



T.C.

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BRUSELLOZ HASTALARINDA ASİMETRİK
DİMETİLGİNİN (ADMA) DÜZEYİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed SEZGİN

ERZİNCAN

2018

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BRUSELLOZ HASTALARINDA ASİMETRİK
DİMETİLARGİNİN (ADMA) DÜZEYİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed SEZGİN

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Merve AYDIN

ERZİNCAN

2018

TEZ KABUL TUTANAĞI

Dr.Öğr.Üyesi Merve AYDIN danışmanlığında, 14780201003 nolu Yüksek Lisans öğrencisi Muhammed SEZGİN tarafından hazırlanan bu çalışma 20.06.2018 tarihinde saat 10⁰⁰ da jürimiz tarafından oy birliği ile Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir. 20.06.2018

Unvan Adı Soyadı

Jüri Başkanı: Prof.Dr.Tuncer ÖZEKİNCİ

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Merve AYDIN

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Aytakin ÇIKMAN

İmza
T. Özekinci
Merve Aydın
Aytakin Çikman

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uygunluğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Muhammed SEZGİN

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca tezimin her aşamasında bilgi, öneri ve desteğini esirgemeyerek çalışmamı tamamlamama katkıda bulunan çok değerli tez danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Merve AYDIN başta olmak üzere sayın Dr. Öğr. Üyesi Aytekin ÇIKMAN ve Dr. Öğr. Üyesi Barış GÜLHAN hocalarıma verdikleri emeklerinden ve yardımlarından dolayı ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin oluşmasında yardımlarını esirgemeyen Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Dr. Öğr. Üyesi Faruk KARAKEÇELİ'ye bilgi, öneri ve desteklerinden dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Canım ailemede yüksek lisans süresince gösterdikleri anlayış ve desteklerinden dolayı en derin duygularıyla teşekkür ederim.

Muhammed SEZGİN

Erzincan, 2018

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	III
KISALTMALAR.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
ÖZET.....	XI
ABSTRACT.....	XII
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bruselloz Tanım.....	3
2.2. Tarihçe.....	3
2.3. Sınıflandırma.....	4
2.4. Morfolojisi ve Mikrobiyolojik Özellikleri.....	5
2.5. Bulaşma Yolları.....	6
2.6. Antijenik Yapı ve Virulans Faktörleri.....	8
2.6.1. Lipopolisakkarid (LPS).....	9
2.6.1.2. VirB Tip IV Sekresyon Sistemi (T4SS).....	10
2.6.1.3. İki Komponentli BvrR/BvrS Sistemi.....	11
2.6.1.4. Siklik β -1,2 Glukan.....	11
2.6.1.5. Süperoksit Dismutaz.....	11
2.6.1.6. Katalaz.....	12
2.6.1.7. Üreaz.....	12
2.6.1.8. Baz Ekzisyon Onarımı.....	13
2.6.1.9. Diğer Virulans Faktörleri.....	13
2.7. Epidemiyoloji.....	15
2.8. Klinik Belirti ve Bulgular.....	17
2.8.1. Akut Bruselloz.....	18
2.8.2. Subakut Bruselloz.....	18

2.8.3. Kronik Bruselloz.....	19
2.8.4. Subklinik veya Asemptomatik Enfeksiyon.....	19
2.8.5. Relaps.....	19
2.8.6. Multiorgan Sistem Tutulumu.....	20
2.8.6.1. Osteoartikuler Tutulum.....	20
2.8.6.2. Nörolojik Tutulum.....	21
2.8.6.3. Kardiyovasküler Tutulum.....	22
2.8.6.4. Gastrointestinal Tutulum.....	22
2.8.6.5. Genitüriner Tutulum.....	23
2.8.6.6. Solunum Sistemi Tutulumu.....	23
2.8.6.7. Cilt Tutulumu.....	23
2.8.6.8. Göz Tutulumu.....	24
2.9. Tanı.....	24
2.9.1. Kültür.....	24
2.9.2. Serolojik Testler.....	27
2.9.2.1. Rose Bengal Lam Aglütinasyon Testi.....	27
2.9.2.2. Serum Aglütinasyon Testi (SAT).....	28
2.9.2.3. İndirekt Coombs (Anti-insan globulin) Testi.....	29
2.9.2.4. Brucellacapt (Vircell, Granada, Spain).....	29
2.9.2.5. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	30
2.9.2.6. İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA).....	31
2.9.2.7. Immunokromatografik Test (Lateral Flow Assay).....	32
2.9.3. Moleküler Yöntemler.....	32
2.10. Tedavi.....	33
2.11. ADMA.....	35
2.11.1. ADMA'nın Biyosentezi ve Taşınması.....	35
2.11.2. ADMA'nın Metabolizması.....	37
2.11.3. ADMA Ölçüm Metodları.....	38

2.11.4. ADMA'nın Çeşitli Fizyopatolojik Durumlarla İlişkisi.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Araştırmanın Türü.....	40
3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Zaman.....	40
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi.....	40
3.4. Araştırmanın Etik İlkeleri.....	40
3.5. Araştırmanın Sınırlılıkları ve Genellenebilirliği.....	41
3.6. Verilerin Toplanması.....	41
3.7. Bruselloz Tanısı.....	42
3.7.1. Rose Bengal Lam Aglutinasyon Testi.....	42
3.7.2. Brusella Immuncapture Aglutinasyon Testi.....	42
3.8. Hemogram, Biyokimyasal Testler, Sedimentasyon ve CRP Düzeylerinin Ölçülmesi.....	43
3.9. ELISA İle Serum ADMA Düzeylerinin Ölçülmesi.....	44
3.10. İstatistiksel Analiz.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. Çalışma Gruplarında Cinsiyet ve Yaş Oranları.....	46
4.2. Çalışma Gruplarında ADMA Düzeyleri.....	47
4.3. Çalışma Gruplarında Biyokimyasal Test Düzeyleri.....	47
4.4. Çalışma Gruplarında Hemogram Test Düzeyleri.....	47
4.5. Çalışma Gruplarında Sedimentasyon Test Düzeyleri.....	48
4.6. Çalışma Gruplarında CRP Test Düzeyleri.....	48
4.7. Grup Bazında Değerlendirilen Biyokimyasal Test Düzeyleri.....	50
4.7.1. AST Düzeyleri.....	50
4.7.2. ALT düzeyleri.....	51
4.7.3. Kr Düzeyleri.....	51
4.8. Grup Bazında Değerlendirilen Hemogram Test Düzeyleri.....	52
4.8.1. WBC Düzeyleri.....	53
4.8.2. Hb Düzeyleri.....	53

4.8.3. Hct Düzeyleri.....	54
4.8.4. PLT Düzeyleri.....	55
4.9. Grup Bazında Değerlendirilen Sedimantasyon Test Düzeyleri.....	56
4.10. Grup Bazında Değerlendirilen CRP Test Düzeyleri.....	57
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	64
KAYNAKLAR.....	65
EKLER.....	82
EK I: Etik Kurul Onayı	
ÖZGEÇMİŞ.....	83

KISALTMALAR

ADMA	: Asimetrik Dimetilarjinin
AGXT2	: Alanin-Glioksilat Aminotransferaz 2
ahpC/ahpD	: Alkil Hidroperoksit Redüktaz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BEO	: Brusella Epididimo Orşiti
BGD-3	: Biyogüvenlik Düzeyi- 3
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CAT	: Katyonik Amino Asit Taşıyıcı
CMV	: Sitomegalovirüs
CRP	: C-Reaktif Protein
CT	: Coombs Testi
cydB	: Sitokrom Oksidaz
DDAH	: Dimetilarjinin Dimetilaminohidrolaz
DDAH-1	: Dimetilarginin Dimetilaminohidrolaz-1
DDAH-2	: Dimetilarginin Dimetilaminohidrolaz-2
DSÖ/ WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
<i>H. pylori</i>	: Helicobacter pylori
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
Hb	: Hemoglobin
Hct	: Hematokrit
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HMEC-1	: Mikrovasküler Endotel Hücre Hattı
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HRP	: Horseradish Peroxidase

