Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 2025; **36 (1):** 73-81
doi: https://doi.org/10.35864/evmd.1592424

Özgün Araştırma
Original Article

Orta Karadenizdeki sığırlarda Brucella spp.'nin seroprevalansı ve Brusellozun oksidatif strese etkisinin incelenmesi

Onur Taş[1*], Büşra Şahin[2], Yunus Kılıçoğlu[3], Sena Çenesiz[4], Adem Arancı[5], Ali Ertekin[6], Neslihan Ormancı[7], Rahşan Akpınar[8], Mehmet Çitil[9]

[1,3,5,7,8] T.C. Ministry of Agriculture and Forestry, Samsun Veterinary Control Institute, Samsun, Türkiye
[2,4,6] Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterİnary, Department of Biochemistry, Samsun, Türkiye
[9] Erciyes Üniversitesi, Faculty of Veterinary, Department of İnternal Medicine, Kayseri, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 28.11.2024, **Kabul Tarihi** / Accepted: 09.04.2025

Özet: Bu çalışmada Orta Karadeniz Bölgesi'ndeki sığırlarda Brucella spp. seroprevalansının belirlenmesi ve brusellozun oksidatif stres parametrelerinden toplam tiyol, nativ tiyol, disülfid, nativ tiyol/toplam tiyol, disülfid/nativ tiyol, disülfid/toplam tiyol, malondialdehit (MDA) ve adenozin deaminaz (ADA) düzeyleri üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 2024 yılı içerisinde Orta Karadeniz illerinden (Samsun, Çorum, Tokat, Amasya ve Ordu) Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü'ne gönderilen 10882 adet dişi sığır serumu materyal olarak kullanılmıştır. Brusellozun seroprevalansını belirlemek amacıyla Rose bengal plate ve komplement fiksasyon testleri uygulanmıştır. Çalışma sonunda 155 adet (%1,42) serum örneği Brucella spp. açısından pozitif, 10727 adet (%98,58) serum örneği negatif olarak belirlenmiştir. Brucella pozitif serum örneklerinin %99,35'inin (154 adet) antikor titresi 1/40 ve üzeri belirlenmiştir. Brusellozun oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla Brucella pozitif örneklerden 23 adet ve kontrol grubunu oluşturmak üzere 23 adet negatif serum örneği kullanılmıştır. Biyokimyasal analizler sonucunda; çalışma grubundaki (Brucella pozitif grup) toplam tiyol, nativ tiyol, disülfid, MDA ve ADA değerleri, kontrol grubundaki değerlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Brucella pozitif gruptaki disülfid/nativ tiyol, disülfid/toplam tiyol değerleri ile kontrol grubundaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Ayrıca Brucella pozitif gruptaki nativ tiyol/toplam tiyol değeri ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Sonuç olarak, Brucella ile enfekte sığırlarda oksidan-antioksidan dengesinin bozulduğu ve buna bağlı olarak oksidatif stresin ortaya çıktığı belirlenmiştir. Bu bulgular, oksidatif stresin, Brucella infeksiyonunun tanı ve tedavisinde biyobelirteç olarak kullanım potansiyeline sahip bir perametre olabileceğini göstermektedir. Ayrıca çalışmada elde edilen seroprevalans verilerine göre Brucella enfeksiyonunun Orta Karadeniz Bölgesi'nde hayvan ve halk sağlığı açısından risk oluşturmaya devam ettiği görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, KFT, Oksidatif stres, RBPT, Sığır,

Seroprevalence of Brucella spp. in cattle in the Central Black Sea and investigation of the effect of Brucellosis on oxidative stress

Abstract: In this study, it was aimed to determine the seroprevalence of Brucella spp. in cattle in the Central Black Sea Region and to evaluate the effect of brucellosis on oxidative stress parameters such as total thiol, native thiol, disulfide, native thiol/total thiol, disulfide/native thiol, disulfide/total thiol, malondialdehyde (MDA) and adenosine deaminase (ADA) levels. In the study, 10882 female cattle sera sent to Samsun Veterinary Control Institute Directorate from Central Black Sea provinces (Samsun, Çorum, Tokat, Amasya and Ordu) in 2024 were used as material. Rose bengal plate and complement fixation tests were performed to determine the seroprevalence of brucellosis. At the end of the study, 155 (1.42%) serum samples were positive for Brucella spp. and 10727 (98.58%) serum samples were negative. Antibody titre of 99.35% (154 pieces) of Brucella positive serum samples was determined as 1/40 and above. In order to examine the effect of brucellosis on oxidative stress parameters, 23 Brucella positive serum samples and 23 negative serum samples were used as control group. As a result of biochemical analyses, total thiol, native thiol, disulphide, MDA and ADA values in the study group (Brucella positive group) were significantly higher than those in the control group. There was no statistically significant difference between the values of disulphide/native thiol, disulphide/total thiol in the Brucella positive group and the values in the control group. In addition, the values of native thiol/total thiol in the Brucella positive group were found to be statistically significantly lower than those in the control group. In conclusion, it was determined that the oxidant-antioxidant balance was disturbed in Brucella-infected cattle and oxidative stress occurred accordingly. These findings suggest that oxidative stress may be a perameter that has the potential to be used as a biomarker in the diagnosis and treatment of Brucella infection. In addition, according to the seroprevalence data obtained in the study, Brucella infection continues to pose a risk for animal and public health in the Central Black Sea Region.

