yakalanması kabil olmaktadır. Bu sebepten CF testinin üstünlükleri belirtilirken aglutinasyon testinin de ihmâl edilmemesi icabetmektedir.

Bruselloss'ın serolojik teşhisinde CF testi Amerika, Rusya ve hemen hemen bütün Avrupa memleketlerinde resmî ilâve test olarak kullanılmakta sığır aşılı veya aşısız olsun umumiyetle CF titresi esas alınarak hayvanın itlâfi cihetine gâdilmektedir. Komplementfixasyon testi ve reaktifleri bizde 1964 yılından itibaren İnternasyonal Standard serumu göre standardize edilerek tatbik edilmeğe başlanmış ve 1967 yılında resmî testler arasına ilâve test olarak dahil edilmiştir. Gerçi SA testi için resmî bir değerlendirme mevcutsa da mezkûr testler müşterek kullanıldığında enfekte bir hayvanın idantifikasyonunda CF testinin resmî statüsü bizce henüz kat'i olarak belli değildir. Bundan başka primer fixasyonu sıcakta yapılan mikro -metod ile Tüp içinde yapılan soğuk metodun da bizde geniş ölçüde bir mukayesesi henüz yapılmamıştır. Soğuk metodu tercih eden araştırmacıların iddialarına göre bu usulde titrelerin sabit kaldığı ve sıcak metoda nazaran daha yüksek bir titre elde edildiği bildirilmektedir. Fakat bu hususun test'in lehine veya aleyhine olduğu hakkında araştırmacılar henüz bir fikir birliğine varamamışlardır. Her ne kadar iki

testin mukayesesi bir miktar serumda denemiş bulunuyorsak da araştırma henüz tatmin edici bir safhada değildir. Memleketimizde veteriner tababeti ve insan hekimliğinde Brusellosis'in teşhisinde CF metodu şimdilik muayene laboratuvarlarında tatbik edilmekte olup CFT ile ilgili bazı önemli hususların bu laboratuvarlarda biran evvel araştırılmasının uygun olacağı kanaatindeyiz.

Yabancı literatürde SAT ve CF testleri arasındaki korelasyon hakkında bazı araştırmalar mevcutsa da hastalığın bakteriyolojik olarak da isbatı bakımından yapılan çalışmalar azdır. Bizde ilk defa yapılmış olan bu araştırmadaki gaye özetlenecek olursa **BRUSELLOSIS'İN TEŞHİSİNDE KULLANILAN TA OLDUĞUMUZ SEROLOJİK METODLARIN BAKTERİYOLOJİK OLARAK DA DEĞERLENDİRİLMESİNDEN İBARETTİR.** Mezkûr araştırmada organ ekstraktlarından % 37,73, ceninlerden % 33,33 oranında Brusella organizmaları izolasyonu ile kullanmakta olduğumuz serolojik testler bakteriyolojik olarak da kontrol edilerek doğru işledikleri hakkında iyi bir sonuç elde edilmiş demektir. Reaktörlerin bir kısmının kronik safhaya geçmesiyle AUTO - STERİLİZASYONA uğramış olmaları ihtimali, atık yapanların hepsinden cenin gönderilmemiş olması, gönderilenlerin bir kısmının ise bakteriyolojik muayenelere elverişli bulunmaması, uzak yerlerde kesime tâbi tutulmuş olan reaktörlere ait organların ekim şartlarına uygun olarak laboratuvara getirilmemesi gibi sebepler gözönünde tutulacak olursa reaktörlerden Brusella üretme oranı oldukça yüksek kabul edilebilir. Bir kurumdaki açık veya gizli portörlerin emin serolojik metodlarla erken tesbiti, enfeksiyonu önleyecek ve eradikasyon müddetini kısaltacaktır. Bilindiği üzere enfeksiyonu müteakip bakteriyemi ondan sonrada lokalizasyon devresinde enfektelerin kısa veya uzun müddet mikrop taşıyıcı ve saçıcı olarak ne derece tehlikeli oldukları hususunda evvelce yapılan araştırmalar (66,49,67,48,20,58,27,52,16) bu çalışma ile de teyid edilmiştir.