HUVEC	: İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücresi
IFA	: İndirekt Floresan Antikor Testi
KHB	: Kronik Aktif Hepatit B
KR	: Kreatinin
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografisi/Tandem Kütle Spektrometresi
LFT	: Immunokromatografik Test (Lateral Flow Assay)
L-NMMA	: NG Monometil L-Arjinin
LPS	: Lipopolisakkarid
MS	: Kütle Spektrometrisi
NO	: Nitrik Oksit
norD	: Nitrik Oksitredüktaz
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
OH / O₂	: Hidroksil Radikalleri / Süperoksit
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PLT	: Trombosit
PRMT	: Protein Arjinin Metil Transferaz
PRMT-1	: Protein Arjinin Metil Transferaz-1
Real-time PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAT	: Serum Agglutinasyon Testi
SDA	: Serum Dekstroz Agar
SDMA	: Simetrik Dimetilarginin
STA	: Serum Tüp Agglutinasyon
T4SS	: Virb Tip IV Sekresyon Sistemi
TAT	: Tüp Agglutinasyon Testi
TMB	: Tetrametilbenzidin
UPLC	: Ultra Basınçlı (Performanslı) Sıvı Kromatografisi
WAT	: Wright Agglutinasyon Testi
WBC	: Beyaz Kan Hücresi (Lökosit)

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Brucella Türlerinin Oksidatif Metabolizması ve Üreaz Aktivitesi.....	6
Tablo 2. Brucella Türlerinin Epidemiyolojik Özellikleri.....	7
Tablo 3. Brusella'nın Antijenik Bileşenleri.....	9
Tablo 4. Brusella'nın Virulans Faktörleri.....	14
Tablo 5. Çalışma Gruplarında Cinsiyetin Dağılımı.....	46
Tablo 6. Çalışma Gruplarında Tüm Parametrelerin Karşılaştırılması.....	49
Tablo 7. AST Düzeyleri.....	50
Tablo 8. ALT Düzeyleri.....	51
Tablo 9. Kır Düzeyleri.....	52
Tablo 10. WBC Düzeyleri.....	53
Tablo 11. Hb Düzeyleri.....	54
Tablo 12. Hct Düzeyleri.....	55
Tablo 13. PLT Düzeyleri.....	56
Tablo 14. Sedimantasyon Düzeyleri.....	57
Tablo 15. CRP Düzeyleri.....	58

ÖZET

Bruselloz Hastalarında Asimetrik Dimetilarginin (ADMA) Düzeyinin

Araştırılması

Giriş ve Amaç : Asimetrik dimetilarginin (ADMA), nitrik oksit sentazın (NOS) ana endojen inhibitörüdür. NOS, konak savunmasında ve vasküler yapının sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Yüksek ADMA düzeylerinin endotel disfonksiyonu ile ilişkili olduğu ve çeşitli hastalıklarda rol aldığı gösterilmiştir. *Brucella spp.*'nin neden olduğu zoonoz bir hastalık olan bruselloz, vaskülopati olarak kendini gösterebilmektedir. Ancak Bruselloz ile ADMA arasındaki ilişki ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı bruselloz hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda ADMA düzeyinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot : Çalışmamıza 40 bruselloz hastası ve 40 sağlıklı gönüllü alındı. Bruselloz hastalarında ve sağlıklı gönüllüde serum ADMA düzeyleri İnsan ADMA ELISA kiti (Cusabio, Wuhan, China) ile üretici firma önerileri doğrultusunda araştırıldı. Katılımcıların fiziki muayeneleri yapılarak, cinsiyet, yaş ve ikamet adreslerini içeren demografik karakteristikleri ve laboratuvar test sonuçları kayıt altına alındı. Verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS 19 istatistik paket programı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi ($p < 0.05$) ve ($p < 0.01$) olarak kabul edildi.

Bulgular : Çalışmamıza bruselloz grubu ve sağlıklı kontrol olarak dahil edilen 40 olgunun 18'i (%45) erkek, 22'si (%55) kadın olup, yaş ortalamaları bruselloz grubunda $49,2 \pm 17,3$, kontrol grubunda ise $39,0 \pm 7,9$ yıldır. Serum ADMA konsantrasyonları bruselloz ve kontrol grubunda sırasıyla; $262,6 \pm 139,59$ ng/ml ve $196,52 \pm 85,25$ ng/ml olarak saptanmıştır. Bruselloz grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p=0.013$).

Sonuç : Son yıllarda yüksek ADMA seviyeleri, kardiyovasküler sistem hastalıkları, diabetes mellitus, multiple organ yetmezlikleri, kronik böbrek yetmezliği gibi pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda, Mengeloğlu ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde brusellozlu hasta grubunda kontrol grubuna göre ADMA düzeyi yüksek bulunmuştur. ADMA düzeylerindeki bu yüksekliğin, brusellozun vaskülitteki rolü konusunda yeni yorumlar yapılmasına olanak sağlayacağı ve yeni tedavi yöntemlerinin gündeme gelebileceği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Asimetrik Dimetilarginin (ADMA), Bruselloz, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

ABSTRACT

Investigation of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) Level in Brucellosis

Patients

Introduction and Aim : Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is the main endogenous inhibitor of nitric oxide synthase (NOS). NOS plays an important role in host defense and the maintenance of vascular structure. High ADMA levels have been associated with endothelial dysfunction and have been implicated in a variety of diseases. Brucellosis is a zoonotic disease caused by *Brucella* spp, which can be manifested as vasculopathy. However, there are no sufficient data regarding the relationship between ADMA and brucellosis. The aim of our study was to investigate ADMA levels in brucellosis patients and healthy control group.

Material and Method : Our study enrolled 40 healthy volunteers and 40 patients with brucellosis. Serum ADMA levels in brucellosis patients and healthy volunteers were investigated with the Human ADMA ELISA kit (Cusabio, Wuhan, China) according to the manufacturer's recommendation. Physical examinations of the participants were carried out and the demographic characteristics including the gender, age and residence addresses and the laboratory test results were recorded. IBM SPSS 19 statistical package program was used to evaluate the data. Statistical significance level ($p < 0.05$) and ($p < 0.01$) were accepted.

Results : Out of 40 patients with brucellosis included in our study, 18 (45%) men and 22 (55%) were female, and the mean age was $49,2 \pm 17,3$ years. Out of 40 healthy volunteers in the control group, 18 (45%) men and 22 (55%) were female, and the mean age was $39,0 \pm 7,9$ years. Serum ADMA concentrations in brucellosis and control group were; 262.6 ± 139.59 ng/ml and 196.52 ± 85.25 ng/ml, respectively. The brucellosis group yielded a statistically significant difference compared with control group ($p = 0.013$).

Conclusion : In recent years, elevated ADMA levels have been associated with many diseases such as cardiovascular system diseases, diabetes mellitus, multiple organ failure, chronic renal failure. In our study, similar to the study of Mengeloglu et al., the level of ADMA was higher in the patient group with brucellosis than the control group. Thus, elevation in ADMA levels will provide opportunities to establish new interpretations of the role of brucellosis in vasculitis, with new contributions to the development of novel treatment methods.

Key words: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA), Brucellosis, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Brusellozun, dünya çapında önemli sağlık ve ekonomik sorunlara yol açan zoonotik bir enfeksiyon olduğunu bildirmektedir (3). Hastalığın ülkemizde ilk görülmesinden bu yana neredeyse bir yüzyıl geçmesine rağmen, Türkiye'de hastalık eradike edilememiş ve nüfus hala büyük risk altındadır. Hemen hemen her insan bruselloz vakası hayvansal kökene sahiptir ve bu nedenle, hastalığın kontrol öncelikle veterinerlik problemidir. Diğer yandan enfekte hayvanlarla doğrudan temas dışında, hastalık gıda kaynaklıdır ve gıda alışkanlıklarının değişmesi çok zor olduğundan, gelecekteki vakaların çoğu gıda kaynaklı olacaktır. Şüphe düzeyi yüksek ve hastalığın görünümü tipik ise, insan brusellozunun tanısı zor değildir, ancak bazen lokalize, sub-akut veya kronik enfeksiyonun çeşitli ve yanıltıcı bulguları olduğunda vakalara yanlış tanı konulabilmektedir. Ayrıca, insanlarda kullanım için güvenli ve etkili bir aşı henüz mevcut değildir.

Nitrik oksit sentaz (NOS) vasküler yapının sürdürülmesinde temel rol oynar. Asimetrik dimetilarginin (ADMA), insan kanında ve idrarında saptanabilen endojen bir molekül olup NOS'un ana endojen inhibitörüdür. Endotel, damar yapısının ve tonunun korunmasında rol oynar. Nitrik oksit (NO), önemli bir endotel kaynaklı vazoaktif mediyatördür.

