

# Bruselloz Tanısı Alan Hastalarda *Brucella canis* Koinfeksiyonları

## *Brucella canis* Coinfections in Patients With Brucellosis

Figen Sarıgül<sup>1</sup>, Sevil Erdenliğ-Gürbilek<sup>2</sup>, Murat Sayan<sup>3,4</sup>, Süda Tekin<sup>5</sup>, Hüseyin Güdücüoğlu<sup>6</sup>, Oktay Keskin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Antalya, Türkiye

<sup>2</sup>Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

<sup>3</sup>Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi, Kocaeli, Türkiye

<sup>4</sup>Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

<sup>5</sup>Koç Üniversitesi Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

<sup>6</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

### Özet

**Amaç:** *Brucella canis* enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı, insanlarda hastalık yapan diğer *Brucella* türlerinin enfeksiyonlarındaki gibi klasik serolojik yöntemlerle konulamamaktadır. Bu nedenle Türkiye’de *B. canis* enfeksiyonları hakkındaki bilgiler kısıtlıdır. Bu çalışmada, Türkiye’de bruselloz tanısı almış hastalarda *B. canis* koinfeksiyonu varlığının saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Çalışma retrospektif kesitsel olarak tasarlandı. Türkiye’nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde bruselloz tanısı almış 566 hastanın uygun koşullarda saklanmış serum örneği, zayıf mukoid *B. canis* M- varyant suşundan elde edilen antijenin kullanıldığı hızlı lam aglütinasyon testi (LAT), 2-merkaptotanol lam aglütinasyon testi (2ME-LAT) ve modifiye plak aglütinasyon testi (MAT) ile analiz edildi.

**Bulgular:** Test edilen örneklerden 142 (%25)’si LAT, 49 (%8.7)’u 2ME-LAT ile *B. canis* seropozitif olarak saptandı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p \leq 0.05$ ). MAT ile örneklerin 55 (%9.7)’i pozitif olarak saptandı. 2ME-LAT ve MAT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**Sonuçlar:** *B. canis* koinfeksiyonu prevalansına ilişkin bulgularımız, Türkiye’de *B. canis* için serolojik testin yapılması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca *B. canis* enfeksiyonlarının serolojik tanısında MAT’ın bazı avantajlarının olduğu ve 2ME-LAT yerine tercih edilebileceği sonucuna varılmıştır.

*Klimik Dergisi* 2018; 31(3): X.

### Abstract

**Objective:** Laboratory diagnosis of *Brucella canis* infections cannot be made by classical serological methods as readily as infections of other species of *Brucella* pathogenic for humans. Therefore, the information about *B. canis* infections in Turkey is limited. In this study, we aimed to detect presence of *B. canis* coinfections in humans who were diagnosed as brucellosis.

**Methods:** Study has been designed as retrospective cross-sectional. A total of 566 serum samples collected from patients who had confirmed brucellosis and were living in cities of the Eastern and Southeastern Anatolia regions of Turkey were tested with rapid slide agglutination test (RSAT), 2-mercaptoethanol RSAT (2ME-RSAT) and microplate agglutination test (MAT) using *B. canis* M-, a less mucoid variant, as the antigen.

**Results:** Out of the samples tested, 142 (25%) and 49 (8.7%) were positive by RSAT and 2ME-RSAT, respectively, and this difference was significant ( $p \leq 0.05$ ). In total, 55/566 (9.7%) samples were MAT-positive. Differences between 2ME-RSAT and MAT were not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** Our *B. canis* coinfection prevalence data demonstrates that serological testing for *B. canis* should be performed in Turkey. It was also concluded that there are some advantages for using MAT, and this technique may be preferable over 2ME-RSAT.

*Klimik Dergisi* 2018; 31(3): X.

**Anahtar Sözcükler:** Bruselloz, *Brucella canis*, koinfeksiyon, seroloji.

**Key Words:** Brucellosis, *Brucella canis*, coinfection, serological tests.

### Giriş

Bruselloz, özellikle Akdeniz havzasında yaygın olarak görülen, doğrudan infekte hayvanlara ve/veya bunların ürünlerine temasla bulaşan zoonotik bir hastalıktır (1).

