

İnsan Kaynaklı *Brucella* İzolatlarının Tip-Biyotip Tayini ve Epidemiyolojik Olarak İrdelenmesi

Hüsniye Şimşek¹, Sevil Erdenli², Behiç Oral¹, Necla Tülek¹

Özet: Bu çalışmada, hastanemize İç Anadolu Bölgesi'nden gelen ve bruselloz tanısı ile yatırılarak izlenen hastalardan izole ettiğimiz *Brucella* suşlarının tür ve biyotip düzeyinde idantifikasyonları yapıldı. Farklı hastalardan izole edilen toplam 70 *Brucella* suşu çalışmaya alındı. Suşların CO₂ gereksinimi, H₂S üretimi, tiyonin ve bazik fuksin boyalarına duyarlılık, Tbilisi faj tiplendirmesi ve A-M monospesifik antiserumları ile aglütinasyon testleri uygulanarak tür tayini ve biyotiplendirme yapıldı. Tüm *Brucella* izolatlarının *B.melitensis* olduğu ve 65'inin (%92.8) *B.melitensis* biyotip-3, 5'inin (%7.2) *B.melitensis* biyotip-1 olduğu saptandı. Sonuçta bölgemizde insan brusellozunda en sık etkenin *B.melitensis* ve en yaygın *B.melitensis* biyotipinin biyotip-3 olabileceği görüşüne varıldı.

Anahtar Sözcükler: Bruselloz, *Brucella* spp., biyotiplendirme.

Summary: Typing-biotyping of *Brucella* isolates of human origin and their epidemiologic evaluation. In this study, we identified and biotyped of *Brucella* spp. isolated from the patients admitted to our department from different regions of Central Anatolia. A total number of 70 *Brucella* spp. isolated from different patients were included in the study. Isolates were evaluated on the basis of requirement of CO₂ for growth, production of H₂S, sensitivity to thionin and basic fuchsin dyes. Tbilisi phage typing was also used to determine the species. Biotyping was performed by agglutination method by using A-M monospesific antiserums. All *Brucella* isolates were identified as *B.melitensis*. It was found that 65 of the isolates (92.8%) were *B. melitensis* biovar 3, and 5 isolates (7.2%) were *B.melitensis* biovar 1. According to our results *B.melitensis* may be the most frequently agent responsible for human brucellosis and *B.melitensis* biovar 3 may be the most frequently type in our region.

Key Words: Brucellosis, *Brucella* spp., biotyping.

Giriş

Bruselloz, ülkemizde özellikle bazı bölgelerde oldukça yaygın olan bir zoonozdur. Ülkemizdeki insan infeksiyonlarının çoğundan en virülen tür olan *Brucella melitensis* sorumludur (1). İnsanlarda brusellozun önlenmesi, öncelikle hayvanlardaki hastalığın kontrolü ve eradikasyonuna bağlıdır. Eradikasyon programlarının oluşturulmasında ise epidemiyolojik verilere gereksinim vardır. Ülkemizde insan kaynaklı *Brucella* suşlarının tür ve biyotiplendirilmesine ilişkin yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada kliniğimizde bruselloz tanısı ile izlenen hastalardan izole ettiğimiz *Brucella* suşlarının tür ve biyotip düzeyinde idantifikasyonları, biyotiplerle klinik seyir arasındaki ilişkinin araştırılması ve bölgemizle ilgili epidemiyolojik verilere ulaşılması amaçlandı.

Yöntemler

Eylül 1999 ile Ağustos 2002 tarihleri arasında Ankara Eğitim

(1) Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Cebeci-Ankara

(2) Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Pendik-İstanbul

XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (30 Mart-3 Nisan 2003, İstanbul) ve 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (10-13 Mayıs 2003, Glasgow, United Kingdom) nde bildirilmiştir.

ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nde yatırılarak izlenen, kültürlerinde *Brucella* spp. üreyen 70 brusellozlu hasta ve bu hastalardan izole edilen 70 *Brucella* suşu çalışmaya alındı. Tür ve biyotiplendirme çalışmaları Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü *Brucella* Laboratuvarı'nda yapıldı.