Yüksek ADMA düzeylerinin endotel disfonksiyonu, hiperkolesterolemi, ateroskleroz, hipertansiyon, kronik kalp yetmezliği, enflamasyon ve inme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. ADMA ve enfeksiyon hastalıkları arasındaki ilişki de araştırılmış ve bazı bakteriyel enfeksiyonlarda, HIV ve sepsiste ADMA düzeylerinin

arttığı ve HIV tedavisinde ise azaldığı gösterilmiştir. ADMA'nın, kritik hastalardaki mortalitenin prediktif bir belirteci olduğu da bildirilmiştir.

Bruselloz, multisistem tutulumu ile karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır, vaskülopati tablosu ile de karşımıza çıkabilmektedir. Özellikle endemik bölgelerde, vasküler hastalıkların ayırıcı tanısında Bruselloz düşünülmelidir.

Çalışmamızın amacı bruselloz hastalarında ve sağlıklı bireylerin serum örneklerinde ADMA düzeyleri belirlenerek; ADMA ile bruselloz arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bruselloz Tanım

Bruselloz, Brusella cinsi bakterilerin neden olduğu dünya çapında en yaygın zoonoz hastalıklardan biridir (1). İnsanların koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların etlerini ve sütlerini tüketmesiyle, hayvan atık ürünleri veya enfekte hayvanlarla doğrudan temas ve enfeksiyöz aerosollerin solunması yoluyla enfekte olurlar (2). Bruselloz, hayvanlarda ekonomik kayıplara neden olması yanında insanlara bulaştığından dolayı halk sağlığı bakımından önem taşımaktadır (3).

2.2. Tarihçe

Hastalık ilk kez 1861 yılında, Kırım Savaşında İngiliz ordusunda cerrah olan Jeffry Allen Marston tarafından Malta adasındaki İngiliz askerlerinde görülen Akdeniz ateşi klinik tablosu ile bildirilmiş (4). 1887 yılında, İngiliz Cerrah Kaptan David Bruce ve Maltalı mikrobiyolog Doktor Giuseppe Caruana-Scicluna brusellozun etkeni olan *Micrococcus melitensis*'i (daha sonra *Brucella melitensis* olarak adlandırılmış) "malta humması" nedeni ile ölen hastaların dalak pulpasından izole etmişler (5, 6).

Maltalı Tıp Doktoru Lorenzo Giuseppe Sammut (Temi Zammit) Malta ateşi, Akdeniz ateşi, Kıbrıs ateşi, napoliten ateşi, Cebelitarık ateşi, Kırım ateşi olarak anılan hastalığın aslında bruselloz olduğunu ve keçilerden insana kontamine süt yoluyla bulaştığını ortaya koymuş (7). Cerrah Kaptan M. Louis Hughes ve Kaptan James Crawford Kennedy, hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalığın venereal

bulaşma yolu da dahil olmak üzere brusellozun zoonotik bulaşı hakkında önemli detayları keşfetmiş (8).

M. melitensis'in izolasyonundan on yıl sonra, Danimarkalı bilim adamı Bernhard Bag abort olmuş büyükbaş hayvan fetuslarında *Bacillus abortus*'u (daha sonra *Brucella abortus* olarak adlandırıldı) izole etmiş (9). Traum, 1914 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki aborte domuzlardan *Brucella suis*'i izole ettiğini bildirmiştir (5).

1918'de Amerikan mikrobiyolog Alice Catherine Evans brusellozun epidemiyolojisini ortaya koymuş ve önleyici tedbir olarak süt pastörizasyonunun kurulmasına katkıda bulunmuştur (10). Daha sonra 1920'de Louis Meyer ve Wilbur Shaw, David Bruce'ü onurlandırmak amacıyla, bu patojenik bakterileri *Brucella* adı altında tek bir cinsde dahil etmeyi önermişler (11). 1994 yılında, Kaliforniyada bir yunus balığından ve İskoç sahillerindeki deniz memelisi leşlerinden *B. maris*'i izole edilmiş, 1996 yılında ise Carmichael, köpeklerde *B. canis*'i tanımlamıştır (12, 13).

2.3. Sınıflandırma

Brucella cinsi, çeşitli bitki ve hayvan patojenlerini (*Agrobacterium* ve *Rhizobiaceae*) ve ayrıca memelilerin hücre içi patojenleri (*Brucella*, *Bartonella*, *Ochrobactrum* ve *Rickettsiae*) kapsayan *Proteobacteria*'nın a2 alt sınıfında yer almaktadır (14). *Brucella*'nın resmi sınıflandırması, bir dizi bakteriyolojik ve biyokimyasal test kullanılarak yapılan fenotipik karakterizasyona dayanmaktadır (15).

Klasik isimlendirme altında, altı tür başlangıçta tercih ettikleri konak, bir dizi spesifik faj ile lizize yakınlıkları ve çeşitli karbonhidrat ve amino asit substratlarının

oksidasyon paterni bazında birbirinden ayrılmıştır. Deniz memelileri, tarla faresi, sıçanlar ve enfekte insan göğüs implantından bir kaç yeni *Brucella* türünün izole edilmesiyle birlikte şuanda bilinen tür sayısı 10'un üzerine çıkmıştır. *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, genel olarak insan hastalığı ile ilişkili üç türdür. Nadiren, *Brucella canis*'in etken olduğu insan vakaları bildirilirken, *Brucella ovis* ve *Brucella neotoma* enfeksiyonu bildirilmemiştir (16-18).

2.4. Morfolojisi ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Brucella, 0.6-1.5 µm boyunda, 0.5-0.7 µm eninde, küçük, hareketsiz, spor yapmayan, gram negatif intrasellüler kokobasil veya sıradan ortamlarda oldukça yavaş büyüyen kısa çomaklardır. Morfoloji türler arasında değişir. Özellikle zengin besiyerlerinde *B. melitensis* çoğunlukla kokkal formda görülürken, *B. abortus* ve *B. suis* basiller formda görülür. Glisin, penisilin veya hormonlarla tedavi edilen kültürlerden, patojen olmayan L-formları izole edilebilir. Aerobik olmalarına rağmen, bazı suşlar ek karbon dioksit gerekmektedir. *Brucella* suşları katalaz ve süperoksit dismutaz pozitifdir, çoğu oksidaz pozitifdir.

Özellikle *B. suis* ve *B. ovis* dahil olmak üzere suşların çoğu, nitrat redüktaz ile nitratı nitrite indirgeyebilir. Metil kırmızısı ve Voges-Proskauer testlerinde olumsuz sonuç verirler. Üreaz aktivitesi olmasına rağmen, türler ve biyovarlar arasında farklılık gösterir. Sınıflandırılma biyovarların farklı metabolik aktivitelerine, boya duyarlılığına ve monospesifik serumlarla aglütinasyona dayanır. *Brucella* suşlarının farklı karbonhidratlara ve amino asitlere oksidatif aktivitesi tanımlanması için çok önemlidir. *Brucella* türlerinin oksidatif metabolizması ve üreaz aktivitesindeki farklılıklar Tablo 1'de özetlenmiştir (19, 20).