Keywords: Brucellosis, Catte, CFT, Oxidative stress, RBPT

Yazışma adresi / Correspondence: *Onur Taş, Yeşildere, Atatürk Bulvarı, Alaçam Cad. Atakum, Samsun*
e-posta: onur.tas@tarimorman.gov.tr

ORCID IDs of the authors: *[1]0000-0003-0577-4024 • [2]0000-0002-5245-478X • [3]0000-0002-6788-9284 • [4]0000-0002-3544-503X • [5]0009-0004-3906-8368 • [6]0000-0002-6299-9716 • [7]0000-0001-7645-3792 • [8]0000-0003-0075-9247 • [9]0000-0001-9839-7533*

Giriş

Bruselloz özellikle *Brucella abortus, Brucella melitensis* ve *Brucella suis*in sebep olduğu ciddi ekonomik kayıplara yol açan ve hayvansal üretimi olumsuz etkileyen zoonotik bir enfeksiyondur (Moreno, 2002; Godfroid ve ark., 2004; WOAH, 2018). Dünyada sığır brusellozunun en yaygın etkeni *B. abortus* olmakla beraber nadir de olsa *B. melitensis* ve *B. suis* ile ilgili bildirilmiş vakalarda bulunmaktadır. (Verger ve ark., 1985; Ledwaba ve ark., 2019). Fakat son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar sığır brusellozunda *B. melitensis*'in tespit edilme oranının arttığını bildirmiştir (Celik ve ark., 2023; Alamian ve ark., 2024). Brusellozun insanlara bulaşması, kontamine çiğ et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi veya enfekte hayvanlarla doğrudan temas yoluyla gerçekleşir. *Brucella* enfeksiyonu, Orta Doğu, Akdeniz, Orta ve Güney Amerika gibi bölgelerde endemik seyreder (Pappas ve ark., 2006). *Brucella* bakterisi insanlarda kronik enfeksiyonlar oluşturur ve ateş, yorgunluk eklemlerde ağrı gibi belirtilerden endokardit ve nörolojik bozukluklar gibi daha ciddi komplikasyonlara kadar geniş bir klinik belirti yelpazesine neden olur (Atluri ve ark., 2011). Sığırlarda ise *Brucella* enfeksiyonu, enfekte veya kontamine düşük fötus materyali, vajinal akıntılar, süt, yem veya suyun yutulması, bu enfekte materyaller ile temas edilmesi veya solunması yoluyla bulaşır (Pappas ve Papadimitriou, 2020; Wang ve Jiang, 2020). Sığır brusellozu; geç dönem düşükler, retentio secundinarium, ölü veya zayıf doğan buzağılar, epididimit, orşit ve kısırlığa sebep olur (Institue JB., 2014).

Brucella enfeksiyonunun tanısı direkt (bakteriyolojik ve moleküler metotlar) ve dolaylı olarak (*in vitro* serolojik metotlar ve *in vivo* alerjik metotlar) yapılabilir. Serolojik testler hastalığın tanısı için oldukça önemlidir fakat sonuçların yorumlanması genellikle zordur (Avijgan ve ark., 2019). Bu metototlar *Brucella* enfeksiyonunun ilk taramasında ve tedavi sürecinde kullanılır (Khan ve Zahoor, 2018). Rose Bengal Pleyt Testi (RBPT), gerçek zamanlı PCR, serum aglütinasyon testi (SAT) ve komplement fiksasyon testi (CFT), *Brucella* enfeksiyonunun tanısı için kullanılan yöntemlerdir (Omer ve ark., 2001). Fakat bu testlerden hiçbiri brusellozun tüm farklı aşamalarını tek başına teşhis edemez. Bu yüzden, kesin tanı amacıyla kombine testler kullanılabilir. Komplement fiksasyon testleri ve RBPT çoğu ülkede *Brucella* enfeksiyonun varlığını doğrulamak amacıyla birlikte kullanılır. Testlerden ilki özgüllüğünün daha yüksek olması sebebiyle kullanılırken, ikinci test daha yüksek duyarlılığı sebebiyle tercih edilmektedir. Enfeksiyöz hastalıkların teşhisinde oksidatif stres parametrelerinin kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmalar bakteriyel, paraziter, fungal ve viral kökenli enfeksiyöz hastalık durumlarında vücutta bulunan fagositik hücrelerin mikroorganizmaları yok etmek için reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimine yani oksidatif strese yol açtığını göstermiştir (Murray ve Teitelbaum 1992; Grant ve ark., 2001).Reaktif oksijen türleri, polimorf nükleer lökositler ve makrofajlar gibi fagositik hücrelerde bulunan bakterilerin ortadan kaldırılmasında önemli görevleri olan moleküllerdir (Diffenbach ve Tramont, 2005). Bu moleküller DNA ve RNA'nın yapısının bozulmasına, amino asit sentezinin durmasına ve membran taşıyıcı proteinlerinin inhibe edilmesine yol açarak olarak bakterilere karşı savaşırlar (Park ve ark., 1992). Hücre içi bir bakteri olan *Brucella*, hücre ölümünü indükleyerek hücre toksisitesine sebep olan bir bakteri olması sebebiyle konak makrofajları tarafından üremesini kontrol altına almak ve ortadan kaldırılmak için reaktif oksijen moleküllerinin salınımına yol açar (Jiang ve ark., 1993; de Bagu¨e´s, 2004). Enfeksiyöz hastalıklarda oksidatif stress parametrelerinin izlenmesi, hastalığın patogenezinde ve konağa vereceği zararın azaltılması hususunda büyük önem arz etmektedir (Salmon ve ark. 2010; Hussain ve ark. 2022). Enfeksiyondaki inflamatuar hücrelerin aktivasyonu reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumuna (Liu ve ark. 2005) ve takiben inflamasyon aracılığıyla doku hasarına sebep olmaktadır (Hultqvist ve ark. 2006). Süperoksit dismutaz, katalaz, miyeloperoksidaz, nitrik oksit ve tiyoller gibi oksidan-antioksidan moleküller *Brucella* türlerinin hayatta kalması, patojenitesi ve brusellozdaki bakteriyel savunma sisteminde önemli bir role sahiptir (Liu ve ark. 2005).

Bu çalışma ile Orta Karadeniz Bölgesindeki sığırlarda *Brucella spp.*'nin prevalansının belirlenmesi ve MDA, nativ tiyol, toplam tiyol, disülfid gibi oksidatif stres parametreleri ve ADA aktivitesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Örnekler

Çalışmanın materyalini 2024 yılı içerisinde Orta Karadeniz illerinden (Samsun, Çorum, Tokat, Amasya ve Ordu) Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü'ne gönderilen 10882 adet dişi sığır serumu oluşturmuştur. Pozitif kontrol serumu Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü'nden, negatif kontrol serumu ise İdex firmasından (Pourquier Brucellosis Negative Control Lot No: P000131) temin edilmiştir.