Etken İzolasyonu

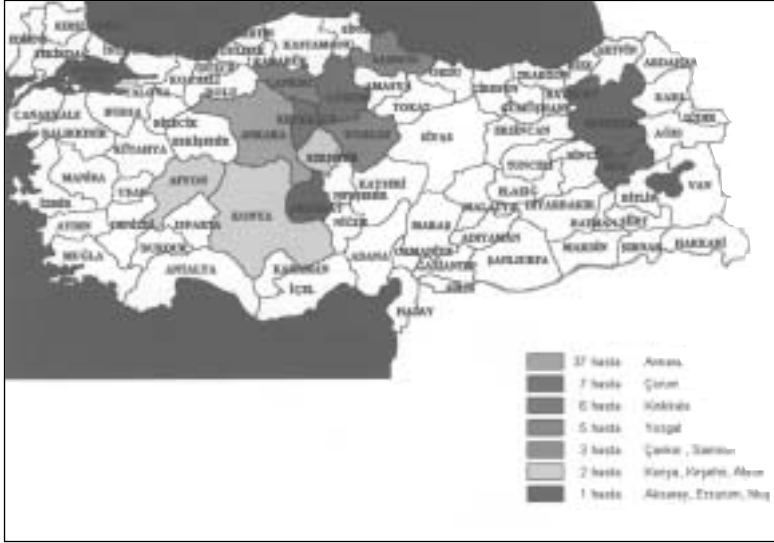
Brucella suşları, hastaların kan, kemik iliği ve/veya beyin omurilik sıvısı (BOS) kültürlerinden BACTEC 9050 (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) sistemi kullanılarak izole edildi.

Tür ve Biyotip Tanısında Kullanılan Yöntemler

İzole edilen suşların tür ve biyotip tanısında bakterinin koloni morfolojisi son derece önemlidir. R ("rough", pürüzlü) tipi kolonileri monospesifik A ve M antiserumları ve *Brucella* fajları ile tiplendirmek mümkün olmadığından tiplendirme için S ("smooth", düzgün) tipi kolonilerin seçilmesi gerekmektedir (2-4).

İzolatların koloni morfolojileri, stereoskopik mikroskopta oblik ışıkta incelenerek ve akriflavin solüsyonu (Sigma-A 8126, 1/1000'lik solüsyon) ile aglütinasyon özelliklerine bakılarak ayırt edildi ve hepsinin S tipi koloni olduğu gözlemlendi. İncelenecek her izolatanın pepton-salin solüsyonu ile süspansiyonları hazırlanarak, ikişer adet Serum Dekstroz Agar (SDA) besiyerlerine ekimleri yapıldı.

Suşların CO₂ gereksinimi aerop ve %5-10 CO₂'li ortamlarda üreme durumlarına göre, H₂S üretimi ise besiyerlerine yerleş-



Şekil 1. Brusellozlu hastaların geldikleri iller.

tirilen kurşun asetatlı kağıt şeritlerde oluşan renk değişikliğine göre değerlendirildi.

Tiyonin ve bazik fuksin boyaları ile inhibisyona duyarlılık: Bazik fuksin ve tiyonin varlığında *Brucella* suşlarının üreme kabiliyetinin belirlenmesi, biyotiplendirmede kullanılan testlerden birisidir. Temel besiyerlerine belirli konsantrasyonlarda boyaların katılması ile bakılabildiği gibi boya emdirilmiş disk yöntemi ile de değerlendirilebilir (5-9). Tiyonin ve bazik fuksin varlığında; *B.abortus* yalnız tiyonin tarafından inhibe olurken, *B.melitensis* inhibisyona uğramadan üremektedir. *B.suis* ise bazik fuksin tarafından inhibe olurken tiyoninden etkilenmeden üremesini sürdürmektedir (5,6).

Çalışmamızda, tiyonin ve bazik fuksin duyarlılığını saptarken boyalı disk yöntemi kullanıldı. Tiyonin (Sigma-T 3387) ve bazik fuksin (Sigma-B 0904) içeren diskler ekim yapılan SDA besiyerleri üzerine eşit aralıklarla yerleştirilerek aerop ve %5-10 CO₂'li ortamlarda 37°C'de 4 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda boyalı disklerin etrafında ≥ 3 mm'lik bir inhibisyon zonunun görülmesi duyarlılık olarak kabul edildi.