Tablo 1. Brucella Türlerinin Oksidatif Metabolizması ve Üreaz Aktivitesi

	<i>B. melitensis</i>	<i>B. abortus</i>	<i>B. suis</i>	<i>B. neotomae</i>	<i>B. canis</i>	<i>B. ovis</i>
Amino asitler	L-Alanin	+	+	D	D	D
	L-Asparajin	+	+	D	+	-
	L-Glutamin	+	+	D	+	+
	L-Arjinin	-	-	+	-	+
	DL-Sitrulin	-	-	+	-	+
	L-Lizin	-	-	D	-	+
	DL-Ornitin	-	-	+	-	+
Karbonhidratlar	L-Arabinoz	-	+	D	+	D
	D-Galaktoz	-	+	D	+	D
	D-Riboz	-	+	+	D	+
	D-Ksiloz	-	D	-	-	-
	D-Glukoz	+	+	+	+	+
	İzoeritritol	+	+	+	+	D
Üreaz Aktivitesi	1 saat	1 saat	5 dakika	1 saat	5 dakika	7 gün

+, pozitif, -, negatif; D, değişken

2.5. Bulaşma Yolları

Bruselloz bir zoonozdur ve birkaç istisna dışında insanlarda enfeksiyon hayvansal kaynaklarla doğrudan veya dolaylı temastan kaynaklanır. Nadiren insandan insana bulaşın cinsel yolla olabileceği bildirilmiştir. Laboratuvar kaynaklı bruselloz, kazara inhalasyon, enjeksiyon, mukozal veya cilt kontaminasyonu sonucu maruz kalma ile oluşur ve önemli bir sorundur. Brusella türleri 60 °C'de 10 dakika ısıtılarak yok edilir ve etanol, izopropanol, iyodoforlar, hipoklorit gibi düşük düzey dezenfektanlara hassastır (20). İdrarda 6 gün, su veya toprakta 10 hafta, abort edilen fetüslerde 75 gün canlı kalabilirler (19). Normal depolama koşulları altında

Brusella'nın 87 gün boyunca UHT sütünde, 60 gün su ve bir haftadan daha az yoğurtta canlı kalabildiği bildirilmiştir (21). Enfekte süttten hazırlanan süt ve süt ürünleri çok sayıda canlı organizma içerir ve insanlarda büyük enfeksiyon kaynağı oluşturur (19). Brusella türlerinin, doğal konakları, ilk kez izole edildiği tarih, yaygın olarak görüldüğü ülkeler gibi epidemiyolojik özellikler Tablo 2'de verilmiştir (19).

Tablo 2. Brucella Türlerinin Epidemiyolojik Özellikleri

Tür	İlk Vaka	Doğal Konak	Yaygın görüldüğü bölge
<i>B. melitensis</i>	Bruce-1187	Koyun, keçi	Akdeniz kıyıları, Arap yarımadası, Latin Amerika
<i>B. abortus</i>	Ewans-1918	Sığır	Asya ülkeleri
<i>B. suis</i>	Traum-1914	Domuz	Latin Amerika, Güney Çin, Güney Doğu Asya
<i>B. canis</i>	Carmichael and Bruner-1968	Köpek	Arjantin, Brazilya, Çin , Çek Cumhuriyeti, Almanya, Japonya, Madagaskar, Papua Yeni Gine, Peru, Filipinler
<i>B. ovis</i>	Buddle-Boyes and Simmons Hall-1953	Koyun	Arjantin, Şili, Fransa, Almanya, Güney Afrika, USA, İspanya, Eski Sovyetler Birliği Ülkeleri
<i>B. neotomae</i>	Stoenner and Lackman-1957	Kemiriciler	İnsan vakası bildirilmemiş
<i>B. ceti</i>	Foster-2007	Deniz memelileri	Bir laboratuvar enfeksiyonu vakası
<i>B. pinnipedalis</i>	Foster-2007	Deniz memelileri	İnsan vakası bildirilmemiş
<i>B. microti</i>	Scholz-2008	Kırmızı tilkiler, tarla faresi	İnsan vakası bildirilmemiş
<i>B. inopinata</i>	Scholz-2010	Bilinmiyor	Protez meme implantı enfeksiyonu (bir insan vakası)

2.6. Antijenik Yapı ve Virulans Faktörleri

Brusella'nın antijenik yapısı, yüzey, hücre içi ve in vivo antijenlerden oluşmaktadır. Brusella türlerinin hücre duvar yapısı Enterobacteriaceae'ya benzemektedir. Kapsül ve glikokaliks yapısına sahip olmadığından hücre duvar yapısının büyük bir kısmı lipopolisakkarit (LPS) yapıdan oluşmaktadır (22,23). Bağışıklık sistemi tarafından tanınan protein yapısındaki antijenler (sitoplazmik, periplazmik ve dış membran proteinleri-OMPs) serolojik tanı amacıyla kullanılabilir. Ribozomal proteinler (örn. L7/L12) ile füzyon proteinlerine karşı humoral ve hücresele yanıt geliştiğinden dolayı Brusella aşılı için potansiyel moleküller olarak kabul edilmektedir (23,24). Brusella'nın antijenik bileşenleri Tablo 3'te özetlenmiştir (19).

Brusella, metabolik regülatörler gibi davranan çeşitli virulans faktörleri sayesinde, konakçının bağışıklık sisteminden kendini koruyabilir, farklı çevre koşullarına kolayca uyum sağlayabilir ve hücre içi çoğalabilir. Brusella türlerinin çoğu son derece virülettir ve hem doğal hem de tesadüfi konaklarda akut enfeksiyona neden olurlar. Bakteri, büyük bir inflamatuvar yanıt oluşturmadan enfekte edebilen "gizli patojen" olarak bilinmektedir. Retikuloendotelial sistemdeki makrofajlar ve plasentadaki trofoblastlar gibi konakçı hücrelerde hayatta kalma ve çoğalma yeteneği, virulansının önemli bir yönüdür. Hücrelere savunma mekanizmalarından kaçmaya yardım eden lipit sallar aracılığıyla girer. Bakterinin lipopolisakkariti ve periplazmik sikkik bir β -glukan, Brusella'nın hayatta kaldığı ve çoğaldığı bir hücre içi replikasyon oyuğunun oluşturulmasındaki ilk adımlar için

gereklidir (25, 26). Fagozomun asidifikasyonu VirB tip IV sekresyon sistemi de dahil olmak üzere birkaç virülans faktörünün ekspresyonunu indükler. VirB sisteminin, hücre içi çoğaltma oyuğu oluşturmak için konak hücre biyolojisi düzenleyen efektör proteinleri konak hücreye aktardığı düşünülmektedir. Brusella, endoplazmik retikulum çıkış bölgelerinde membran kesecikleri yakalayarak replikasyon vakuolunu oluşturur (27).

Tablo 3. Brusella'nın Antijenik Bileşenleri

Antijenik Bileşenler	Antijenler
Yüzey Antijenleri	LPS Diğer polisakkarit antijenler Dış membran proteinleri
Hücre içi antijenler	L7/L12 ribozomal protein A1, A2, A3, A4, B1, B2, C antijenleri
İn vivo antijenler	Demir düzenleyen proteinler Stres-ilişkili proteinler

2.6.1. Lipopolisakkarid (LPS)

Brusellalar, gram negatif bakterilerdir ve hücrenin etrafı iki membranla çevrilidir. Dış membran, bakteri ve konak arasındaki ilk etkileşim noktası olduğu için enfeksiyon sürecinde çok önemli rol oynar. LPS, Lipid A, kor oligosakkarid ve O-polisakkarid yan zinciri (O antijeni) olmak üzere üç temel bileşenden oluşur. Brusellalar, bir O-antijen ile modifiye edilmiş LPS içeren düz (smooth) LPS (S-LPS) suşları ve O-antijeni olmayan kaba (rough) LPS (R-LPS) olmak üzere iki fenotipe ayrılır (28,29). Birçok bakteriyel enfeksiyonda, LPS, doğal bağışıklık sistemi tarafından tanınan ve organizmaya karşı şiddetli bir bağışıklık tepkisini tetikleyen başlıca moleküldür. Brusellaların tam bir O-antijeniyle S-LPS üretme yeteneği, insanlarda virulansı için çok önemlidir. Vahşi tip (wild-type) brusella suşlarının çoğu

düz fenotipindedir. Kaba fenotipindekiler ise mutant suşlardır. Tam bir O-antijeni eksprese eden *B. melitensis*, *B. suis* ve *B. abortus*, insan enfeksiyonlarından sorumlu ana türlerdir. Doğal olarak O-antijen modifikasyonundan yoksun Brusella türleri *B. canis* ve *B. ovis*, ya düşük bir virulansa sahiptir ya da insanlarda avirulenttir. O-antijen taşımayan bu Brusella türlerinin mutantları, önemli ölçüde daha az virülandır (29-31).

Düz brusella, lipid tabakadan hücre içine giriş yaparak, lizozom lokalizasyonundan kaçıp replikatif ER bölgesine giderken, kaba brusella, makrofaja lipid tabaka dışında başka bir bölgeden girerek hızla lizozomla birleşir ve fagosite olur. Düz brusella fenotipinde, LPS'in diğer etkisi de indirekt yolla enfekte konak hücrede (makrofaj) apoptozu önlemesidir. LPS, Gram negatif bakterilerden büyüme ve ölüm sırasında salınır ve septik hastalarda endotoksik şokun nedenidir. Brusella'nın LPS'si enterobakteriyel LPS'e göre daha az toksik ve immunojeniktir. *B. abortus*'un LPS moleküllerinin inflamatuvar sitokinleri indüklemesi açısından *E. coli* LPS'ine göre 1000 kat daha az potent olduğu bildirilmiştir (29, 31, 32).