Standard usullere göre memleketimizde Brusella suşlarının ilk identifikasyonları 1961 yılında yapılmış olup o zamanki ölçülere göre 33 adet yerli suşun 4 referans suşla yapılan mukayeseli muayenesinde 16 suş tipik Br. Abortus, 2'si a/m(diğer 2'si m/a olmak üzere 4 suş intermediler ve 13 adet suş ise atipik karakterde bulunmuştur. Aynı zamanda bu araştırmada Br. suis ve Br. ovis'in evsafına uygun bir suşa rastlanmadığı **Doğuer ve arkadaşları** (1961) tarafından bildirilmiştir. Bu araştırmayı müteakip ikinci geniş bir araştırma **Sarısayın ve arkadaşları** (1968) tarafından yapılmış olup muayene edilen 125 adet yerli Brusella suşunun 102'si Br. abortus 111 olarak indantife edilmiştir.

İneklerden Br. meltensin 11 karakterinde 2 adet suş ayrılmıştır. Biz de bu araştırma esnasında ineklerden ayırmış olduğumuz 62 Brusella suşunun 52'sinin identifikasyonları Weybridge Enstitüsünde yapılmış olup, 52 suşun 42'si Brusella abortus biotype 3 olarak bildirilmiştir. Demek oluyor ki **SARISAYIN ve arkadaşlarının** (66) buluşlarıyla bu neticeler birbirini teyid etmekte olup **MEMLEKETİMİZDE SİĞİRLAR ARASINDA SEYRETMEKTE OLAN BRUSSELLA ENFEKSİYONLARINDA PREDOMİNANT TİP BRUSSELLA ABORTUS BIOTYPE 3** dür.

Ö Z E T

Yazının özetinin de Serolojik ve Bakteriyolojik muayenelerden elde edilen neticelere göre, iki kısımda hülâsa edilmesi uygun bulunmuştur.

SEROLOJİK MUAYENELER

1 — 1087 aşılı, 1542 aşısız sığıra ait olmak üzere cem'an 2629 kan serumu aglutinasyon (SAT) ve Complement - fixation (CFT) testleriyle mukayeseli olarak muayeneye tabi tutulmuş 2219 serum iki testle aynı sonucu vermiş ve BU METODLAR ARASINDA UYARLIK NİSBETİ % 84.4 olarak tesbit edilmiştir.

2 — 213 aşılı ve 468 aşısız sığıra ait cem'an 681 serum'un Plate aglutinasyon testi de dahil olmak üzere üç metodla (SAT, PAT, CFT) mukayeseli olarak yapılan aktivite kontrollerinde 462 serumdan her üç testle aynı sonuç elde edilmiş olup ÜÇ TEST ARASINDAKİ UYARLIK ORANI % 67.84 olarak tesbit edilmiştir.

3 — Aşılı ve aşısız sığırlara ait 2629 serum'un simultan usulle yapılan mukayeseli muayenesinde SAT ile 587 (% 22.32) CFT ile 734 (% 27.91) pozitif reaktör tesbit edilmiş, CF TESTİ AGLUTİNASYON TESTİNE NAZARAN % 24.32 NİSBETİNDE DAHA FAZLA HASTALIKLI SİĞİRİ MEYDANA ÇIKARMIŞTIR.

4 — 1087 aşılı sığırın 30 aylarını tamamladıktan sonra yapılan muayenelerinde 126 adet serum SAT ile, 215 serum ise CFT ile müsbet reaktör bulunmuştur. Neticede aşılama müddetinin sonunda, ineklerin kan serumlarındaki spesifik aglutininlerin % 88.5, Komplementi tutan antikorların ise % 80.23 nisbetinde kayboldukları tesbit edilmiştir. Bu neticeye aşılı sığırların çok defa buluşuk mıntikalarda bulundurulması sonucu mukavemetin kırılarak naturel enfeksiyonların meydana gelmesi sebep teşkil etmekte ve bu suretle aşılılar arasındaki enfeksiyona rezervar olan sığırlar da CF testiyle daha fazla tesbit edilebilmektedir.

5 — SAT ile şüpheli reaksiyon veren 67 baş aşısız sığıra ait serum CFT ile menfi bulunmuş olup CFT'nin Non - spesifik reaksiyonları elimine ettiği teyid edilmiştir.