Tbilisi faj tiplendirmesi: Aynı şekilde ekim yapılan Petri kutusundaki SDA besiyerleri, steril pipet uçları ile Tbilisi fajının (Centre National d'Etudes Veterinaires et Alimentaires, CNEVA, Fransa) rutin test dilüsyonu (RTD)'ndan 20'şer 1 damlatılarak 37°C'de 4 gün süre ile inkübe edildi. Sonuçlar inkübasyon süresinin sonunda üreme ve lizis durumlarına göre değerlendirildi.

Tbilisi bakteriyofajı rutin test dilüsyonunda (RTD) *B.abortus*'un S kültürlerini lizise uğratır. Fakat *B.suis* ve *B.melitensis* kültürleri etkilenmez. *B.suis* RTD'nun 10⁴ katı konsantrasyonda kısmen lizise uğramasına rağmen *B.meliten-*sis Tbilisi fajı ile hiçbir şekilde lizise uğramaz (3,4,6).

A ve M monospesifik antiserumları ile aglütinasyon: A ve M antijenleri türlere ve biyotiplere göre farklı orantadırlar. *B.abortus*'un biyotip-1, 2, 3 ve 6; *B.suis*'in biyotip 1, 2, 3;

B.melitensis'in biyotip-2'sinde A antijeni dominant iken *B.abortus*'un biyotip 4, 5 ve 9; *B.suis* biyotip 5 ve *B.melitensis* biyotip-1'inde M antijeni dominanttır. *B.melitensis* biyotip-3 ve *B.suis* biyotip-4 ise A ve M antijenlerini eşit miktarlarda taşırlar (10).

Her bir izolat steril serum fizyolojik içinde süspansiyon edilerek bir lam üzerinde A ve M monospesifik antiserumları (Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü) ile karıştırıldı. Sonuçlar 1 dakika içerisinde oluşan aglütinasyon durumlarına göre değerlendirildi.

Çalışma süresince kontrol amacı ile *B.abortus* biyotip-1 544 (NCTC 10093), *B.melitensis* biyotip-1 16 M (NCTC 10094), *B.melitensis* biyotip-2 63/9 (NCTC 20508), *B.melitensis* biyotip-3 Ether (NCTC 10505), *B.suis* biyotip-1 1330 (NCTC 10316), *B.ovis* 63/290 (NCTC 10512) (CNEVA, Fransa) standard suşları kullanıldı.

İstatistiksel değerlendirmede ise ² testi ve Fisher'in kesin testi kullanıldı.

Sonuçlar

Çalışmaya 42'si (%60) erkek, 28'i (%40) kadın olmak üzere toplam 70 hasta alındı. Bu 70 hastadan 65'inin (%92.8) İç Anadolu Bölgesinden geldiği gözlemlendi. Hastaların geldikleri illere göre dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.

Hastaların yaş ortalamaları 42.7 yıl ve yaş dağılımı 15-75 yaş arasındaydı. Hastaların epidemiyolojik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Brucella izolatlarının üreme yerleri Tablo 2'de görülmektedir.

Tür ve biyotiplendirme sonuçları: Gerek aerop gerekse %5-10 CO₂'li ortamda SDA besiyerlerinin tümünde üreme gö-

Tablo 1. Hastaların Epidemiyolojik Özellikleri

	Hasta Sayısı	(%)
Bulaşma yolları		
Taze peynir yeme + hayvancılıkla uğraşma	34	(48.6)
Sadece taze peynir yeme	30	(42.8)
Sadece hayvancılıkla uğraşma	3	(4.3)
Bulaşma yolu saptanamayan	3	(4.3)
Hastaların yaşadıkları yer		
Kent	32	(45.7)
Kırsal kesim	38	(54.3)
Beslenen hayvan		
Koyun + keçi	26	(37.1)
Koyun + sığır	10	(14.3)
Sadece sığır	1	(1.4)
Hayvan beslemeyen	33	(47.2)