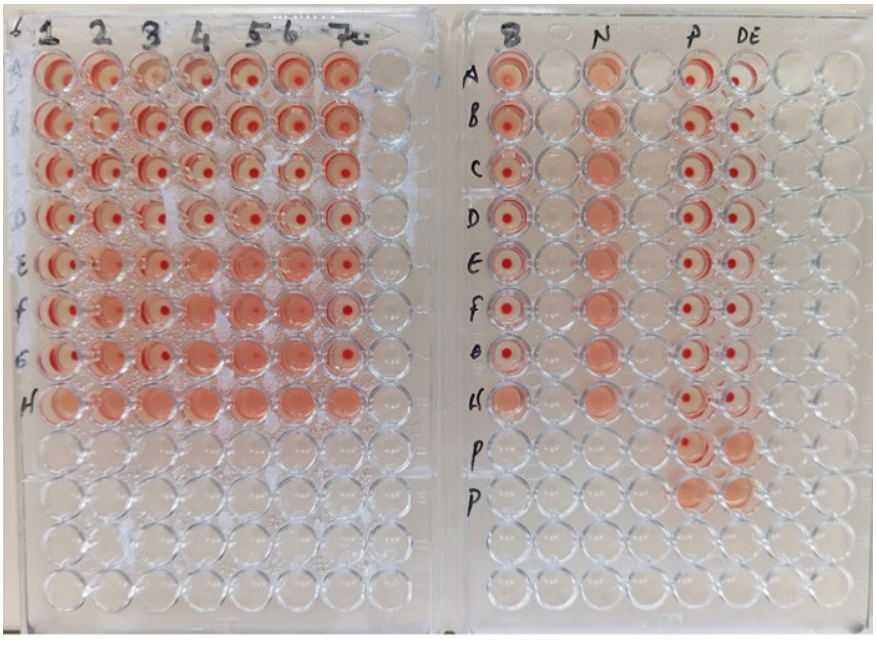
Serolojik analizler

Rose bengal plate test

Antikoagulantsız tüplere alınan kan örnekleri 4000 g'de 4 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlardan 50 µl alınarak temiz bir lam üzerine damlatıldı. Serum örneklerinin üzerine eşit miktarda Rose Bengal plate test antijeni (Vet-Vac, 10 ml) damlatılıp 4 dk boyunca elde çevrilerek oluşan reaksiyon gözlendi. Bu süre içerisinde aglütinasyon tespit edilen serumlar pozitif olarak kaydedildi (WOAH, 2024) Kullanılan test antijeni Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Komplement fiksasyon testi

Rose Bengal plate testi sonucu pozitif olarak tespit edilen serumlar ve kontrol serumları (1/1200 titrede, 1 ml pozitif kontrol serumu, negatif kontrol serumu)) veronal buffer dilüent (VBD, Virion-Serion, Ref:9009, Lot:KL0062) içerisinde 1/5 oranında sulandırıldı ve inaktive serum eldesi için 58°C'deki su banyosunda 30 dakika bekletildi. Steril, U tabanlı boş mikropleyte B sırasından G sırasına kadar her bir pleyt gözüne 25 µl VBD konuldu. A, B ve H sırasında yer alan pleyt gözlerine 25 µl inaktivasyonu yapılan serumlar eklendi ve B sırasından G sırasına kadar 25 µl aktarılarak dilüsyonları gerçekleştirildi. A sırasından G sırasına kadar çukurlara 25 µl Brusella antijeni (Virion-Serion, Ref:1297, Lot:SHF.BF, çalışma dilüsyonu 1/30) konulduktan sonra tüm çukurlara 50 µl komplement (Virion-Serion, Ref: 9001, Lot:KL0016, çalışma dilüsyonu 1/50) eklendi ve bir gece +4 °C'de bekletildi. 18-20 saat sonra hemolitik sistem hazırlandı. Bu amaçla amboseptör (Virion-Seion Ref:9002, Lot:KL0042) 1/2500 oranında veronal buffer ile dilüe edildi. *Brucella* negatif koyundan elde edilen 10 ml kan veronal buffer ile karıştırılıp 3000 rpm devirde 6 dk santrifüj edildi. Dipteki eritrositler veronal buffer ile %2 oranında dilüe edildi. Bu eritrosit süspansiyonu ile amboseptör süspansiyonu 1:1 oranında karıştırıldı ve son aşama olarak oda ısısında 30 dakika inkübe edilerek hemolitik sistem elde edilmiş oldu. 18-20 saat +4 °C'de inkübe edilen pleytler oda ısısında 30 dakika bekletildi. Daha sonra kuyucukların tamamına 50 µl hemolitik sistem eklendi. Pleytler önce 37°C'lik su banyosunda 30 dakika inkübe edildi ardından +4°C'de 1 saat bekletildi ve sonuçlar değerlendirildi. Negatif kontrol negatif, pozitif kontrol 1/1280 titrede pozitif olarak teğit edildi. Çalışma örneklerinin kullanıldığı H sırasındaki kuyucuklarda ise tam hemoliz testler geçerli sayıldı. %50 hemoliz gösteren son kuyucuktaki serum dilüsyon oranı titre olarak kabul edildi. Şüpheli örneklerden 1/20 ve üzeri antikor titresi tespit edilenler pozitif, diğerleri negatif kabul edildi. (WOAH, 2024) Komplement fiksasyon testine ait görsel, Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Komplement Fikzasyon Testi. 1,2,3,3,4,4,5,6,7 ve 8: seropozitif numuneler, N: negatif kontrol P: pozitif kontrol-1 DE: pozitif kontrol-2

Biyokimyasal Analizler

Alınan serum örneklerinde oksidatif stres parametrelerinden nativ tiyol (Rel Assay) ve toplam tiyol, (Rel Assay) ölçümleri için kolorimetrik test kiti kullanılmış olup uygulama üretici firmanın önerdiği prosedüre göre yapılmış ve sonuçlar ELISA plate reader cihazı (Mindray MR-96A) ile okutulmuştur. Yapılan ölçümler sonucunda elde edilen nativ ve toplam tiyol değerlerine göre disülfid değeri hesaplanmıştır. Nativ tiyoller (SH) ve toplam tiyoller hesaplandıktan sonra disülfid (SS) miktarları, disülfid/toplam tiyol yüzdesi (SS/SH+SS), disülfid/nativ tiyol yüzdesi (SS/SH) ve nativ tiyol/toplam tiyol yüzdesi (SH/SH+SS) hesaplanmıştır. Dinamik disülfür miktarı toplam tiyol ve nativ tiyol arasındaki farkın yarısı alınarak hesaplanmıştır. MDA analizi Yoshioka ve arkadaşları tarafından önerilen yöntem ile (Yoshioka, 1979), (DA aktivitesi ise Giusti tarafından önerilen yönteme göre spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Guisti, 1974).