6 — Sıkıt yapan ve simutan muayenelerde müsbet reaktör bulunan 77 baş aşılı ve aşısız ineğin SEROLOJİK MUAYENELERLE SIKIT VAK'ALARI ARASINDA % 59.23 ORANINDA BİR MUTABAKAT MEVCUT olup sıkıt yapanların yarısından fazlasının kan serumlarında her iki antikor da (Aglutininer ve Komplementi fixe edenler) maksimal bir seviyede bulunuyor demektir.

7 — Kesilen ineklerin 27'sinin genital organ ekstraktlarının supernetant mayileri Tüp - aglutinasyon testine tâbi tutulmuş, ekstraktların aglutinasyon sonucu ile ekstraktlardan Brusella izolasyonu arasında % 81.4 oranında bir uyarlık tesbit edilmiştir.

8 — Simultan usulle serolojikman muayeneleri yapılan ineklerin vajen mayilerinin Mucus - aglutinasyon testiyle yapılan muayenelerinde serolojik testlerle uyarlık nisbeti % 75 olarak tesbit edilmiştir.

9 — Serumlarını muayene ettiğimiz sığırlara ait 120 süt numunesi de bu arada muayeneye tâbi tutulmuş olup serumlardan alınan neticelerle SÜT MUAYENELERİ ARASINDA % 72.5 nisbetinde bir uyarlık tesbit edilmiştir.

BAKTERİYOLOJİK MUAYENELER

1 — Kesime tâbi tutulan 106 baş sığira ait ekstraktlardan 40 adet Brusella suşu ayrılmış olup, kesilen reaktörlerden Brusella izolasyon oranı % 37.73 dür.

2 — SAT ve CFT ile mukayeseli olarak yapılan muayenelerde positif reaktör bulunan ineklerin % 89.79'undan Brusella organizmleri izole edilmiştir.

3 — Reaktör ineklere ait lâboratuvarımıza gönderilmiş olan 66 adet atık ceninin 22'sinden Brusella suşu izole edilmiştir. Neticede atık inek ceninlerinden Brusella üretme oranı % 33.33 dür.

4 — Kobay inokulasyonlarıyla genital organ ekstraktlarından suş ayırma nisbeti % 33.96, direkt metotla ise % 3.7 dir.

5 — Genital organlarından ve ceninlerinden orijini farklı Brusella üretilen ineklerin SAT ve CF testlerindeki titrelerine göre suş izolasyonu mukayese edilecek olursa : suşların % 69.38'i kom-

bine muayenelerde iki testin bütün titrelerinde komple yüksek bir reaksiyon gösteren sığırlara aittir.

6 — Elde edilen 62 suş'un 52'si İngiltere'de Weybridge enstitüsünde Dr. MORGAN tarafından idantifiye edilmiştir. 42 adet suş BRUSELLA ABORTUS BIOTYPE 3, 8 SUŞ BRUSELLA ABORTUS BIOTYPE 1, bir suş BRUSELLA MELİTENSİZ BIOTYPE 2 olarak bildirilmiştir. Sığırlardan ayırdığımız 61 suş'un Brusella abortus Bang olmasına mukabil bir şus melitensiz karakterde bulunmuştur. Neticede memleketimizde : SİĞİRLAR ARASINDA SEYRETMEKTE OLAN BRUSELLA ENFEKSİYONLARINDA PREDOMİNANT TİP BRUSELLA ABORTUS BIOTYPE 3 dür.

Bize bu araştırmayı yapma fırsatı veren ve her hususta bizi desteklemiş olan T. Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Veterinerlik Yürütme Grubu üyesi Sayın Prof. Dr. M. Pamukçu'ya, grubun diğer üyelerine, Etlik Enstitüsü Müdürlüğüne, laboratuvarımız teknik elemanlarından Cemile Sevüktekin'le Perihan Yıldırım'a şükranlarımızı arzederiz.

SUMMARY

COMPARISON OF THE COMPLEMENT - FIXATION TEST WITH THE TUBE - AGGLUTINATION TEST IN DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS AND THE IMPORTANCE OF THIS TEST (CFT) FROM THE STANDPOINT OF DISTINGUISHING THE VACCINATED COWS FROM THE INFECTED ONES

(This work is a product of a research project, numbered VHAG/25, conducted with the cooperation and financial support of the Scientific and Technical Research Council of Turkey.)