2.6.1.2. VirB Tip IV Sekresyon Sistemi (T4SS)

VirB operonu tarafından kodlanan, VirB Tip IV sekresyon sistemi (T4SS), Brusellanın en önemli virulans faktörlerinden biridir. T4SS, bakteriyel makromoleküllerin bakteri membranından enfekte hücrenin sitoplazmasına transferini sağlayan çok sayıda protein kompleksinden oluşur. Brusella, bu sistem ile konak hücreye virulans faktörlerini aktarır. Bu nedenle Brusellanın hücre içi yaşamı ve replikasyonu için gereklidir (31-33).

2.6.1.3. İki Komponentli BvrR/BvrS Sistemi

BvrR/BvrS sistemi; Brusellanın virulansı, hücreye invazyonu ve hücre içi replikasyonu ve polimiksin B gibi bakterisidal ajanlara direnç gibi fonksiyonlarının kontrolünde ve dış membran proteinlerinin (Omps) kompozisyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Brusella BvrR ve BvrS mutantlarının, hücre içi replikasyon yeteneğinin azaldığı ve daha az invaziv oldukları bildirilmiştir (32-34).

2.6.1.4. Siklik β -1,2 Glukan

Cgs geni tarafından kodlanan ve siklik β (1;2) glukan sentetaz tarafından sentezlenen siklik β -1,2 glukan, bir membran proteindir. Konak hücre membranındaki lipid tabaka üzerine etki ederek fagozom-lizozom füzyonuna engel olur. Brusella Cgs mutant suşlarında fagozom-lizozom füzyonu olduğundan replike olamazlar ve bu nedenle virulanslarını kaybederler (32, 33).

2.6.1.5. Süperoksit Dismutaz

Brusella konakçı makrofajların fagozomal bölmesi içinde bulunduğu, patojenin kronik enfeksiyonları oluşturma ve sürdürme kapasitesi, bu fagositik hücreler içinde hayatta kalma ve çoğalma yeteneğine bağlıdır (35). Konak makrofajlar tarafından üretilen reaktif oksijen ara ürünleri, Brusella'nın hücre içi replikasyonunu sınırlamak için kullanılan ana mekanizmalardan biridir (36).

Süperoksit (O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH) gibi reaktif oksijen ara ürünleri makro moleküler yapılara zarar verdikleri için Brusella'ya zararlıdır. Bakteriler genellikle reaktif oksijen ara ürünleri tarafından hasara karşı iki savunma hattına sahiptir. İlk savunma hattı, bu reaktif oksijen ara ürünlerini

doğrudan detoksize eden katalaz, süperoksit dismutaz ve peroksidaz gibi enzimleri içerir. İkinci savunma hattı, hücre sel bileşenlerde oksidatif hasarı onaran enzimleri içerir. Bu enzimler arasında DNA onarım enzimlerinden bazıları bulunur (37).

Süperoksit dismutazlar, aktif bölgelerinde demir, manganez veya bakır ve çinko içeren bir metaloenzimler ailesidir. Bu enzimler, süperoksidin (O_2) oksijene ve hidrojen peroksitine (H_2O_2) değişimini katalize eder (32, 36). Fe-Mn içeren sitoplazmik süperoksit dismutaz, aerobik metabolizma sonucunda oluşan endojen süperoksidi detoksifiye ederken, Cu-Zn içeren süperoksit dismutaz (sodC) ise katalaz ile birlikte periplazmik bölgede konak makrofajlarında oluşan reaktif oksijen elementlerinden Brusella'yı korur (36, 38).

2.6.1.6. Katalaz

Katalazın hücrelerin oksidatif strese korunmasında önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Patojenik bakteriler, konakçı tarafından saldırıya karşı bir savunma aracı olarak hidrojen peroksitin su ve oksijen halinde ayrışmasını katalize etmek için bu enzimi kullanırlar. Brusella'daki bilinen tek katalaz aktivitesi periplazmik alanda sınırlıdır ve periplazmik yerleşiminden dolayı Cu-Zn süperoksit dismutaz ve katalazın bakterileri dış kaynaklı oksidatif bileşiklerden korumada dahil olduğu düşünülmektedir. Brusella katalaz mutantının hidrojen peroksitine karşı artan duyarlılık gösterdiği bildirilmektedir (32, 39).

2.6.1.7. Üreaz

Üreaz, üre hidrolizini katalize eden amonyak ve karbondioksit veren, çok uniteli nikel içeren bir enzimdir. Brusella cinsine (*B. ovis* hariç) ait bakteriler genellikle karakteristik güçlü üreaz aktivitesi gösterirler. Üreazın, insan bruselloz

enfeksiyonunun ana yolu olan oral yoldan bakteriler alındığında, mideden geçişi sırasında *B. abortus* ve *B. suis* suşlarını koruduğu bildirilmiştir (40).

2.6.1.8. Baz Ekzisyon Onarımı

XthA geni tarafından kodlanan Ekzonükleaz III, DNA'nın baz ekzisyon onarımında bakteriyel DNA'dan oksidatif lezyonları gidererek önemli bir rol oynar. *Brusella* spp.'nin genom dizilerinde iki özdeş olmayan xthA (XthA-1 ve XthA-2) geni olduğu gösterilmiştir. XthA-1 gen ürününün, *B. abortus*'un in vitro olarak oksidatif hasardan korunmasına katıldığı bildirilmiştir (37, 38).

2.6.1.9. Diğer Virulans Faktörleri

Ayrıca *Brusella*'yı reaktif oksijen ürünlerinin toksik etkisinden koruyan sitokrom oksidaz (cydB), alkil hidroperoksit redüktaz (ahpC/ahpD) ve nitrik oksit detoksifikasyonunu sağlayan nitrik oksitredüktaz (norD) gibi virülans faktörleri de bulunmaktadır (32, 41). *Brusella*'nın virulans faktörleri ve fonksiyonları Tablo 4'te özetlenmiştir (19).

Tablo 4. Brusella'nın Virulans Faktörleri

Virulans Faktör	Fonksiyonu
LPS'i de içeren yüzey antijenleri	Serum ve fagositlerin bakterisidal aktivitesinin inhibisyonu Polimorfonükleer fagositlerde oksidatif patlamanın baskılanması
Bakır-çinko süperoksit dismutaz (Cu-Zn SOD)	Hücre içi canlı kalma
VirB Tip IV Sekresyon Sistemi (T4SS)	Virülans faktörlerinin hücre içi yer değişimi
Siklik β-1,2 Glukan	Hücre içi trafiğin düzenlenmesi
Katalaz	Oksidatif stresten koruma
Baz ekzisyon onarımı	Bakteriyel DNA'dan oksidatif lezyonların uzaklaştırılması
Üreaz	Asidik ortamda canlı kalma Mideden geçerken bakteriyi koruma
İki Komponentli BvrR/BvrS Sistemi	İnvazyon ve hücre içi canlı kalma
Alkil hidroperoksit redüktaz	Oksijen radikalleri hasarına karşı koruma
Sitokrom oksidaz	Hücre içi çoğalma
Nitrik oksit redüktaz	Düşük-oksijen konsantrasyonunda üreme
Brusella virulans faktör A	Hücre içi oyuğun oluşturulması

2.7. Epidemiyoloji

Bruselloz, dünya çapında en yaygın zoonotik enfeksiyondur ve 56 ülkede bildirilmektedir (42). Ayrıca, yılda 500.000'den fazla yeni bruselloz vakası bildirilmektedir (43). Bununla birlikte, dünya çapında endemik bölgelerde insan brusellozunun yıllık insidans hızı, 100.000 nüfus başına <0.01 ila >200 vaka arasında değişmektedir. 2005 yılında 100.000 nüfus başına yıllık insidans oranı: Suriye'de 160.30, Moğolistan'da 60.60, Türkiye'de 26.20 ve Suudi Arabistan'da 21.40 olarak bildirilmiştir (44). Çeşitli sosyoekonomik ve politik sebeplere küreselleşme çağında uluslararası seyahat evriminin de eklenmesiyle, insan brusellozunun epidemiyolojisi son 25 yılda önemli ölçüde değişmiştir. Fransa ve Latin Amerika gibi endemik olarak kabul edilen bazı yerlerde, hastalığın kontrolü sağlanmıştır. Portekiz, İspanya, Tunus ve Ürdün gibi bazı ülkelerde, bruselloz insidansı önemli ölçüde azalmıştır. Aksine, Güney Avrupa ve Afrika'daki birçok bölgeye ek olarak, Türkiye, Cezayir gibi ülkelerde insidans artmaktadır. Kabul edilen kontrol önlemlerine rağmen, hastalık hem Avrupa'da hem de ABD'de değişen oranlarda hala mevcuttur (43). Akdeniz ve orta doğu bölgeleri, zoonozların tarihi gelişimi ve yoğunlaşması için en önemli alanlar olarak kabul edilmektedir. Ortadoğu'da yirmi beş ülkede hastalık kayıt altına alınmakta ve bu ülkelerin 6'sından yılda 90.000 vaka bildirilmektedir (42). Sosyoekonomik değişiklikler, bazı akdeniz ve Ortadoğu ülkelerindeki savaşlar ve politik çalkantılar, bazı ülkelerde kontrol programlarının yetersiz olması, insanların uluslararası seyahat kolaylığı ve açık sınırlar boyunca kontrolsüz hayvan taşımacılığı, bruselloz insidansındaki artışın nedenleri olarak bildirilmektedir (45, 46).