Tablo 2 . *Brucella* İzolatlarının İzole Edildiği Örnekler

Kültür Sonuçları	Hasta Sayısı	(%)
Kan	48	(68.6)
Kan + kemik iliği	17	(24.3)
Kemik iliği	1	(1.4)
Kan + BOS	1	(1.4)
BOS	3	(4.3)

rüldü ve kurşun asetatlı kağıt şeritlerde siyahlaşma gözlenmedi. Böylece izolatların üreme için CO₂'ye gereksinim göstermediği ve H₂S üretmediği saptandı. İzolatların tümü bazik fuksin ve tiyonin emdirilmiş disklerin etrafında 3 mm'nin altında zonlar oluşturarak veya hiç zon oluşturmayarak bazik fuksin ve tiyonine dirençlilik gösterdi; ayrıca Tbilisi fajının RTD'nda lizis göstermediler. Bu sonuçlara göre tüm izolatlar *B. melitensis* olarak değerlendirildi. İzolatlardan 65'i hem A hem de M monospesifik anti-serumu ile aglütinasyon verirken, 5 tanesi sadece M anti-serumu ile aglütinasyon gösterdi.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde toplam 70 adet *Brucella* izolatından 65'inin (%92.8) *B. melitensis* biyotip-3 ve 5'inin (%7.2) ise *B. melitensis* biyotip-1 karakteri taşıdığı saptandı.

Hastaların geldikleri illere göre biyotiplerin dağılımı Tablo 3'te görülmektedir

Saptanan *Brucella* biyotipleri ile hastaların kent veya kırsal kesimde yaşamaları ve bulaş öyküleri arasındaki dağılıma bakıldığında her ikisinde de istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (p>0.05). İzolatların tümünün *B. melitensis* olması ve biyotip-3 dışındaki diğer biyotiplerin çok az sayıda saptanması nedeniyle klinik özelliklerle ilişki değerlendirilemedi.

İrdeleme

Bruselloz, dünyanın pek çok yerinde görülebilen ve bazı ülkelerde endemik olan bir zoonozdur. Özellikle Akdeniz ülkeleri, Arabistan yarımadası, Hindistan, Orta ve Güney Amerika ülkeleri gibi bölgelerde yaygındır (11,12). Ülkemiz de bu endemik bölgelerin içerisinde. Özellikle Ankara ovasında, Konya yöresinde, Güneydoğu Anadolu'da, Diyarbakır ve Urfa yörelerinde yaygındır (1). Ülkemizde hayvanlar arasında yapılan geniş kapsamlı bir proje çalışmasında bruselloz seropozitifliği sığırlarda %1.43; koyunlarda %1.97 saptanırken bu oran sürülerde %11.4 ve %15 olarak rapor edilmiştir. Aynı çalışmada Ankara ilindeki sığırlarda bruselloz oranı %1.1, koyunlarda ise %6 olarak tespit edilmiştir (13). Bu veriler bölgemizde *B. melitensis* enfeksiyonu olasılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Çiğ süt ve süt ürünleriyle beslenme ve hayvancılıkla uğraşma, *Brucella* enfeksiyonunun başlıca risk faktörlerini oluşturmaktadır. Çalışmamızda hastaların 64 (%91.3)'ünde taze peynir yeme, 37 (%52.7)'sinde hayvancılıkla uğraşma öyküsü saptandı ve bulaşta en önemli yolun taze peynir yeme, ikinci olarak da hayvancılıkla uğraşma olduğu görüldü. *B. melitensis*'in primer rezervuarı koyun ve keçilerdir. *B. abortus* ise esas olarak sığırlarda enfeksiyona yol açar, ancak deve ve buf-

falo gibi hayvanlarda da görülebilir (11). Çalışmamızda hayvancılıkla uğraşan hastalarda, koyun ve keçi besleme oranının sığır besleme oranına göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Bu veri de hastalarımızda *B. melitensis* enfeksiyonunun daha sık olmasını açıklamaktadır.