*Brucella* cinsinde 10 tür bulunmaktadır. Bunlardan *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ceti* ve *B. inopinata* insan brusellozu olgularından izole edilmiştir (2,3). Köpek brusellozu etkeni olan *B. canis*’in insanlara bulaşması,

**Cite this article as:** Sarıgül F, Gürbilek-Erdenliğ S, Sayan M, Tekin S, Güdücüoğlu H, Keskin O. [Brucella canis coinfections in patients with brucellosis]. *Klimik Derg.* 2018; 31(3): xx-xx. Turkish.

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:**

Figen Sarıgül, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Muratpaşa, Antalya, Türkiye

E-posta/E-mail: drfigensarigul@yahoo.com.tr

(Geliş / Received: 13 Şubat / February 2018; Kabul / Accepted: 28 Nisan / April 2018)

DOI: 10.5152/kd.2018.52



infekte köpeklere veya bunların salgılarına temasla (özellikle abortus sonrasında) ya da laboratuvarında olur. Köpek yetiştiricileri ve veterinerler infeksiyon açısından yüksek risk altındadır. İnfeksiyonun klinik tablosu genellikle hafif seyirlidir (4,5).

İnsanlarda köpek brusellozunun tanısında zorluklar bulunmaktadır. Bunun nedenleri arasında, hastalığın klinik seyrinin nonspesifik olması, rutin serolojik tarama testlerinin bulunmaması, tanıyı doğrulayan laboratuvar testlerinin yetersizliği, infeksiyonun düşük düzeyde bakteriyemiyle seyredilmesi ve etkenin bakteriyolojik besiyerlerinde üremesinin zorluğu sayılabilir. Eşlik eden diğer mikroorganizmaların kültürde üremeleri de *B. canis*'in üremesine engel olabilir. Aralıklı bakteriyemi yaptıkları için kan kültüründe üretilenemeyebilirler. Ampirik olarak başlanan nonspesifik antibiyotik tedavisi üremelerini engelleyebilir (3,6-8).

O-polisakkaridi (OPS), S tipi koloni oluşturan ("smooth": düzgün) *Brucella* türlerinde yüzey antijenidir ve R tipi ("rough": düzensiz) koloni oluşturan *Brucella* türlerinde bulunmamaktadır (9). S tipi koloni oluşturan türler tarafından meydana getirilen brusellozun serolojik tanısı OPS'ye karşı oluşan antikorların tespitine dayanırken, R tipi koloni oluşturan türlerin tanısı klasik serolojik testlerle konulamaktadır (10). *B. canis*, insanda hastalık etkeni olan türler arasında doğal olarak R tipi koloni oluşturan tek *Brucella* türüdür (11). İnsanlarda *B. canis* infeksiyonu genellikle gelişen antikorların serolojik testlerle tanısına dayanmaktadır ve bu amaçla hızlı lam aglütinasyon testi (LAT), 2-merkaptoetanol lam aglütinasyon testi (2ME-LAT), modifiye plak aglütinasyon testi (MAT), agar jel immünodifüzyon testi ve enzim bağlı immünoessey (ELISA) testi tercih edilen tekniklerdir (12-14). LAT, %50-60'lara varan yalancı pozitif sonuçlarıyla düşük özgüllüğe sahip olsa da duyarlılığı yüksektir. Ancak 2ME ile serum IgM antikorları inaktive edilebilmekte ve LAT'ın özgüllüğü artırılabilir (6,13,14).

Türkiye'de 1984-1987 yılları arasında yapılan tarama çalışmalarında bruselloz prevalansı %1.8-6 arasında belirlenmiştir (15). İnsan brusellozu etkenleri arasında sıklıkla *B. melitensis* ve *B. abortus* saptanmaktadır (16). Öte yandan, köpeklerde *B. canis* seroprevalansı 1980'lerde yapılan iki bağımsız çalışmada %6.3 ve %6.7 iken, 2005 yılında yayımlanan bir çalışmaya göre %7.7'ye yükselmiştir (17-19). Ancak Türkiye'de insanlarda *B. canis* infeksiyonunun prevalansı daha önce yapılan çalışmalara rağmen kesinlik kazanmış değildir (20,21). Yapılan kısıtlı sayıda çalışmalara göre *B. canis* seropozitifliği sağlıklı popülasyonda %1.6, bruselloz benzeri semptomlu ancak rose Bengal testi negatif hastalarda %3.7 olarak saptanmıştır (22,23). Bununla birlikte Türkiye'de *B. canis*'in insan brusellozunda koinfeksiyonu bilinmemektedir. Bu çalışmada, Türkiye'de bruselloz tanısı alan hastalarda *B. canis* koinfeksiyon varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Yöntemler