Türkiye jeopolitik konumu nedeniyle, kuzeybatıda Yunanistan ve Bulgaristan'la, kuzeydoğuda Ermenistan, Azerbaycan ve Gürcistan'la, güneydoğuda ise İran, Irak ve Suriye ile sınır komşuluğu yapmaktadır (47). Türkiye'nin coğrafi durumu, başta doğu ve güneydoğu komşuları olmak üzere bulaşıcı hastalıkların yayılması için her zaman bir risk faktörüdür (48). Türkiye'yi çevreleyen tüm ülkelerde bruselloz endemiktir. İnsan brusellozu, milyonda 238,6 vaka ile İran'da ciddi bir halk sağlığı sorunudur (49). Irak'ta insan brusellozu, milyonda 278.4 vaka olarak bildirilirken, Suriye ise milyonda 1603.4 vaka ile dünyanın en yüksek insan brusellozu insidansına sahiptir. Türkiye sınırları boyunca yasadışı hayvan hareketi, 2001 yılında 3285 sayılı Kanunun ilgili maddelerinde yapılan değişikliklerle son yıllarda en aza indirilmiştir. Ancak, bölgedeki tüm ülkeler arasındaki brusellozun eradikasyonu ve önlenmesi için işbirliğine ihtiyaç vardır (47, 50).

1980'li yıllara kadar, Türkiye'de insan bruselloz vakaları nadiren kaydedilmiş. Örneğin, 1930 ve 1980 yılları arasında, 2000'den daha az vaka kaydedilmiştir. 1980-2005 döneminde, toplam 189 226 insan bruselloz vakası resmi olarak rapor edilmiştir; bunların yaklaşık 90 000'i, 2000 ve 2005 yılları arasında kaydedilmiştir (yılda yaklaşık 15.000 vaka). Ancak bu sayılar, gerçek sayıları yansıtmamaktadır; kayıtlı olanların kayıtlı olmayanlara oranı tahminen yaklaşık 1:30'dur (47, 51).

Türkiye'de ilk laboratuvar tanıli bruselloz vakası 1915 yılında bildirilmiştir. 1915'ten 1963'e kadar incelendiğinde, 48 yılda 11 621 kişinin aglütinasyon testi ile bruselloz açısından test edildiği ve bunların yaklaşık % 9'unun pozitif olduğu bulunmuştur (52). 1937 yılında, Çelik 1157 bireyde bruselloz varlığını araştırmış ve % 2.6 oranında pozitiflik saptamıştır (53). 1943' te Golem 1154 bireyde bruselloz

varlığını araştırmış ve % 5.9' unda pozitiflik bulmuştur (54). 1957 yılında Akyay ve Gürsel, Eskişehir'de 2424 kişide ve 203 mezbaha çalışanında bruselloz varlığını araştırmış ve sırasıyla % 4.3 ve % 23.1 oranında pozitiflik saptamıştır (55).

Türkiye'nin farklı bölgelerinden geniş ölçekli seroepidemiyojik araştırmalar yapılmıştır. 1990 yılında etin ve ark.'ları, Türkiye genelinde büyük şehirlerde (İstanbul, Ankara, Konya, Antalya, Diyarbakır, İzmir, Sivas, Erzurum ve Bursa) 58767 sağlıklı görünümlü birey ve 3734 mezbaha çalışanına ait örnekte sırasıyla % 1.8 ve % 6 oranında bruselloz pozitifliği saptamıştır (56).

Bir diğer çalışmada, Köse ve ark.'ları, Türkiye'nin farklı illerindeki kırsal ve kentsel nüfustaki insanlarda bruselloz üzerine seroepidemiyojik bir çalışma yürütmüşler. Rose Bengal ve standart aglütinasyon testleri kullanarak 832 sağlıklı yetişkini test etmişler ve % 3 oranında bir seroprevalans saptamışlar. Türkiye'nin güneydoğu illerinde seroprevalans batıdaki illere göre daha düşük bulunmuş ve yazarlar bu düşüklüğün nedenini araştırmadan önceki yıl çiftlik hayvanlarının aşılanmasına bağlamış (57). 1991-2005 yılları arasında Türkiye'nin diğer illerinde Rose Bengal testi kullanılarak yapılan çalışmada, seroprevalans oranları Afyon (% 15.7), Malatya (% 2.9), Denizli (% 6.5), Kayseri (% 3.4), Bolu (% 1.3) ve Van'da (% 26.7) olarak bulunmuştur (47).

2.8. Klinik Belirti ve Bulgular

Bruselloz, çeşitli organları veya vücut sistemlerini etkileyen sistemik bir hastalıktır. Semptomlar ateş, terleme, halsizlik, baş ağrısı, sırt ağrısı, iştahsızlık gibi nonspesifiktir ve aniden veya bir haftalık bir sürede gelişebilir. Herhangi bir organın tutulumu sıklıkla lokalize hastalık olarak adlandırılır ve akut brusellozun bir

komplikasyonu olarak veya kronik brusellozun bir görünümü olarak ortaya çıkabilir (58, 59).

İnkübasyon süresi organizmanın virülansına, giriş yoluna ve enfeksiyöz doza göre değişmektedir. Semptomların süresine göre, bruselloz vakaları akut (sekiz haftadan az), subakut (sekizden 52 haftaya kadar) ve kronik (52 haftadan fazla) olarak sınıflandırılır (59).

Brusellozun klinik spektrumu çok hafif, ateşli hastalıktan ciddi multisistem tutulumuna kadar uzanır. Hastalar sabahları kendilerini iyi hissederken, öğleden sonra üşüme titreme ile yükselmeye başlayan ateş gece yarısından sonra bol terleme ile düşer. 7-10 gün içinde giderek yükselen ateş, yükseldiği gibi düşerek normale döner. 3-5 günlük ateşsiz dönemi takiben ateş başlangıçta olduğu gibi tekrar yükselir. Bruselloz için tipik olan bu tablo ondulan ateş olarak adlandırılır (59, 60).

2.8.1. Akut Bruselloz

Hastalık, influenza benzeri hafif bir tablodan çok ağır seyirli septisemik bir tabloya kadar değişik bir spektrumda görülebilir. Akut bruselloz intermittan veya remittan ateş ile karakterizedir. Halsizlik, baş ağrısı, kas ağrısı, eklem ağrısı, kilo kaybı, kramp, kabızlık, anoreksi ve sırt ağrısı, akut brusellozun diğer belirtileridir. Akut bruselloz, *Brucella melitensis* ile enfeksiyonda diğer türlere göre daha sık görülür (59, 60).

2.8.2. Subakut Bruselloz

Subakut bruselloz, endemik bölgelerde tarif edilen, ondulan ateş ile karakterize tipik ve klasik formdur. Semptomlar hafiftir, halsizlik, baş ağrısı ve kas

ağrısı görülür. Ayrıca, epididimit, orşit gibi lokalize enfeksiyonlar ve osteoartiküler komplikasyonlar daha sık görülür. Uygun olmayan antibiyotik tedavisi alan hastalarda ve tedavisi tamamlanmamış hastalarda gözlenir. Brusella kan kültürlerinin % 40-70'inden izole edilir (59, 60).