Dünyanın çeşitli bölgelerindeki araştırmacılar ülkelerindeki mevcut *Brucella* tür ve biyotiplerini saptamak amacıyla çalışmalar yapmıştır. Ürdün'den Aldomy ve arkadaşları (14) yaptıkları çalışmada, 31 *B. melitensis* izolatından 27'sinin biyotip-3 ve 4'ünün biyotip-1 olduğunu bildirmişlerdir. Tolari ve arkadaşları (15) İtalya'nın 14 bölgesinden gelen *Brucella* izolatlarının biyotiplendirilmesi sonucunda ülkede en yaygın olarak *B. melitensis* biyotip-2'nin görüldüğünü belirtmişlerdir. Mustafa ve arkadaşları (16) Suriye'de her üç biyotipin de var olduğunu bildirmişlerdir. Crichon ve arkadaşları (17)'nin yaptıkları bir çalışmada Avustralya'da 1981-1985 yılları arasında izole edilen *Brucella* suşları tanımlanırken *B. abortus* biyotip-1'in en yaygın olduğu, ayrıca *B. abortus* biyotip-2 ve 4, *B. melitensis* biyotip-3, *B. suis* biyotip-1 ve *B. ovis*'inde tespit edildiği belirtilmiştir.

Brucella'nın izole edilmesi ve identifikasyonunun yanı sıra biyotiplendirilmesi, epidemiyolojik çalışmalar ve eradikasyon programları açısından büyük önem taşımaktadır. *Brucella* tür ve biyotiplerinin dağılımına ilişkin bilgiler, bir ülkedeki yeni biyotiplerin, aşı suşlarının takibi ve serolojik tanıda kullanılan optimal suşların seçimi açısından da önemlidir.

Ülkemizde ise *Brucella* izolatlarının tür ve biyotip düzeyindeki identifikasyonuna ilişkin çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Erdoğan ve arkadaşları (18), Trakya bölgesinde hayvanlardan izole edilen 29 *Brucella* suşundan 25'inin *B. melitensis* biyotip-1, 3'ünün *B. melitensis* biyotip-2 ve 1'inin *B. melitensis* biyotip-3 olduğunu bildirmişlerdir. Erdenliç ve arkadaşları (9) ise koyunlardan izole edilen toplam 78 *Brucella* suşundan 69'unun (%88.5) *B. melitensis* biyotip-3 ve 9'unun (%11.5) *B. melitensis* biyotip-1 olduğunu bildirmişlerdir. Bol-

Tablo 3 . Hastaların Geldikleri illere Göre Biyotiplerin Dağılımı

Hastanın Geldiği Yer	<i>B. melitensis</i> biyotip-3	<i>B. melitensis</i> biyotip-1
Ankara merkez	20	3
Ankara ilçe ve köyleri	14	–
Kırıkkale	5	1
Çorum	7	–
Yozgat	5	–
Çankırı	3	–
Samsun	3	–
Konya	2	–
Afyon	1	1
Kırşehir	2	–
Aksaray	1	–
Erzurum	1	–
Muş	1	–
Toplam	65	5

ca ve arkadaşları (19)'nın yaptığı bir çalışmada 29 insan kaynaklı *Brucella* izolatından 22'sinin (%75.8) *B.melitensis* biyotip-3, 4'ünün (%13.7) *B.melitensis* biyotip-1 olduğu saptanmış ve 3'ü R tipi koloni morfolojisi gösterdiği için biyotiplendirme yapılamamıştır. Özkurt ve arkadaşları (20)'nin Erzurum bölgesinde yaptıkları bir çalışmada 50 brusellozlu hastada kemik iliği kültürü pozitifliği %70, kan kültürü pozitifliği %48 olarak belirtilmiş ve elde edilen tüm izolatların *B.melitensis* olarak tiplendirildiği, bunların da çoğunlukla biyotip-3, az sayıda biyotip-1 olarak saptandığı bildirilmiştir. Bunların dışında başka yetersiz çalışmalar da olmasına rağmen, kullandıkları yöntemlerin standart yöntemlerin tümünü içermemesi nedeniyle bura-ya alınmadı.