**Serum örnekleri:** Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde çoğunlukla çiftçi ve köpek sahibi olan kırsal bir nüfus mevcuttur. Serum örnekleri Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerini temsilen sırasıyla Van ve Şanlıurfa'dan toplandı. Çalışmada, *B. melitensis*-*B. abortus* tıp aglütinasyon test titreleri 1/160 ve 1/1280 arasında pozitif

olan ve bruselloz tanısı alan hastalardan elde edilmiş 566 serum örneği kullanıldı.

**Antijen hazırlama:** Antijen kaynağı olarak Cornell Üniversitesi Hayvan Sağlığı Tanı Merkezi Baker Enstitüsü'nden (Ithaca, New York, ABD) sağlanan zayıf mukoid *B. canis* M-suşu kullanıldı. LAT antijeni *B. canis* M- suşunun Tris-maleat tamponu (TMB; pH 9.0) içinde %6 hücre volümünde hazırlandı. MAT antijeni *B. canis* M- suşunun boyasız işlemlenmesiyle hazırlandı. *B. canis* M- suşu, formalinli Sorensen'in PBS tamponu içinde %4.5 hücre volümünde stoklandı (5,12,13).

**LAT, 2ME-TAT ve MAT yöntemi:** LAT tekniğinde bir damla antijen, eşit miktarda test ve kontrol serumuyla karıştırıldı ve sonuçlar aglütinasyona dayalı olarak pozitif ya da negatif olarak değerlendirildi. 2ME-TAT yönteminde test özgüllüğünü artırmak için hasta serumu örneklerinde IgM inaktive edildi ve bu amaçla örnekler 0.2 ml 2ME solüsyonu karıştırıldı. MAT tekniğinde serum örnekleri, TMB'de seri olarak 2 kat seyreltildi ve seyreltilmiş serum örnekleri, 96 çukurlu U tabanlı mikropaklara (Nunc Microwell, Waltham, MA, ABD) aktarıldı. Eşit miktardaki seyreltilmiş antijen, serum örneklerine eklendi, etiketlendi ve 37°C'de gece boyunca inkübe edildi. Sonuçlar, bir mikrotitre aynanın yardımıyla değerlendirildi. Aglütinasyon gösteren örnekler (1/25 serum dilüsyonunda) pozitif olarak kabul edildi (12).

**İstatistiksel analiz:** LAT, 2ME-TAT ve MAT düzeyleri sayısal değerler olarak kabul edildi. İki oran arasındaki farkların önemi iki bağımsız örneklem çift *t*-testi kullanılarak ölçüldü. İstatistiksel olarak  $p \leq 0.05$  olan değerler anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics for Windows. Version 24.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corp., Armonk, NY, ABD) yazılımı kullanıldı.

## Bulgular

Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden elde edilen örneklerde LAT sırasıyla 95/566 (%17) ve 47/566 (%8) örnekte pozitif olarak saptandı. Pozitif LAT örnekleri 2ME-LAT ile çalışıldığında sırasıyla 27/566 (%4.8) ve 22/566 (%3.9) örnekte pozitiflik saptandı. LAT ve 2ME-TAT toplamında 142 (%25) ve 49 (%8.7) örnek pozitif bulundu ve bu fark anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). LAT ve 2ME-TAT için sonuçlar Tablo 1'de sunulmaktadır.

Hasta örnekleri ayrıca diğer bir serolojik test olan MAT tekniği kullanılarak incelendi. Doğu ve Güneydoğu Anadolu kökenli brusellozlu hasta örnekleri, *B. canis* infeksiyonu yönünden sırasıyla 31/566 (%5.4) ve 24/566 (%4.2) oranda pozitif saptandı. Toplamda, 55/566 (%9.7) örnekte MAT pozitifliği saptandı. 2ME-LAT ve MAT arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Doğu ve Güneydoğu Anadolu hasta örnekleri için MAT prevalansı ve seropozitiflik titrasyon sonuçları Tablo 1'de sunulmaktadır.