2.8.3. Kronik Bruselloz

Kronik bruselloz genellikle kemik, eklem, böbrek, karaciğer veya dalak gibi derin dokularda enfeksiyon odağının elimine edilememesi sebebiyle oluşur. Kronik brusellozda görülen yaygın semptomlar zayıflık, yorgunluk, duygusal kararsızlık, depresyon, baş ağrısı ve uykusuzluktur. Kronik bruselloz, özellikle yaşlılarda görülen kronik yorgunluk sendromuna benzer özelliklere sahiptir. Kan kültürü pozitifliği % 10-20 oranındadır (59, 60).

2.8.4. Subklinik veya Asemptomatik Enfeksiyon

Subklinik veya asemptomatik enfeksiyon çiftçiler, mezbaha çalışanları ve veteriner hekimlerde bildirilmiştir. Hastalığın klinik belirti ve bulguları görülmez. Tanı etkenin izole edilmesi ve pozitif serolojik testlerle konur (59, 60).

2.8.5. Relaps

Tedavi tamamlandıktan sonra belirti ve bulguların tekrarlanması ve yeni kan kültür pozitifliği relaps olarak tanımlanır. Relaps genellikle tedavi bittikten 3 ila 6 ay sonra ortaya çıkar ve genellikle antibiyotik direncinden kaynaklanmaz (59, 60).

2.8.6. Multiorgan Sistem Tutulumu

Aktif brusellozlu hastalarda herhangi bir bölge veya organ tutulumu klinik tabloya hakimse fokal bruselloz veya komplikasyon olarak tanımlanmaktadır. Fokal tutulum akut hastalığın bir komplikasyonu olarak görülebileceği gibi kronik brusellozun klinik tablosu olarak da ortaya çıkabilir (60).

2.8.6.1. Osteoartikuler Tutulum

Osteoartiküler tutulum, brusellozun en yaygın fokal komplikasyonudur. Çoğu seride osteoartiküler tutulum insidansı % 10-85'dir (58, 61). Genç hastalarda sakroiliak eklemlerde en çok tutulum olurken, yaşlı hastalarda spondilit ve periferik artrit daha çok görülmektedir (58, 62). Artrit ve sakroileit genellikle akut formda sıkça görülür ve standart tedaviye yanıt verir. Öte yandan, spinal bruselloz genellikle subakut ve kronik bruselloz tabloda ortaya çıkar ve tedavisi daha zordur (63). En sık lomber vertebralarda (L4-L5) vertebralarda görülürken, torakal ve servikal vertebraları nadiren tutabilir (58, 61, 64). Geçmişte paravertebral ve / veya epidural apse oluşumu nadiren bildirilirken, son yıllarda, hassas tanı teknikleri (bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme-MRI) ile daha çok tanı konmaktadır (61, 63, 65). Brusellar artritte, herhangi bir eklem etkilenebilir ancak, büyük ağırlık taşıyan eklemler (kalça ve dizler) en çok etkilenen eklemlerdir. Tenosinovit ve bursite de neden olduğu bildirilmiştir (59).

Osteoartiküler bruselloz hastalarının şikayetleri sinsisi ve nonspesifik olabilir. En sık görülen semptomlar eklem ağrısı, eklem şişliği, eklem derisinde kızarıklık, ateş, terleme, halsizlik, bel ağrısı ve anoreksiyadır. Spinal brusellozda kord ve nöral basıya bağlı paraparezi, parestezi veya refleks değişiklikleri olabilir (58, 64, 66).

2.8.6.2. Nörolojik Tutulum

Nörobruselloz, brusellozun nadir fakat ciddi bir komplikasyonudur. Brusellozlu olguların % 5'inden azında sinir sistemi tutulumu saptanmıştır (59). Bununla birlikte, nörobruselloz insidansının, çalışma popülasyonlarının farklı örneklem büyüklüğünden ve merkezlerin ve ülkelerin epidemiyolojik özelliklerinden etkilendiği bildirilmektedir (67). Nörobrusellozun klinik görünümü spesifik değildir. Ense sertliği vakaların % 50'sinden daha azında ortaya çıkmaktadır (63, 67). Nörobrusellozlu 187 olgu analiz edildiğinde baş ağrısı, ateş, terleme, kilo kaybı ve sırt ağrısının baskın semptomlar olduğu bildirilmiştir (68). Anti-depresif veya antipsikotik tedavi olmaksızın antibakteriyel tedavi ile düzelen nörobrusellozlu hastalarda çeşitli psikiyatrik belirtiler ve özellikle depresyon bildirilmiştir (69).

Nörobrusellozun tanısı, herhangi bir nörolojik hastalık ile açıklanmayan nörolojik sendromun semptomlarına veya klinik bulgularına dayanır. Nörobruselloz tanısı, beyin omurilik sıvısında (BOS) Brusella'nın izolasyonu veya Brusella antikorlarının BOS'ta gösterilmesi (herhangi bir titrede), BOS'ta pleositoz gibi herhangi bir anormalliğin varlığı ile konmaktadır (68, 70). BOS kültüründen Brusellanın izolasyonu teşhisi için altın standarttır. Ancak, farklı vaka serilerindeki hastalarda BOS kültürlerinin % 15-30'unda pozitiflik saptanmıştır (67, 68). Bruselloz, menenjit, meningoensefalit, nörit, beyin absesine neden olabilir ve hastalarda sensorinöral işitme kaybı ve vertigo gibi nonspesifik semptomlarla başvurabilir (68).

2.8.6.3. Kardiyovasküler Tutulum

Brusellozun kardiyovasküler komplikasyonları (endokardit, miyokardit ve perikardit) nadirdir (59). Endokardit, hastalığın en sık görülen kardiyovasküler tutulumu ve aynı zamanda bruselloz ilişkili ölümlerin sebebidir (59, 71). Brusella enfeksiyonu sonrası gelişen endokardit oranları (% 0.4-11) değişmektedir (72).

Genellikle ateş, kalpte üfürüm, karaciğer ve dalak büyümesi gözlenen klinik semptomlardır. *B. melitensis* ve *B. abortus* en sık izole edilen türlerdir. Enfeksiyon hem doğal hem de protez kapaklarda oluşabilir. Hastalık genellikle kalbin sol tarafını etkiler ve ağırlıklı olarak aortik kapak etkilenir. Mitral tutulumu olan hastalarda, romatoid bozukluklarda eşlik etmektedir. Brusella endokarditi, doğal kapaklarda dejenerasyona yol açar ve semptomların başlamasından 3 ila 11 ay sonra kalp yetmezliğine neden olur. Cerrahi tedavi yüksek oranda medikal tedavi başarısızlığı nedeniyle brusella endokarditinin tedavisinde endikedir (71, 72).

2.8.6.4. Gastrointestinal Tutulum

Karaciğer retiküloendotelial sistemin en büyük organı olduğundan sıklıkla etkilenir. Karaciğerde büyüme, brusellozun en sık görülen gastrointestinal belirtisidir, vakaların % 32-63'ünde bildirilmiştir. Bruselloza bağlı hepatit, granülom veya apse oluşumu nadirdir (59, 73). Splenomegali olguların % 29.6-% 56'sında bildirilmektedir. Hastalık dalakta granülomlara veya apse oluşumuna neden olabilmektedir (74). Anoreksiya, kusma, ishal, kabızlık brusellozun diğer nonspesifik gastrointestinal bulgularıdır (59, 64).

2.8.6.5. Genitüriner Tutulum

Epididimoorşit, prostatit ve seminal vezikülit, bruselloz ile ilişkili genitüriner enfeksiyonlardır. Brusella epididimoorşiti (BEO), testiküler apse, atrofi ve infertilite gibi ciddi komplikasyonları olan en yaygın klinik durumdur. Hastalık insidansı farklı ülkelerden% 1.6 ila % 20 arasında rapor edilmektedir. BEO, genç hastalarda skrotal şişlik ve ağrı ile karakterizedir. Hastalık genellikle akut başlangıçlı olarak ortaya çıkar, ancak özellikle endemik bölgelerde sistemik semptomlar olmadan ortaya çıkabilir (75, 76). Bruselloza bağlı epididimoorşit, kabakulak ve torsiyon ve tümörler gibi cerrahi problemlerden ayrılmalıdır. Uygun antimikrobiyal tedaviye rağmen, tedavi başarısızlığı olan hastalara orşiektomi yapılır (76). Prostatit ve seminal vesikülitli hastalarda genellikle dizüri, titreme, ateş, perianal ve pelvik rahatsızlık gibi uzun süreli semptomlar görülür ve Brusella prostatik sekresyon kültüründen izole edilebilir (59).