The work is summarized in two parts indicating the results obtained from the SEROLOGICAL AND BACTERIOLOGICAL examinations.

I. SEROLOGICAL EXAMINATIONS

1. 2629 blood sera taken from 1087 vaccinated and 1542 unvaccinated cattle were examined comparatively by applying Serum-agglutination (SAT) and Complement - fixation (CFT) tests. 2219

sera out of 2629 gave the same results by both tests. The CORRELATION BETWEEN THESE TWO METHODS was found to be 84.4 %.

2. Three methods, including plate - agglutination test, (SAT, PAT, CFT) were applied comparatively for the activity control of the 681 blood sera taken from 213 vaccinated and 468 unvaccinated cattle. Same results were obtained on 462 blood sera by the three methods. The CONSISTENCY RATIO AMONG THESE THREE TESTS was found to be 67.84 %.

3. In the comparative examinations made simultaneously on 2629 blood sera, 587 (22.32 %) and 734 (27.91 %) positive reactions were recorded by SAT and CFT, respectively. CFT was found to have 24.32 % MORE DIAGNOSTIC VALUE THAN THE AGGLUTINATION TEST.

4. 1087,30 - month old vaccinated cattle were examined and 126 blood sera gave positive reaction by SAT, whereas 215 sera gave positive reaction by CFT. Consequently, it was observed that at the end of the vaccination period, 88.5 % of the agglutinins and 80.23 % of the CF antibodies in the blood sera of the cows have been lost. The reason for this is that as the vaccinated cattle are often left at infectious stables their immunity is broken down and they are subjected to natural infection. Then, the CF test is successfully applied in finding out the infected cattle among the vaccinated ones.

5. The reaction of 67 blood sera taken from the unvaccinated cattle have been found to be suspicious by SAT, whereas they have given negative reaction by CFT. This is an indication of the fact that CFT ABSOLUTELY ELIMINATES THE NON-SPECIFIC REACTIONS.

6. 77 abortive cows, both vaccinated and unvaccinated, have shown positive reaction in simultaneous examinations. The following results were obtained from the serological examinations : a) THERE WAS A 59.23 % CORRELATION BETWEEN THE RESULTS OF THE SEROLOGICAL EXAMINATIONS AND THE ABORTIONS; b) BOTH ANTIBODIES (AGGLUTININS AND CF ANTIBODIES) IN THE BLOOD SERA OF MORE THAN HALF OF THE ABORTIVE COWS WERE FOUND AT A MAXIMUM LEVEL.

7. The supernatant fluids of the genital - organ extracts of 27 cows were subjected to the Tube - Agglutination test; the correlations between the results of the agglutination test and Brucella isolation from the extracts was found to be 81.4 %

8. MUCUS AGGLUTINATION TEST was applied to the vaginal mucus of the cows which have been examined serologically and simultaneously; the correlation between the Mucus Agglutination test and the serological methods was found to be 75 %.

9. Meanwhile, 120 milk samples taken from the above mentioned cows were also tested and a correlation of 72.5 % was recorded between the results obtained from the sera and the milk examinations.

II. BACTERIOLOGICAL EXAMINATIONS

1. 40 Brucella strains were isolated from the extracts taken from 106 slaughtered cattle. The ratio of Brucella isolation from these reactive cattle is 37.73 %.

2. Brucella organisms were isolated from 89.79 % of the cows which have given positive reaction in the comparative examinations by SAT and CFT.

3. 22 Brucella strains were isolated from 66 aborted fetuses belonging to the reactive cows which have been sent to our laboratory. The ratio of Brucella isolation from the aborted fetuses is 33.33 %.

4. The ratio of strain isolation from the genital - organ extracts through inoculation of guinea pigs is 33.96 %, whereas a ratio of 3.7 % was found out by the direct method that is by spreading the infected material directly to the Petri dishes. This shows us that it is more preferable to use guinea pig inoculation in isolating strains from the contaminated materials such as milk, vaginal mucus, and genital - organ extracts.

5. 69.38 % of the strains belonged to the cattle which have given a completely high reaction in all titers of the two tests (SAT and CFT) in simultaneous examinations.