## İrdeleme

Rutin bruselloz teşhisinde, *B. canis* gibi R tipi antijen içeren serolojik testler kullanılmamaktadır. Bu nedenle *Brucella* türlerinin yol açtığı insan infeksiyonları bilinenden daha yaygın olabilir (6,24). Bulgularımız, bruselloz tanısı alan hastaların *B. canis* ile koinfekte olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle *B. canis* serolojik testleri insanlarda rutin serolojik bruselloz tanısının bir parçası olmalıdır.

**Tablo 1. Brusellozlu İnsanlarda *Brucella canis* İçin Lam Aglütinasyon, 2-Merkaptoetanol Lam Aglütinasyon ve Modifiye Plak Aglütinasyon Testlerinin Sonuçları**

Bölge	LAT Sayı (%)	2ME-LAT Sayı (%)	MAT				
			Sayı (%)	1/25 Sayı	1/50 Sayı	1/100 Sayı	>1/100 Sayı
Doğu Anadolu (n=346)	95 (17)	27 (4.8)	31 (5.4)	15	6	7	3
Güneydoğu Anadolu (n=220)	47 (8)	22 (3.9)	24 (4.2)	11	7	5	1
Toplam (n=566)	142 (25)	49 (8.7)	55 (9.7)	26	13	12	4

LAT: lam aglütinasyon testi; 2ME-LAT: 2-merkaptoetanol LAT; MAT: modifiye plak aglütinasyon testi.

Ülkemizde *B. canis* ile ilgili çalışmalarda bruselloz benzeri semptomları olanlarda prevalansın %1.6-8.3 arasında değiştiği, riskli teması olan bireylerde oranın %9.2 olduğu gösterilmiştir (20-23,25,26). Bu çalışmada, 2ME-LAT (%8.7) ile *B. canis* seropozitifliği yüksektir. Beklenenden daha yüksek *B. canis* seropozitifliği Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinin dinamiklerine bağlı olabilir. Bulgularımız, Türkiye'de diğer bölgelerde de insan brusellozunda *B. canis* koinfeksiyonlarının araştırılmasının gerekli olduğunu göstermektedir. Öte yandan, *B. canis* M- suşunun R-LPS yapısının, diğer bakterilerin R türleriyle çapraz reaksiyona girebileceği düşünülebilir (27,28). Bu nedenle, bruselloz hastalarında hastalık durumunun daha doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için serolojik testlerde daha spesifik antijenlere ihtiyaç duyulmalıdır.

Doğru tanı tekniklerinin azlığından dolayı, *B. canis* infeksiyonlarının laboratuvar tanısı zordur. 2ME-LAT, *B. canis* infeksiyonlarının tanısında en yaygın kullanılan tarama testidir (26-30). MAT tekniğini kullanırken spesifik olmayan reaksiyonlar da ortaya çıkabilir ve bu sebeple bazı araştırmacılar saflaştırılmış rekombinant antijenlerle kaplı lateks boncukların kullanılmasını önermektedir (28). Çalışmamızda, 2ME-TAT ile MAT teknikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenemedi. 2ME-TAT ile karşılaştırıldığında MAT tekniğini kullanmanın bazı avantajları bulunmaktadır. MAT, az miktarda antijen ve örnekle çok sayıda test uygulamalarında avantajlıdır. Bu durumda saha çalışmalarında MAT, tarama testleri için daha uygundur. Bununla birlikte, halihazırda, insanlarda *B. canis* infeksiyonları için, MAT seropozitifliği için açıkça tanımlanmış tanı koydurucu titre kesin belli değildir. Bu durum, büyük oranda *B. canis* için uluslararası standard bir serumun bulunmayışına bağlı olabilir.

Türkiye, Güney ve Güneydoğusundaki komşu ülkelerden kaynaklanabilecek birçok bulaşıcı hastalık için risk altındadır. Köse ve arkadaşları (31)'nin 832 sağlıklı yetişkinde yaptıkları taramada *Brucella* infeksiyonu prevalansı %3 olarak saptanmıştır. İran'da her bir milyon kişinin 238.6'sında, Irak'ta 278.4'ünde ve Suriye'de 1603.4'ünde bruselloz mevcuttur (32). Türkiye'de insan nüfusunun heterojenliği ve kitle hareketlerindeki ivme son birkaç yıldır artış göstermektedir. Bu durum Türkiye'nin spesifik coğrafi konumu nedeniyle demografik değişikliklere açık olmasına bağlı olabilir. Özellikle Suriye'den (2011 krizinden bu yana yaklaşık 3 milyon) gelen toplam sığınmacı sayısındaki artış, iltica başvurularındaki artış (Ocak 2015 itibarıyla yaklaşık 212 400 başvuru, özellikle Irak, Afganistan, İran ve Somali) demografik değişikliklerin başında gelmektedir (33). Kurban Bayramı gibi dini bayram-