İstatistiksel analiz

Verilerin tüm istatistiksel hesaplamaları SPSS statistics 27 programı kullanılarak yapıldı ve p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren verileri analiz etmek için bağımsız T testi kullanıldı. Yapılan korelasyon analizi sonucu elde ettiğimiz p değerleri Tablo 1. de verilmiştir.

Tablo 1. Korelasyon Tablosu

Parametreler	Nativ tiyol	Toplam tiyol	Disülfid	MDA	ADA
Nativ tiyol		**0.008***	.131	**0.047***	**.008***
Toplam tiyol			**<0.001***	**0.033***	**<0.004***
Disülfid				0.066	**0.015***
MDA					**<0.001***

* Korelasyon <0.05 düzeyinde p değeri açısından anlamlıdır.

Bulgular

RBPT ve KFT bulguları

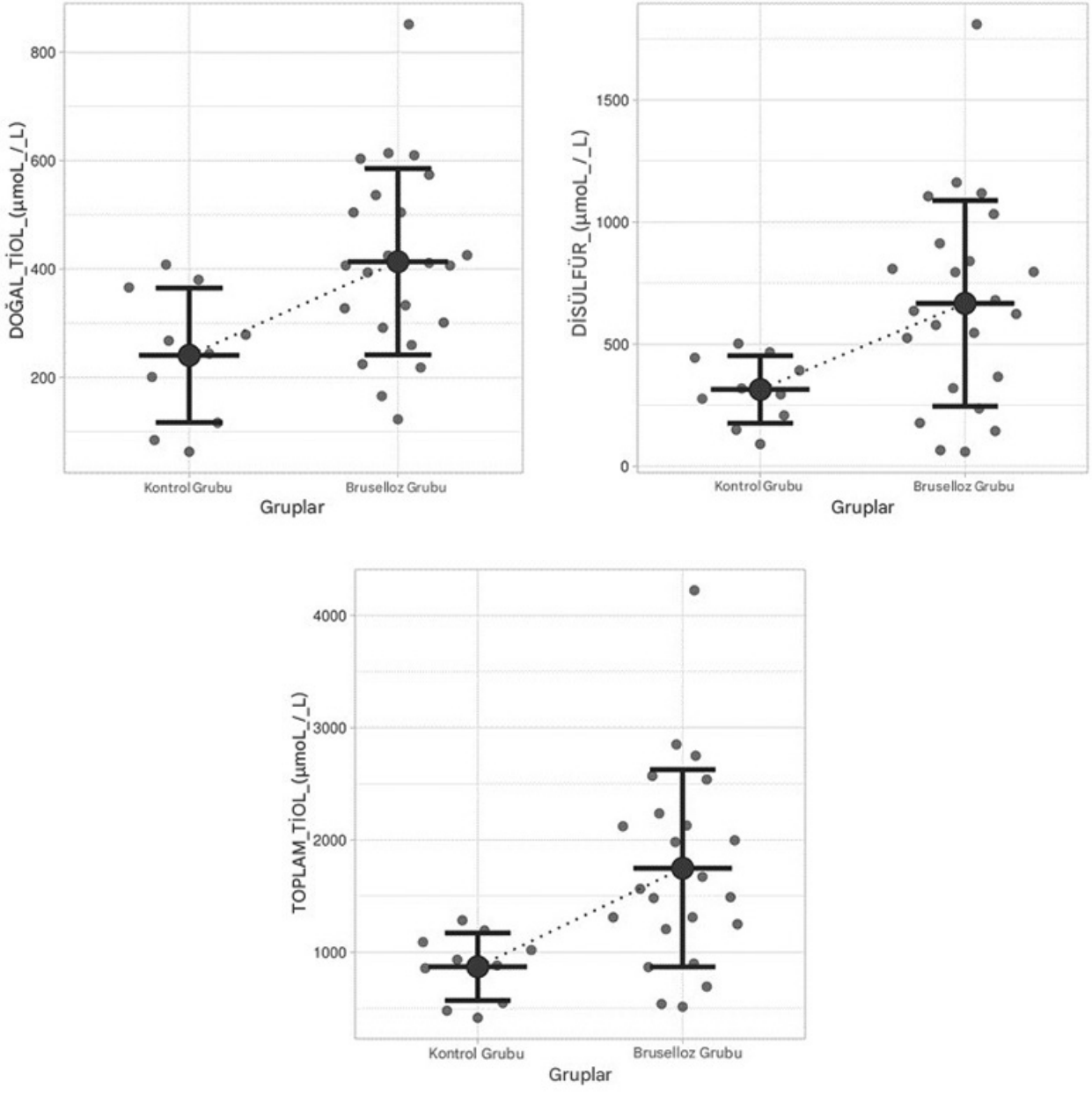
Çalışmada 10882 adet dişi sığır serumuna yapılan RBPT ve KFT sonucunda 155 adet (%1,42) serum örneği *Brucella* spp. yönünden pozitif, 10727 serum (%98,58) ise negatif olarak tespit edildi. *Brucella* pozitif ve negatif serum örneklerinin illere göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir. Ayrıca yapılan KFT sonucunda 155 adet seropozitif sığır serum örneğinin %76,13'ünde (118 adet) antikor titresi 1/320, %15,48 (24 adet)'inde 1/160, %4,51 (7 adet)'inde 1/80, %3,22 (5 adet)'sinde 1/40 ve %0,65 (1)'inde 1/20 olarak tespit edildi.