Brucella suşlarının tür ve biyotip tayininde Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün önerdiği standard yöntemler, biyokimyasal özellikler (CO₂'e gereksinim, H₂S üretimi), boyalara (tiyoinin ve bazik fuksin) duyarlılık, Tbilisi fajı ile lizisin değerlendirilmesi ve A ve M monospesifik antiserumları ile aglütinasyondur (3-6). Bizim çalışmamızda da, bu standard yöntemlere göre tür ve biyotiplendirmeleri yapılan insan kaynaklı 70 farklı suştan 65'i (%92.8) *B. melitensis* biyotip-3 ve 5'i (%7.2) *B. melitensis* biyotip-1 olarak saptandı. Sonuç olarak bölgemizde insan brusellozunda en sık etkenin *B. melitensis* olduğu ve en yaygın suşun *B. melitensis* biyotipinden biyotip-3 olduğu görüldü. Bruselloz eradikasyonunda başarıya ulaşmak için öncelikle yeterli epidemiyolojik verilere gereksinim vardır. Elde ettiğimiz sonuçların epidemiyolojik olarak önemli bir veri kaynağı olabilmesi ve *Brucella* testlerinde ülkemizde antijen ve antikör seçiminde kullanılabilmesi için ülke genelinde yapılan benzer çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Sözen TH. Bruselloz. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 636-41
2. Isenberg HD. *Brucella* spp. In: Isenberg HD, Pezzlo M, eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington, DC: ASM Press, 1992: 1.18. 23-27
3. Alton GG, Jones LM, Pietz DE. *Laboratory Techniques in Brucellosis*. 2nd ed. WHO Monograph Series No. 55. Geneva: WHO, 1975: 11-59
4. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Techniques for the Brucellosis Laboratory*. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1988: 11-61
5. Koneman EW, Allen DS, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn CW. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, 1997: 431-6
6. Moyer NP, Holcomb LA, Hausler WJ. *Brucella*. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed. Washington, DC: ASM Press, 1991: 457-62
7. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. İkinci baskı. İzmir: Barış Yayınları, 1995: 224-9
8. Ribeiro LM, Herr S. The use of filter paper impregnated with thionin acetate, basic fuchsin and thionine blue in the identification of *Brucella* species. *J Vet Res* 1990; 57: 197-9
9. Erdenliç S, Şen A. Koyun atıklarından *brucella* cinsi mikroorganizmaların izolasyonu ve biyotiplendirilmesi. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 2000; 31(2): 31-42
10. Corbel MJ. Microbiology of the genus *Brucella*. In: Young EJ, Corbel MJ, eds. *Brucellosis: Clinical and Laboratory Aspects*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989: 54-67
11. Slack MPE. Gram-negative coccobacilli. In: Armstrong D, Cohen J, eds. *Infectious Diseases*. London: Mosby, 1999: (8)20.1-20.8
12. Young EJ. *Brucella* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 2000: 2386-93
13. İyisan AS, Akmaz Ö, Düzgün-Gökçen S, et al. Türkiye'de sığır ve koyunlarda brusellozisin seroepidemiyojisi. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 2000; 31(1): 21-34
14. Aldomy FMM, Jahans KL, Altarazi YH. Isolation of *Brucella melitensis* from aborting ruminants in Jordan. *J Comp Pathol* 1992; 107: 239-42
15. Tolari F, Farina R. Methods for the identification of *Brucella* isolates in use at the Animal Pathology Department. Università di Pisa, Results of eight years activity. *Ann Fac Med Pisa* 1988; 41: 227-32
16. Mustafa AA, Roberts RM, Corbel MJ. Isolation of *Brucella melitensis* from sheep in Syria. *Vet Rec* 1985; 117: 277
17. Crichton R, Medueczky NE. The identity, distribution and epizootiological significance of *brucella* isolates in Australia, 1981 to 1985. *Aust Vet J* 1987; 64: 48-52
18. Erdoğan İ, Gürel A, Tekin C, Uyanık F, Bitgel A. Trakya bölgesinde koyun, keçi ve sığırlarda bakteriyel abortların tespiti ve dağılımı. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 1993; 24(1): 23-35
19. Bolca Z, Gündüş S, Erdenliç S, Öztürk R, Sümerkan B, et al. İnsan kaynaklı *brucella* türü mikroorganizmaların tiplendirilmesi amacı ile uygulanan metodların karşılaştırılması ve biyotipleri ile faj tipleri arasındaki ilişkinin irdelenmesi. *Flora* 2002; 7(3): 157-70
20. Özkurt Z, Kaya A, Taşyaran MA, Yılmaz Ş. Bruselloz tanısında standart tüp aglütinasyon testi, kan ve kemik iliği kültürlerinin tanı değerlerinin karşılaştırılması. *İnfeks Derg* 2000; 14(4): 463-8