lar ve ihtiyaç duyulan hayvanların Doğu ve Güneydoğu bölgesinden Türkiye'nin her yerine nakledilmesi de başka bir kitle trafiği yaratmaktadır. Diğer yandan bu bölgelerde başıboş köpek sayılarının diğer bölgelerden fazla olması da *B. canis* infeksiyonlarının artışına neden olmaktadır (34). Ülkemizdeki demografik, dini ve kültürel hareketler *Brucella*'nın S veya R suşlarının neden olduğu seropozitiflik oranlarına katkıda bulunabilir. Öte yandan bu durum *Brucella* türlerinde biyotiplerin bölgesel dolaşımına ve çeşitlenmesine katkı yapabilir. *B. canis* infeksiyonlarının ve insan brusellozundaki koinfeksiyonlarının laboratuvar tanısında, hızlı ve doğru olabilmek için spesifik test ve antijenlerin gerekliliği oldukça açıktır.

Türkiye, Akdeniz havzasında bulunmaktadır ve Ortadoğu ülkelerine yakındır. Ulusal bruselloz kontrol programları halihazırda tarımdaki ekonomik kayıpların önlenmesinde ve insan-hayvan brusellozunu önlemede gerekli ve önemlidir. *B. canis* koinfeksiyonu prevalansı bulgularımız, *B. canis* testinin, Türkiye'de insan brusellozunun rutin tanısında kullanılması gerektiğini ve ulusal bruselloz kontrol programına dahil edilmesi gerektiğini göstermektedir. Ayrıca yüksek prevalansa sahip bölgelerde *B. canis* infeksiyonlarının sürekli izlenmesi, brusellozu önleme ve kontrol etme çabalarının başarısıyla yakından ilgili olabilir.

#### Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

#### Kaynaklar

1. Fenga C, Pugliese M. Endemic zoonosis in Mediterranean area. *G Ital Med Lav Ergon*. 2013; 35(4): 347-9.
2. Tryland M, Kleivane L, Alfredsson A, et al. Evidence of *Brucella* infection in marine mammals in the North Atlantic Ocean. *Vet Rec*. 1999; 144(21): 588-92.
3. Şimşek H, Erdenliç S, Oral B, Tülek N. İnsan kaynaklı *Brucella* izolatlarının tip-biyotip tayini ve epidemiyolojik olarak irdelenmesi. *Klimik Derg*. 2004; 17(2): 103-6.
4. Lucero NE, Corazza R, Almuzara MN, et al. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiol Infect*. 2010; 138(2): 280-5.
5. Corbel MJ. *Brucellosis in Humans and Animals*. Epidemiology [Internet]. Geneva, Switzerland: World Health Organization [erişim 10 Şubat 2018]. <http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>.
6. Galińska EM, Zagórski J. *Brucellosis in humans--etiology, diagnostics, clinical forms*. *Ann Agric Environ Med*. 2013; 20(2): 233-8.
7. Kimura M, Imaoka K, Suzuki M, Kamiyama T, Yamada A. Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis. *J Vet Med Sci*. 2008; 70(7): 707-9.