Biyokimyasal bulgular

Çalışmada 23 adet *Brucella* pozitif serum örneğine ve 23 adet *Brucella* negatif kontrol grubu örneklerine yapılan biyokimyasal analizler sonucunda; native tiyol, disülfid, MDA ve ADA aktivite değerleri *Brucella* pozitif grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken, disülfid/nativ tiyol, disülfid/toplam tiyol değerlerinde ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Nativ tiyol/toplam tiyol değerleri ise yine *Brucella* pozitif grupta daha düşük bulunmuştur. Oksidatif stres parametre sonuçları Tablo 3'te ve bu parametrelere ait ölçüm grafikleri Şekil 2'de verilmiştir. Ayrıca mevcut çalışmada yapılan korelasyon analizi sonucunda oksidatif stres parametreleri arasında pozitif korelasyonlar gözlemlenmiştir. MDA ile ADA parametreleri ve toplam tiyol ile disülfid parametreleri arasında çok bu güçlü bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu bir parametredeki artışın diğer parametrelerde de artışa yol açtığını gösterir.

Tablo 2. *Brucella* pozitif ve negatif serum örneklerinin illere göre dağılımı

İl	Numune Sayısı	*Brucella* Positive Numune (n,%)	*Brucella* Negatif Numune (n,%)
Amasya	4370	96 (2,20%)	4274 (97,80%)
Çorum	3012	32 (1,06%)	2980 (98,94%)
Samsun	2212	7 (0,30%)	2205 (99,70%)
Tokat	1249	19 (1,52%)	1230 (98,48 %)
Ordu	39	1 (2,56%)	38 (97,44%)
Toplam	**10882**	**155 (1,42%)**	**10727 (98,58%)**



Şekil 2. Serum nativ tiyol, toplam tiyol ve disülfit değerleri

Tablo 3. *Brucella* pozitif ve kontrol gruplarının oksidatif stres parametre değerleri

Parametreler	Kontrol Grubu	*Brucella* Pozitif Grup	p değeri
Toplam tiyol(µmoL / L)	869.885±300.92	1747.478±878.75	**p<0.001***
Nativ tiyol(µmoL / L)	240.963±124.00	413.557±171.75	**p=0.008***
Disülfid (µmoL / L)	314.461±138.35	666.960±421.59	**p=0.001***
Nativ tiyol/Toplam tiyol (%)	29.035±16.49	26.719±21.14	p=0.928
Disülfid/ Nativ tiyol (%)	184.722±154.83	186.609±123.44	p=0.940
Disülfid / Toplam tiyol (%)	35.482±8.24	36.348±9.05	p=0.628
MDA (mmol/L)	1.185±0.28	2.157±0.49	**p<0.001***
ADA (U/L)	12.00±1.62	21.482±1.63	**p<0.001***

*p<0.05. Seviyesinde anlamlıdır.

Tartışma ve Sonuç

Brucella enfeksiyonu çeşitli *Brucella* türlerinin sebep olduğu zoonotik bir enfeksiyondur. Yılda yaklaşık 5 milyon ile 12,5 milyon insan *Brucella* vakası bildirildiği tahmin edilmektedir (WHO,1997; Godfroid ve ark., 2013a; Berger, 2016) Bu hastalık Avustralya,Yeni Zellanda Kanada, Japonya, Kuzey ve Merkez Avrupa'da başarılı bir şekilde eradike edilmişken, özellikle Afrika kıtasındaki gelişmekte olan ülkelerde endemik olarak seyretmektedir (Marcoty ve ark., 2013). Ülkemiz de *Brucella* enfeksiyonunun endemik olarak seyrettiği ülkelerden birisidir. Bugüne kadar Türkiye'de Brusellozun sığırlardaki seroprevalansı ile ilgili yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur (Aslantaş ve Turan, 2004; Otlu ve ark., 2008; Tarım ve Orman Bakanlığı, 2012; Aşkar ve ark., 2013).

Tarım ve Orman Bakanlığının 2012 yılında gerçekleştirdiği *Brucella* Kontrol ve Eradikasyon Projesinin sonuç raporuna göre Türkiye'de sığır *Brucella* enfeksiyonunun seroprevalansı %2,7 olarak bildirilmiştir (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2012). Aşkar ve ark. (2013), Kırıkkale ili ve yakın çevresinde yaptıkları bir çalışmada süt sığırlarında *Brucella* seroprevalansını %43 olarak; Otlu ve arkn (2008), Kars ilinde yaptıkları çalışmada sığırlarda *Brucella* seroprevalansını %32,9 olarak; Aslantaş ve Turan (2004), Hatay yöresinde yaptıkları çalışmada sığır *Brucella* seroprevalansını %2,21 olarak; Bora ve ark. (2016), Iğdır ve yakın çevresinde yaptıkları çalışmada sığırlarda %17,65 olarak bildirmişlerdir. *Brucella* enfeksiyonu ülkemizde ihbarı zorunlu bir hastalıktır. Bu sebeple hastalık çıkışları resmi veri olarak işlenmekte ve bildirimi resmi makamlara yapılmaktadır. Bu veriler kullanılarak Demeli ve Fındık (2021), tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada 2005-2015 yılları arasında Türkiye'nin 81 ilinde sığırlarda toplam 7889 mihrak bildirimi olduğu ve bu mihraklarda 15059 baş sığırın *Brucella* pozitif olduğu rapor edilmiştir. Mevcut çalışma sonucunda Orta Karadeniz Bölgesi'nde sığırlarda *Brucella* seroprevalansı %1,42 olarak tespit edilmiştir. İller bazında bakıldığında en yüksek seroprevalansa %2,56 ile Ordu sahip olurken, en düşük seroprevalansa sahip olan il %0,3 ile Samsun olarak belirlenmiştir. Mevcut çalışmadan elde edilen bu verilere göre Orta Karadeniz Bölgesi'nin sığır *Brucella* seroprevalans oranı 2012 yılında yapılan çalışmada tespit edilen Türkiye ortalamasından düşüktür. Yapılan diğer çalışmalardan elde edilen verilerle (Aslantaş ve Turan, 2004; Otlu ve ark., 2008; Tarım ve Orman Bakanlığı, 2012; Aşkar ve ark., 2013, Bora ve ark., 2016). Karşılaştırıldığında mevcut çalışmaya ait seroprevalans verilerinin genel olarak daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun sebebi örneklerin alındığı bölgelerin iklim ve coğrafi farklılığı, örnekleme yöntemlerinin farklılığı, kullanılan test yöntemlerinin farklılığı olabilir.