6. 52 strains out of 62 isolated strains have been identified by Dr. Morgan, Weybridge Institute, England, as follows : 42 strains were BRUCELLA ABORTUS BIOTYPE III; 8 strains were BRUCELLA ABORTUS BIOTYPE I; one was BRUCELLA MELITENSIS BIOTYPE II and one was reported as a Rough culture of BRUCELLA ABORTUS. 61 strains which we have isolated from the cattle were identified as Brucella Abortus Bang, whereas one strain only has been found to have Melitensis character. CONCLUSION : THE PREDOMINANT TYPE OF BRUCELLA DISEASES EXIST AMONG THE CATTLE IN TURKEY IS BRUCELLA ABORTUS BIOTYPE III.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — Alcandri, M., Gargani, G. 1963 : Agreement between the C.F. test, using frozen thawed Brucella melitensis and Abortus antigens and serological typing of strains from infected cattle. Vet. Bul. Vol. 34, No. 4, 1964.
- 2 — Alton, G.G., Jones, L.M. 1964 : Laboratory techniques in Brucellosis. Animals Health Branch Monograph, No. 7 FAO 11996, Rome.
- 3 — Alton, G.G., Jones, L.M. 1967 : Laboratory techniques in Brucellosis. WHO Monograph series No. 55
- 4 — Aygün, S. 1957 : Bağışıklık bilgisi, Vet. Fak. Yayınları : 93 Ankara, 1957.
- 5 — Başkaya, H. 1952 : Bruselloz savaşında kullanılan teşhis usulleri üzerinde mukayeseli araştırmalar. Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Yayınları : 21
- 6 — Bertschinger, H.U. 1961 : Erfahrungen mit der holländischen Technik der Komplementbindungsreaktion zur Diagnose der Rinderbrucellose, Schweiz. Arch. Tierheilk., 103 «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları Cf test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 7 — Beşe, M. 1959 : Yurdumuz koyunlarında Brucellose enfeksiyonu, Serolojik, Kültürde üretme ile Allerjik reaksiyonlar arasında mukayeseli deneyler Vet. Fak. Yayınları : 99.
- 8 — Blagoveschtschenskaya. 1954 : Erfahrungen bei der Kiquidierung der Brucellose Veterinaria, Moscow. 31, 28. «as quoted» in W.K.W. Hill. Standardization of the Complement fixation test for Brucellosis.
- 9 — Boerner, F., Stubbs, E.L. 1924 : Tecnic and Comparative studies of the Agglutination and Complement fixation tests for Bovine Infectious

- Abortion J.A.V.M.A., 65, «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 10 — **Brodhage, H.** 1935 : Aglutination und Komplementbindungsreaktion in der Serodiagnose der Bang - Brucellose beim Menschen. Schweiz. med. wchnschr., 85, «asquoted»in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. et. Res. 1963, 24.
 - 11 — **Buchmeiser, R.** 1961 : serological Diagnosis of Bovine Brucellosis by the Agglutination, CF and Coombs tests. Vet. Bull. 32, No. 4, 1962.
 - 12 — **Burki, F.** 1960 : Evaluation by the Complement - fixation test of isolated agglutination test reactor, in otherwise brucellosis free herds. Vet. Bull. Vol. 31, No. 5, 1961.
 - 13 — **Burki, F.** 1960 : Differential - diagnostic evaluation of serum samples from cows of problem herds, by the c.f reaction for Brucellosis. Vet. Bull. Vol. 31, No. 6 1961.
 - 14 — **Burki, F.** 1961 : Standardization of the Complement - fixation reaction for Brucellosis. Vet. Bull. Vol. 32, No. 4, 1962.
 - 15 — **Burki, F.** 1963 : The Complement - fixation test for distinguishing infected cattle from those vaccinated against Brucellosis. Bull. Off. Int. Epi. zootie. 60,.
 - 16 — **Cedro, V.C.F.** 1967 : Brusellosis'in Bulls. Agglutination Titres and Bacteriological Diagnosis. WHO/Bruc/67.302.
 - 17 — **Clapp, K.H.**1961 : A comparison of various antigens used in the C.F test for ovine brucellosis. Vet. Bull. Vol. 32,1962.
 - 18 — **Connway, J.W., arkadaşları 1921** : How the Station Works Missouri Agric. Exper. Sta Bull. 151, 61. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
 - 19 — **Doğuer, M., Yücel, N. ve Ünlüleblebici, N.** 1961 : Türkiye'de İzole Edilen Brusella Suşlarının İdentifikasyonları. Etlik Vet. Bakteriyoloji Enst. Dergisi Cilt : 1 Sayı : 3.
 - 20 — **Drieux, H.** Expert Committee on Brusellosis WHO/Bruc/238.
 - 21 — **Erdöl, Z.** 1950. Türkiye'de Bruselloz. Etlik Enstitüsünde son beş yıllık teşhis çalışmaları, Vet. Hekimleri Derneği Yıl. 20, Sayı. 49 -50.
 - 22 — **Erençin, N.** 1968 Şahsi görüşme.
 - 23 — **Fagard, P., Pinckers, F.R., Dekeyser 1950** : De l'importance de la fixation du complément pour l'interprétation sérologique post vaccinale au B. 19 et postinfectieuse de la Brucellose. Office Int. Epiz. Epiz. T. 51, No : 11 -12.