8. Scheftel, J. *Brucella canis*: potential for zoonotic transmission. *Compendium*. 2003; 25(1): 846-53.
9. Mancilla M. Smooth to rough dissociation in brucella: the missing link to virulence. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016; 5: 98.
10. Alışkan H. Kùltùr ve serolojik yöntemlerin insan brusellozu tanısındaki değeri. *Mikrobiyol Bùl*. 2008; 42(1): 185-95.
11. Krueger WS, Lucero NE, Brower A, Heil GL, Gray GC. Evidence for unapparent *Brucella canis* infections among adults with occupational exposure to dogs. *Zoonoses Public Health*. 2014; 61(7): 509-18.
12. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Techniques for the Brucellosis Laboratory*. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1988: 169-74.
13. Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar GI, Lucero NE. Recent trends in human brucella canis infection. *Comp Immunol Microbiol Inf Dis*. 2013; 36(1): 55-61.
14. Mateu-de-Antonio EM, Martin M, Casal J. Comparison of serological tests used in canine brucellosis diagnosis. *J Vet Diagn Invest*. 1994; 6(2): 257-9.
15. Refai M. Incidence and control of brucellosis in the Near East region. *Vet Microbiol*. 2002; 90(1-4): 81-110.
16. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis*. 2010; 14(6): 469-78.
17. İstanbulluoęlu E, Diker S. *Brucella canis* üzerinde serolojik incelemeler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 1983; 30(1): 14-8.
18. Diker KS, Aydın N, Özyurt M, Erdeger J. Serologic survey of dogs for *Brucella canis* and *Brucella abortus* and evaluation of mercaptoethanol microagglutination test. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 1987; 34(1): 268-77.
19. Öncel T, Akan M, Sareyyupoglu B, Tel YO, Çiftçi A. Seroprevalence of *Brucella canis* infection of dogs in two provinces in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*. 2005; 29: 779-83.
20. Diker S, İstanbulluoğlu E, Ayhan H, Soysal G. Bursa bölgesindeki insanlarda *Brucella canis* infeksiyonları üzerinde serolojik bir inceleme. *Mikrobiyol Bùl*. 1984; 18(4): 203-7.
21. Yüksekaya S, Aras Z, Uçan US. Bruselloz şüpheli olgularda *Brucella canis* seroprevalansının araştırılması. *Mikrobiyol Bùl*. 2013; 47(1): 152-7.
22. Sayan M, Erdenliğ S, Stack J, et al. A serological diagnostic survey for *Brucella canis* infection in Turkish patients with brucellosis-like symptoms. *Jpn J Infect Dis*. 2011; 64(6): 516-9.
23. Sayan M, Erdenliğ S, Etiler N. Sağlıklı kan donörlerinde *Brucella canis* seropozitifliğinin laboratuvar yapımı lam aglütinasyon test antijeni ile araştırılması. *Mikrobiyol Bùl*. 2011; 45(4): 655-63.
24. Vollmar P, Zange S, Zöllner L, Erkel J, Robert Thoma B. Brucellosis, an overview and current aspects. *Dtsch Med Wochenschr*. 2016; 141(14): 1014-8.
25. Köksal F, Akan E, Başlamışlı L, Diker S, Yięit S, Özcan K. Brucellosis benzeri semptomları olan hastaların serumlarında *B. abortus*, *canis* ve *C. burnetti* antikor düzeylerinin gösterilmesi. *Mikrobiyol Bùl*. 1988; 22(2): 132-41.
26. Köylü O, Aras Z, Uçan US. Konya ilinde risk altında bulunan insanlarda *Brucella canis* infeksiyonu seroprevalansı. *İnfeks Derg*. 2009; 23(2): 73-7.
27. Rubach MP, Halliday EB, Cleaveland S, Crump JA. Brucellosis in low-income and middle-income countries. *Curr Opin Infect Dis*. 2013; 26(5): 404-12.
28. Castillo Y, Tachibana M, Kimura Y, et al. Microplate agglutination test for canine brucellosis using recombinant antigen-coated beads. *Int Sch Res Notices*. 2014; 2014: 348529.
29. Wanke MM, Cairó F, Rossano M, et al. Preliminary study of an immunochromatography test for serological diagnosis of canine brucellosis. *Reprod Dom Anim*. 2012; 47(6): 370-2.
30. Kauffman LK, Bjork JK, Gallup JM, Boggiatto PM, Bellaire BH, Petersen CA. Early detection of *Brucella canis* via quantitative polymerase chain reaction analysis. *Zoonoses Public Health*. 2014; 61(1): 48-54.
31. Köse S, Smits HL, Abdoel TH, Ozbel Y. Prevalence of *Brucella* antibodies in rural and suburban communities in three provinces of Turkey: need for improved diagnosis and prevention. *J Infect*. 2006; 53(5): 308-14.
32. Kilic S, Ivanov IN, Durmaz R, et al. Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis genotyping of human *Brucella* isolates from Turkey. *J Clin Microbiol*. 2011; 49(9): 3276-83.
33. Populations [Internet]. Geneva, Switzerland: UN Refugee Agency [erişim 10 Şubat 2018]. <http://reporting.unhcr.org/population>.
34. Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar GI, Lucero NE. Recent trends in human *Brucella canis* infection. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2013; 36(1): 55-61.