Lipit peroksidasyonunun bir yan ürünü olan malondialdehit (MDA) aynı zamanda konakçı hücre ve dokularında meydana gelen oksidatif stresin bir belirtecidir (Kandemir ve ark., 2002; Madebo ve ark., 2003). Yapılan farklı çalışmalarda MDA düzeyleri *Brucella* ile enfekte grupta kontrol grubuna göre çalışmamızda olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (Nisbet ve ark., 2007; Kataria ve ark., 2010; Bozukluhan ve ark., 2017; Ismail ve Mohamed, 2017; Hussain ve ark., 2022). Shalby ve ark. (2021), *Brucella* ile enfekte koyunlarda yaptıkları bir çalışmada oksidan ve antioksidan parametrelerini belirlemiş, oksidan düzeylerinin kontrol grubuna göre artarken, antioksidan düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalar ve çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar MDA'nın bruselloz gibi enfeksiyöz hastalıkların teşhisinde bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği kanaatini güçlendirmektedir. Mevcut çalışmadan elde edilen bilgiler ışığında *Brucella*'nın bağışıklık sistemini baskıladığı ve reaktif oksijen türlerinin üretimini tetiklediği böylece oluşan reaktif

oksijen türlerinin hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu ve dolayısıyla MDA üretimini artırdığı düşünülmektedir. Ayrıca artan MDA düzeyleri protein hasarının yanı sıra DNA hasarına neden olarak hastalığın şiddetinin artmasına sebep olabilir. Bu nedenle MDA artışı, hastalığın teşhisinde kullanılabileceği gibi enfeksiyonun şiddetini anlamada ve antioksidan tedavilerin etkinliğini izlemede de iyi bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Ancak yapılan literatür araştırması sonucunda *Brucella* ile enfekte hayvanlarda nativ tiyol, toplam tiyol ve disülfid düzeylerinin değerlendirildiği bilimsel bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Fakat *Brucella* ile enfekte hastalarda yapılmış insan çalışmalarına rastlanmış ve bu çalışmaların birinde Brucella enfekte hastalarda kontrol grubuna göre disülfid düzeyi artarken (Aslan ve ark., 2022), başka bir çalışma da iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Kolgelier ve ark., 2017). Bu nedenle çalışmamız *Brucella* ile enfekte sığırlarda tiyol-disülfid homeostasisi açısından değerlendirilecek diğer çalışmalar için önem arz edeceğini ve literatüre önemli bir katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Mevcut çalışmada *Brucella* ile enfekte grupta disülfid düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. *Brucella* enfeksiyonu sırasında artan reaktif oksijen türlerinin hücresel tiyol gruplarını okside ederek disülfid bağlarının oluşumuna neden olduğu böylece dengenin disülfid lehine bozulduğu görülmektedir. Tiyol-disülfid dengesindeki bu değişiklik, hücre zarında ve proteinlerde yapısal hasara neden olarak enfeksiyonu şiddetlendirebilir. Bu nedenle tiyol-disülfid dengesinin bozulması, *Brucella* enfeksiyonunun oksidatif stres boyutunu anlamada bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği ve antioksidan tedavilerle bu dengenin düzeltilmesinin enfeksiyonun etkilerini hafifletebileceği düşünülmektedir.

Adenozin deaminaz enzimi pürin metabolizmasında görev alan (Sari ve ark., 2003) vücudun savunma sisteminde T lenfositlerinin ve monosit-makrofaj sisteminin çoğalması ve farklılaşması için kritik öneme sahip bir enzimdir (Viciana ve ark., 1991). Yüksek serum ADA aktivite seviyeleri her ne kadar tüberküloz ile ilişkilendirilmiş olsa da bruselloz gibi başka enfektif hastalıklarda da ortaya çıkabilir (Sarı ve ark., 2003; Rokayan, 2003). Yapılan farklı çalışmalarda ADA seviyeleri *Brucella* ile enfekte grupta, kontrol grubuna göre çalışmamızda olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (Viciana ve ark., 1991; Karadenizli ve ark., 2002; Cesur ve ark., 2004). Yapılan diğer çalışmalar ve çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar paralellik göstermektedir. ADA enzimi özellikle T-lenfositler ve makrofajlar tarafından salgılanır ve pürin metabolizması yolu ile adenozini inozine dönüştürerek inflamatuar yanıtı düzenler. Çalışmamızda *Brucella* enfeksiyonu sırasında inflamasyonun düzenlenmesi için artan ADA aktivitesi, adenozin seviyelerini düşürerek enfeksiyonun immünosupresif etkilerini sınırladığı düşünülmektedir. ADA düzeylerinin yükselmesi, enfeksiyonun şiddetinin ve bağışıklık yanıtının bir göstergesi olarak kullanılabilirken, tedavi sırasında bu düzeylerin normale dönmesi enfeksiyonun kontrol altına alındığını gösterebilir. Bu nedenle ADA aktivitesinin *Brucella* ile enfekte hastalıklarda önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak yapılan bilimsel araştırmaların ve resmi kurumların verileri göz önüne alındığında ülkemizde *Brucella* enfeksiyonunun, yıllardır sürdürülen programlı *Brucella* aşılamalarına rağmen hem hayvanlarda hem de insanlarda görülme oranının yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre Orta Karadeniz Bölgesi'nde *Brucella* enfeksiyonu varlığını sürdürmekte olup bölgede hayvan ve insan sağlığını tehdit etmeye devam etmektedir. Mevcut çalışmadan elde edilen oksidatif stres parametrelerne ilişkin veriler biyobelirteç olarak kullanılabilir potansiyelini ortaya koymaktadır. Ancak konuya ilişkin daha kapsamlı çalışmaların yapılması oksidatif stres parametrelerinin Bruselloz gibi enfeksiyöz hastalıkların ayırıcı tanısında kullanılabilirliğinin kanıtlanması ve destekenmesinde daha etkili olacaktır.

Deney hayvanları etik kurulu ve diğer etik kurul kararları ve izinler: Bu çalışmada, Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Deneyleri Yerel etik Kurulundan 19.11.2024 tarih,19572899/031-88 sayılı ve 2024/07 nolu kararı ile etik kurulu iznine gerek yoktur yazısı alınmıştır.

Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi: Bu çalışmaya konu olan Brucella hastalığının teşhis ve kontrolü Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü'nün resmi görevleri arasında yer aldığından, Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından finanse edilmiştir. Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan ederler.

** İfade edilen görüş ve düşünceler yalnızca yazarlara aittir ve T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın görüşlerini yansıtmak zorunda değildir. Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı bunlardan sorumlu tutulamaz.*

Kaynaklar

Alamian S, Amiry K, Etemadi A, Dadar M. (2024) Characterization of *Brucella spp*. circulating in industrial dairy cattle farms in Iran: a field study 2016 - 2023. *Vet Res Forum,* 15(4), 195–202. DOI: 10.30466/vrf.2024.2012972.4028.

Aslan MH, Karasahin O, İba Yılmaz S, Kurt A, Baran P, Koca Biçer C. (2022) Thiol/disulphide balance and ischemia modified albumin levels in relapsed brucellosis patients. *Eur J Res*, *8*(1), 59–64. DOI: 10.18621/EURJ.813955.

Aslantaş Ö, Turab N. (2004) "Seroprevalance of brucellosis in cattle, sheep and goat in Hatay region. *Eurasian J Vet Sci*, vol.20, no.3, pp.43-47.

Aşkar Ş, Mumcu F, Ünal N, Yıldırım M. (2013) Kırıkkale ve Yöresindeki Süt Sığırı ve Koyunlar ile Bunların Yetiştiricilerinde *Brucella* Antikoru Varlığının Araştırılması. *Van Vet J*, 24 (3), 113 – 116.

Atluri VL, Xavier MN, De Jong MF, et al. (2011) Interactions of the human pathogenic *Brucella* species with their hosts. *Annu Rev Microbiol*. 65(1):523–541. DOI: 10.1146/annurev-micro-090110-102905.

Avijgan M, Rostamnezhad M, Jahanbani-Ardakani H. (2019) Clinical and serological approach to patients with brucellosis: a common diagnostic dilemma and a worldwide perspective. *Microb Pathog*. 129:125–30. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.02.011.

Berger S. (2016) Brucellosis: global status. Los Angeles, California: *Gideon Informatics Inc*.

Bora G, Akkoyunlu Y, Berköz M, et al. (2016) Investigation of *Brucella* seroprevalence in human and livestocks in Igdır, Turkey. *Eastern J Med*. 21(3):107-12. DOI: 0.5505/ejm.2016.02886.

Bozukluhan K, Merhan O, Celebi O, Büyük F, Ogün M, Gökçe G. (2017) Levels of certain biochemical and oxidative stress parameters in cattle with Brucellosis. *J Hellenic Vet Med Soc*, *68*(3), 285–290. DOI: 10.12681/jhvms.15470.

Celik E, Kayman T, Buyuk F, Saglam A. G, Abay S, Akar M, Aydin F. (2023) The canonical *Brucella* species-host dependency is changing, however, the antibiotic susceptibility profiles remain unchanged. *Microb Pathog*, 182, 106261. DOI: /10.1016/j.micpath.2023.106261.

Cesur S, Sunguroğlu K, Ahmed K, Tezeren D, Keseci NO, Aksaray S. (2004) Serum adenosine deaminase levels in patients with brucellosis and in healthy subjects. *Turk J Med Sci*. 34. 315-318.

Demeli A, Fındık M, (2021)Assessment of cattle and sheep Brucellosis in Türkiye. *Vet Hekim Der Derg*. 7-15. DOI:10.33188/vetheder.678481.

Dieffenbach CW, Tramont EC. (2005) Innate (general or nonspecific) host defense mechanisms. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth edition. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, 34-42.

Gantt KR, Goldman TL, McCormick ML, et al. (2001) Oxidative response of human and murine macrophages during phagocytosis of *Leishmania chagasi*. *J Immunol* 167:893-901. DOI: 10.4049/jimmunol.167.2.893.

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü (2012). Brusellanın Konjuktival Aşı ile Kontrol ve Eradikasyonu Projesi. http://www.tarim.gov.tr/Documents/Mevzuat/ Genelgeler/BRUCELLA.pdf. Erişim Tarihi: 24.11.2024.

Giusti G. Adenosine deaminase; in Bergmeyer HV(ed). Methods of enzymatic analysis: *New York Academic Press*, p:1092-1099, 1974. DOI:10.1016/B978-0-12-091302-2.50108-0.

Godfroid J, Al Dahouk S, Pappas G, et al. (2013a) A "One Health" surveillance and control of brucellosis in developing countries: moving away from improvisa tion. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*.; 36 (3):241–248. DOI: 10.1016/j.cimid.2012.09.001.

Godfroid J, Bishop GC, Bosman PP, et al. (2004) Bovine brucellosis. In: Coetzer J Tustin R, editors Infectious diseases of livestock. Cape Town: *Oxford University Press*; pp. 1510–1527.

Hussain R, Khan I, Jamal A, Mohamed BB, Khan A. (2022). Evaluation of Hematological, Oxidative Stress, and Antioxidant Profile in Cattle Infected with Brucellosis in Southern Punjab, Pakistan. *BioMed Res Int*. DOI:10.1155/2022/7140909.

Institute JB. (2014) Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2014 Edition. Australia: The Joanna Briggs Institute. p. 88–91.

Jiang X, Leonard B, Benson R, Baldwin CL. (1993) Macrophage control of *Brucella abortus*: role of reactive oxygen intermediates and nitric oxide. *Cell Immunol*. 151(2):309-19. DOI: 10.1006/cimm.1993.1241.

Jiménez de Bagüés MP, Terraza A, Gross A, Dornand J. (2004) Different responses of macrophages to smooth and rough *Brucella spp*.: relationship to virulence. *Infect Immun*. 72(4):2429-33. DOI: 10.1128/IAI.72.4.2429-2433.2004.

Kandemir O, Eskandari G, Camdeviren H, Sahi E, Kaya A, Atik U. (2002) Plasma malondialdehyde and nitrate levels in patients with brucellosis. *MEU Tıp. Fak. Derg*. 3: 405–409.

Karadenizli A, Helvaci S, Goral G et al., (2002) The role of adenosine deaminase activity and soluble interleukin 2 receptor levels in the discrimination of acute and chronic brucellosis. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease, 10-13 May ,Glasgow, UK. In: Congress Book, p: 323.