- 24 — **Foz ve Garriga, S. 1954** : Relation entre la Fixation du Complément et les Anticorps Incomplets. Rev. Immunol, 18. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 25 — **Gargani, G., Aleandri, M. 1960** : The C.F. Test in Brucellosis'in laboratuvar Diagnostik der Schweinebrucellose. Zentralbl. Bakt., 1. Abt. Orig.,
- 26 — **Gargani, G. 1964** : Preparation and titration of melitensis and abortus antigen for the Complement - fixation Test. The Vet. Büll. Vol. 35, No. 9, 1965.
- 27 — **Gaumont, R. 1965** : Sur la mangue de signification des reactions d'agglutination de titre peu élevé en matière de Brucellose. Büll. Off. Int. Epiz. 63, 1047 - 1054.
- 28 — **Godglück, G. 1955** : Experimentelle Untersuchungen über die serologische Diagnostik der Schweinebrucellose. Zentralbl. Bakt., 1. Abt. Orig., 164. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları Cf test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 29 — **Golem, S. 1948** : Türkiye'de Brucellose mücadelesine esas teşkil edecek konular üzerinde araştırmalar. Ijiyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi Cilt: 8 Sayı : 3
- 30 — **Goyon, M. 1965** : Three simultaneous serological tests for Brucellosis in animals. Vet. Büll. Vol. 36 No. 8, 1966.
- 31 — **Hadley, F.B., Beach, B.A. 1912** : The Diagnosis of Contagious Abortion in Cattle by Means of the Complement Fixation Test. University of Wisconsin Agric. Exper. Sta. Res. Bull. 24. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF Test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 32 — **Hajdu, S. 1956** : Technique and reliability of agglutination and comp. fix. tests in bovine and porcine Brucellosis. Vet. Büll. Vol. 27. No. 3, 1957.
- 33 — **Hill, W.K.W. 1958** : Het Serologisch Routine.Onderzoekter Vaststelling van Brucellose Nederland Tijdschr. Diergeneesk., 83 «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 34 — **Hill, W.K.W. 1963** : Standardization of the Complement-fixation Test for Brucellosis. Bull. Off. Int. Epiz., 60. XXXI e Session Générale.
- 35 — **Hill, W.K.W. 1963** : Simultaneous use of several serological test for the diagnosis of Brucellosis in cattle. Vet. Büll. Vol. 33, No. 9, 1963.
- 36 — **Jerzywismowski 1964** : Sığırlarda Brucellosis'in serolojik teşhisinde CF testinin rolü. The British Veterinary Journal Vol. 120, No. 1, 15 - 20.