Kataria N, Kataria AK, Maan R, Gahlot AK. (2010) Evaluation of oxidative stress in *Brucella* infected cows. *J. Stress Physiol. Biochem* 6(2):19-25.

Khan MZ, Zahoor M. (2018) An overview of brucellosis in cattle and humans, and its serological and molecular diagnosis in control strategies. *Trop Med Infect Dis*. 3:65. DOI: 10.3390/tropicalmed3020065.

Kolgelier S, Ergin M, Saltuk Demir L, Cagkan Inkaya A, Aktug Demir N, Alisik M, Erel O. (2017). Impaired Thiol-Disulfide Balance in Acute Brucellosis. *Jpn J Infect Dis*, *70*(3), 258–262. DOI:10.7883/YOKEN.JJID.2016.196.

Ledwaba MB, Gomo C, Lekota KE, et al. (2019) Molecular characterization of *Brucella* species from Zimbabwe. *PLoS Negl Trop Dis*. 13(5):e0007311. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007311.

Liu D, Bao F, Proug, DS, DeWitt DS. (2005). Peroxynitrite generated at the level produced by spinal cord injury induces peroxidation of membrane phospholipids in normal rat cord: reduction by a metalloporphyrin. *J Neurotrauma*, *22*(10), 1123–1133. DOI:10.1089/NEU.2005.22.1123.

Madebo T, Lindtjorn B, Aukrust P, Berge RK. (2003) Circulating antioxidants and lipid peroxidation products in untreated tuberculosis patients in Ethiopia. Am. *J. Clin. Nutr*. 78: 117–122. DOI: 10.1093/ajcn/78.1.117.

Marcotty T, Matthys F, Godfroid J, Rigouts L, Ameni G, Van Pittius NG, Van Den Bossche P. (2009). Zoonotic tuberculosis and brucellosis in Africa: neglected zoonoses or minor public-health issues? The outcomes of a multi-disciplinary workshop. *Ann Trop Med Parasitol*, 103(5), 401–411. DOI:10.1179/136485909x451771.

Moreno E. (2002) Brucellosis in Central America. *Vet Microbiol*. 90(1–4):31–38. DOI: 10.1016/S0378-1135(02)00242-0.

Murray HW, Teitelbaum RF. (1992) l-arginine-dependent reactive nitrogen intermediates and the antimicrobial effect

of activated human mononuclear phagocytes. *J. Infect. Dis* 165:513-7. DOI:10.1093/infdis/165.3.513.

Nisbet C, Yarım GF, Çiftci A, Çenesiz S, et al. (2007). Investigation of serum nitric oxide and malondialdehyde levels in cattle infected with *Brucella abortus*. *Vet J Ankara Univ*, 54(3), 159-163.

OIE. (2018) Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 3.1.4. Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) (infection with *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*).

Omer M, Skjerve E, MacMillan A, Woldehiwet Z. (2001) Comparison of three serological tests in the diagnosis of *Brucella* infection in unvaccinated cattle in Eritrea. *Prev Vet Med.* 48:215–22. DOI: 10.1016/S0167-5877(00)00185-9.

Otlu S, Sahin M, Atabay HI, Unver A, (2008) Serological investigation of brucellosis in cattle, farmers and veterinarians in the Kars district of Turkey. *Acta Vet Brno*, 77, 117-121. DOI:10.2754/avb200877010117.

Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, et al. (2006) The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*. 6(2):1–25. DOI: 10.1016/S1473-3099(06)70382-6.

Pappas G, Papadimitriou P. (2007) Challenges in *Brucella* bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents*. (2007) 30:29–31. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2007.06.011.

Park MK, Myers RA, Marzella L. Oxygen tensions and infections: modulation of microbial growth, activity of antimicrobial agents, and immunologic responses. *Clin Infect Dis* 1992;14:720-40. DOI:10.1093/clinids/14.3.720.

R Hussain, I Khan, A Jamal, BB Mohamed, A Khan. (2022) "Evaluation of Hematological, Oxidative Stress, and Antioxidant Profile in Cattle Infected with Brucellosis in Southern Punjab, Pakistan," *BioMed Research International*, vol. 2022, Article ID 7140909.

Rania I. Ismail and Samah H. Mohamed (2017) A Study on Some Serological and Immunological Parameters in *Brucella* Infected Bovines. Alex *J Vet Sci*, 55 (1), 230-238. DOI:10.5455/ajvs.280477.

Rokayan SA, (2003) Serum adenosine deaminase activity and its isoenzyme in patients treated for tuberculosis. *J Coll Physicians Surg Pak*. 13: 11-4.

Salmon AB, Richardson A, Pérez VI. (2010) Update on the oxidative stress theory of aging: does oxidative stress play a role in aging or healthy aging? *Free Radic Biol Med*. 1;48(5):642-55. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.015.

Sari RA, Taysi S, Yõlmaz O et al., (2003) Correlation of serum levels of adenosine deaminase activity and its isoenzymes with disease activity in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 21: 87-90.

Shalby NA, Abo El-Maaty AM, Al AH, Elgioushy M. (2021). Acute phase biomarkers, oxidants, antioxidants, and trace minerals of mobile sheep flocks naturally infected with brucellosis. *Bulg J Vet Med*, *24*(4), 559–573. DOI:10.15547/BJVM.2020-0002.

Verger JM, Grimont F, Grimont PAD, et al. (1985) *Brucella*, a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. *Int J Syst Evol Microbiol*. 35 (3):292–295. DOI: 10.1099/00207713-35-3-292.

Viciana P, Lama C, Pachon J et al. (1991) Activity of adenosine deaminase in acute and complicated brucellosis. *Med Clin* 30: 445-8.

Wang X, JiangH. (2020) Global prevalence of human brucellosis. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 41:1717–22. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20191022-00751.

WHO. (1997) Fact sheet N173: brucellosis. Geneva: World Health Organization.

WOAH. (2024) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, thirteenth edition Part 3 WOAH Listed Diseases and Other Diseases of Importance Chapter 3.1.4. Brucellosis (infection with Brucella abortus, B. melitensis and B. suis) (version adopted in May 2022)

Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. (1979) Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*. 135(3):372-6. DOI: 10.1016/0002-9378(79)90708-7. PMID: 484629.