- 37 — Jones, L.M., Hendricks, J.B. and Berman, D.T. 1963 : The Standardization and Use of the Complement-fixation Test for the Diagnosis of Bovine Brucellosis, with a Review of the Literature. American Journal Of Veterinary Research Vol. 24, 1963, 1143 - 1151.
- 38 — Keskinöepe, H. 1967 : Vajen mukozu ile yapılan Serolojik ve Bakteriyolojik Muayenelerle Koyun Brusellosis'inin Teşhisi üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Yayınları, 224, Çalışmalar. 126
- 39 — Kocowicz, I., arkadaşları 1960) : Differentiation between infective and Strain 19 titres by Combined agglutination and C.F. tests in bovine Brucellosis The Vet. Büll. Vol. 30, No. 9.
- 40 — Khrstoforov, L., Sorokin, P. 1961 : C.F. Brusella abortus antigens. Vet. Büll. Vol. 32, No. 5, 1962.
- 41 — Lambert, G., Amerault, T.E. 1962 : Comparative Study of three serologic tests for Detecting the Response in Cattle to Virulent Brucella abortus. American Journal of Veterinary Research volume. 23, No. 94, 529 - 533.
- 42 — Lokteva, F.D. 1965 : Différenciation des réactions sérologiques post-vaccinales par l' examen du lait à l'aide de la réaction d'agglutination chez les vaches vaccinées avec le vaccin de Souche 10. Büll. Off. Epiz., 63.1055 - 1046.
- 43 — Lokteva, F.D. 1937 : The Brucella agglutination test on whey from vaccinated cows. Vet. Büll. Vol. 38, No. 2, 1968.
- 44 — Lucas, A. 1964 : Report of the FAO/WHO Meeting in Malta No. 16749 - 6.
- 45 — Mackinnon, D.J., arkadaşları 1961 : Serological and milk test in the Diagnosis of Brucellosis. IV. International Congress on Animale Per. sodiction the Hague.
- 46 — Mackinnon, D.J. 1963 : The Complement-fixation Test in Brucellosis. Bull. Off. Int. Epiz., 60, 383 - 400.
- 47 — Mackinnon, D.J. 1964 : Özel muhabere.
- 48 — Miura, S. 1961 : Brucellosis'in Japan. FAO/WHO Brucellosis Center National Institute Of Animal Health Kodaire, Kitatama, Tokyo, Japan, 1 - 18,
- 49 — Morgan, B., Mediarmid, A. 1969 : The excretion of Brucella abortus in the milk of experimentally infected cattle. Research in Vet. Science Vol. 1, No. 1.
- 50 — Morgan, B. 1967 : The Serological Diagnosis of Bovine Brucellosis. Veterinary Record, Vol. 80, No. 21 th May, 1967, pp. 612 - 621.

- 51 — Nagy, L.K., arkadaşları 1967 : Bovine brucellosis. Vet. Büll. Vol. 38, No. 1, 1968.
- 52 — Nicoletti, P., Muraschi, T.F. 1966 : Bacteriologic Evaluation of Serologic Test Procedures for the Diagnosis of Brucellosis in Problem cattle Herds. American J. Vet. Res. Vol. 27, No. 118, 689-694.
- 53 — Nöyan, A. 1963 : Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası No. 2.
- 54 — Penneç, J., Goyon, M. 1965 : A Study of bovine Brucella antibodies using Coombs test with warmed serum and the C.F. test. Vet. Büll. Vol. 36. No. 5, 1966
- 55 — Penneç, J., Goyon, M. 1966 : Bovine Brucella antibodies. Vet. Büll. Vol. 30, No. 8, 1966.
- 56 — Pilet, C. ve arkadaşları 1968 : Vet. Büll. Vol. 38, No. 6.
- 57 — Redaelli, G. 1964 : İsolation of Brucella from cattle reacting to the CFT. Vet. Büll. Vol. 35, No. 11, 1965.
- 58 — Redaelli, G. 1965 : İsolation of Brucella from the milk and organs of cows with a positive reaction to the CFT. Vet. Büll. Vol. 36, No. 5, 1966.
- 59 — Renoux, G., Alton, G. 1957 : Etudes sur la Brucellose Ovine et Caprine. Arch. Inst. Pasteur Tunis, 34. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 60 — Rencux, G. 1957 : Etudes sur la Brucellose Ovine et Caprine. Arch. Inst Pasteur Tunis, 34. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 61 — Rice, C.E. ve arkadaşları 1952 : The Conglutation Complement fixation Test as a supplementary Method of Detecting Activity with Brucella Abortus Antigens. Canad. J. Comp. Med. and Vet. Sci : 16. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF Test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 62 — Sacco, T. 1934 : Studies on Holth's, CFT for bovine Brucellosis. The Vet. Büll. Vol. 35, No. 11, 1965.
- 63 — Sarısayın F. ve Eroğlu, M. 1967 : Canlı Br. S. 19 aşısı ile danalık aşılama yapılmış hayvanlarda aşidan mütevellit antikor titrelerinin tabii enfeksiyon titrelerinden CFT ile tefriki. T.B. ve T.A. Kurumu 1. Bil'im Kongresi tebliğ özetleri. Ekim 1967.
- 64 — Sarısayın, F., Eroğlu, M ve Nadas, Ü.C. 1968 : Yurdumuzda izole edilen brucella suşlarının tür ve biyotiplerinin fayini ile dağılış durumu üzere bir çalışma. Pendik Vet. Kont. ve Araştırma Enstitüsü Dergisi Cilt. 1 Sayı : 2.

- 65 — **Stableforth, A. W. 1954** : The International Standard for Anti-Brucella abortus serum. Bull. Org. mond. Santé Büll. Wld. Hlth Org. 10, 927-935.
- 66 — **Stableforth, A. W. ve Galloway, İ. A. 1959** : Infection Diseases of Animals. 53-140
- 67 — **Stableforth, A. W. 1960** : Brucellosis in Cattle. Cento seminar at Pendik.
- 68 — **Stableforth, A. W. 1964** : FAO/WHO Meeting on the control of Brucellosis. An 6/13749.
- 69 — **Surface, F. M. 1912** : The Diagnosis of infectious Abortion in Cattle. Kentucky Agric. Exper. Sta. Ann. Rept., Bull. 166, «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 70 — **Studentsov, K.P. 1965** : Some questions of Diagnosis of Brucellosis and specific preventive Measures. Büll. Off. Int. Epiz. 63, 1245-1251.
- 71 — **Tavamaishvili, M. E. 1964** : Use of standard dried antigen for the diagnosis of Brucellosis. Vet. Büll. Vol. 34, No. 8.
- 72 — **Thomsen, A. 1949** : Experimental Studie sin the Incubation Period of Infectious Abortion in Cattle. Vet. Congr. London, 2. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF Test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 73 — **Ulbrich, F. ve Scheibner, E. 1964** : Standardization of Brucellosis CFT. Vet. Büll. Vol. 35, No. 8.
- 74 — **Ünel, S. 1967** : Koyun Brucella melitensis'in teşhisinde agglutination, complement fixation ve antiglobulin (Coombs) testlerinin karşılıklı ilgi ve değerleri. T.B. ve T. A. Kurumu I. Bilim Kongresi tebliğ özetleri. Ekim. 1970.
- 75 — **Ünel, S. Vilhams, C.F. ve Stableforth, A. W. 1969** : Relative value of the agglutination Test Complement fixation test and Antiglobulin Test in the detection of Erusella melitensis infection in sheep. J. Comp. Path. Vol. 79, 155-159.
- 76 — **Vigentişevitgh, G. ve Bohm, O. 1955** : Le système de lutte centre la Brucellose à recommander. Off. Int. Epiz. No. 403, 1-10.
- 77 — **Waveren, G.M. 1960** : The control of Brucellosis in Cattle. Vet. Res. 72. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 78 — **Waveren, G. M. 1965** : The value of the Complement fixation for the eradication of bovine Brucellosis. Off. Int. Epiz. No. 7-8, 1015-1024.

- 79 — **Wisnowski, J. 1964** : The role of the c.f test in the serological diagnosis of Brucellosis. Vet. Büll. Vol. 34 No. 6.
- 80 — **Wisnowski, J. ve Krolak, M. 1965** : Evaluation of the use of the c.f. test applied in Brucellosis in Cattle in Connection with the proposal of an international Standard Bull. Off. Int. Epiz. 63, 7-8, 1319-1342,
- 81 — **Yılmaz, S. 1962** : Şahsi görüşme.
- 82 — **Yuskovets, M.K. 1956** : Eradication de la Brucellose Bull. Off. Int. Epiz. 46, 366-374. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF Test for Diagnosis of Bovine Brucellosis. Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 83 — **Zeissis, A., Mansfield, H.L. 1930** : A Comparison of the Agglutination and Complement-fixation Tests for the Detection of Brucella abortus Infection J.A.V.M.A., 29. «as quoted» in Lois M. Jones ve arkadaşları CF Test for Diagnosis of Bovine Brucellosis Ame. J. Vet. Res. 1963, 24.
- 84 — **Brucella Experler Komitesi 1958** : WHO, II Rapor, No. 45.
- 85 — **Brucella Experler Komitesi 1964** : WHO, IV. Rapor, No. 66.