2.8.6.6. Solunum Sistemi Tutulumu

Brusellozda solunum sistemi tutulumu nadirdir (<% 5), ancak akut bronşit, bronkopnömoni, plevral efüzyon, ampiyem ve akciğer apsisi de dahil olmak üzere çeşitli pulmoner bulgular bildirilmiştir. En sık bildirilen semptomlar kuru veya prodüktif öksürük, dispne, göğüs ağrısı ve grip benzeri semptomlardır ve % 15-30 oranında görülür (58, 59). *Brucella* spp. gram boyamada nadiren görülebilir veya balgamdan izole edilebilir (77).

2.8.6.7. Cilt Tutulumu

Brusella'nın cilt tutulumu genellikle mesleki maruziyeti olan hastalarda bildirilmiştir. Brusellozun kutanöz bulguları nonspesifiktir ve nadiren ortaya

çıkmaktadır (<% 5). Makülopapüler döküntüler, purpura ve peteşiler, eritema nodozum, ülserler ve apse, kutanöz brusellozda bildirilen semptomlarıdır. Apseler ve ülseratif lezyonlar, *B. suis* enfeksiyonunda daha sık rapor edilmiştir (78).

2.8.6.8. Göz Tutulumu

Brusellozda göz tutulumu % 4- % 26 oranında bildirmiştir. Üveit, konjunktivit, koroidit, keratit, papilödem hastalığın akut veya kronik evresinde görülebilmektedir. Direkt invazyon, endokarditten septik uveal emboli ve immün komplekslerin oluşumu ilişkili mekanizmalardır. Üveit (ön, arka veya panüveit) en sık görülen formdur (64, 79).

2.9. Tanı

Brusellozun tanısı, öykü, klinik muayene, rutin hematolojik ve biyokimyasal laboratuvar testleri, radyolojik tetkikler ve en önemlisi, Brusella'ya özgü kültür, serolojik ve moleküler testler de dahil olmak üzere çeşitli yaklaşımların kombinasyonunu gerektirmektedir.

Bruselloz tanısında kullanılan rutin hematolojik testler, tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı ve karaciğer fonksiyon testleridir. Genel olarak, bu testlerdeki bulgular insan brusellozu tanısında spesifik değildir, değişkendir ve diğer hastalıklarla örtüşebilir. İnsan bruselloz tanısının temel dayanağı spesifik laboratuvar testleridir.

2.9.1. Kültür

Kültür, brusellozun laboratuvar tanısında altın standart olarak kabul edilir (80). Brusella, en yaygın laboratuvar kaynaklı enfeksiyon etkenidir, bu nedenle Risk

Grubu 3'de yer almaktadır. Biyogüvenlik Düzeyi 3 laboratuvar koşullarında çalışılmalıdır. BGD-3 laboratuvarların belirli yerlerde bulunması nedeniyle bruselloz şüpheli örneklerle yapılacak olan tüm işlemler biyogüvenlik kabini içerisinde gerçekleştirilmelidir (81).

Bakterinin izolasyon oranı; alınan klinik örneğe ve miktarına, kullanılan kültür yöntemine ve hastalığın evresine bağlı olarak değişmektedir (80, 81). Örneğin, bifazik Ruiz-Castaneda şişeleri kullanan geleneksel yöntem, uzun bir inkübasyon süresi (6 hafta) gerektirir ve verimi değişkendir (akut vakalarda % 40-90, kronik, fokal ve komplike vakalarda % 5-20 oranında) (80).

Bactec (BD Diagnostics, Sparks, MD, ABD) ve BacTAlert (bioMerieux, Durham, NC, ABD) gibi otomatik olarak sürekli izlenen kan kültürü sistemleri, geleneksel kültür yönteminden daha yüksek verim sağlar ve bakteriyel büyümenin saptanmasını hızlandırır. Bu sistemler ile kan kültürlerinde genellikle ilk 4 günde *Brucella* spp. saptanmaktadır. Otomatize kan kültür sistemlerinde, 10-14 günden daha uzun süre inkübasyona gerek yoktur. Örneklerle negatif sonuç verilmeden önce mutlaka boyama ve pasajların yapılması önerilmektedir. Kemik iliği kültürleri, periferik kan kültürlerine kıyasla % 15-20 daha yüksek verimle sonuçlanır. Nadiren, brusellozlu bazı hastalar pozitif kan kültürüne sahip olmalarına rağmen seroloji negatif olabilmektedir (80, 82, 83).

Brucella türleri, kan, serum veya doku ekstratlarının eklenmesiyle zenginleştirilmiş ortamlarda büyüebilir, örneğin; % 5 koyun kanı içeren kanlı agar veya çikolata agar gibi. *Brucella* spp. kolonileri, klinik örneklerden kanlı agar ve çikolata agarda, 37 °C 'de 24-48 saat aerobik veya % 5-10 CO₂ ortamda izole edilir.

Kanlı agar'da 24 saatte "toz benzeri" koloni oluştururken, 48. saatte S-tipi non-hemolitik ve pigmentsiz koloniler gelişir (80, 83).

Birincil izolasyon için, zenginleştirme faktörlerine ek olarak, iso eritritol, pantotenat, tiamin, nikotinamid, magnezyum, demir gibi diğer bazı büyüme faktörleri de gerekli olabilir (20).

Farrell, Brodi ve antibiyotik eklenmiş SDA besiyeri, floralı örneklerden *Brusella*'nın izolasyonu amacıyla kullanılan seçici besiyerleridir. Farrell'in besiyeri polimiksin B sülfat, basitrasin, nistatin, natamisin, vankomisin içerir ve en yaygın kullanılan seçici besiyeridir. Seçici besiyerleri florayı baskılayarak *Brusella*'nın üremesine olanak sağlamasına rağmen, Farrell besiyerindeki basitrasin ve nalidiksik asitin *B. abortus* biovar 2, 3, 4 ve bazı *B. melitensis* suşları üzerinde inhibisyona yola açabileceği bildirilmiştir. Seçici besiyerlerinin hazırlanmasının zor olması nedeniyle, son yıllarda gonokok izolasyonu amacıyla kullanılan, Thayer Martin ve Martin-Lewis besiyerlerinin modifikasyonlarının kullanımı önerilmektedir (81, 83).

Brusella izolatlarının cins düzeyinde ön tanısı, gram ve stamp boyama, oksidaz, katalaz (tüpte katalaz), üreaz testi ve *Brusella* spesifik antiserumla (*Brucella* polivalan (A+M) antiserum) lam aglutinasyon testi ile yapılmaktadır (81, 83). Gram Negatif Bakteri tanımlanması amacıyla kullanılan ticari kitler *Brucella* türlerinin tanımlanmasında önerilmemektedir. Bakteri API20NE® (bioMérieux) sistemi ile *Moraxella* veya *Ochrobactrum* olarak, Dade Microscan sisteminde ise *Haemophilus influenza* olarak yanlış tanımlanabilmektedir (83). Vitek-2 otomatize sistemlerindeki Gram negatif kartlar ve oksidaz test sonuçlarına dayanarak kısa sürede (6-10.25 saatte) *B. melitensis*'in tanımlandığı bildirilmiştir (84).

Üreaz aktivitesi, farklı boya (bazik fuksin, tiyonin ve safranin) konsantrasyonlarında üreme, CO₂ gereksinimi, H₂S üretimi, faj tiplendirme ve monospesifi antiserumlarla (A ve M) agglütinasyon gibi parametrelere bakılarak alt türlere ve biovarlara ayrılabilir. Ancak son yıllarda, tiplendirme/alt tiplendirme amacıyla daha güvenli ve tekrarlanabilir moleküler yöntemler kullanılmaktadır (80, 83).

2.9.2. Serolojik Testler

Serolojik testler, brusellozun laboratuvar tanısında en sık kullanılan testlerdir. Brusellozun tanısı amacıyla çok çeşitli in-house ve ticari serolojik testler kullanılmaktadır. Standart bir referans antijeni olmadığından, kullanılan antijenin kaynağının (ticari veya başka) belirtilmesi önemlidir. Ayrıca, *B. canis* ve *B. ovis* enfeksiyonlarına karşı antikorların saptanması amacıyla major dış membran protein antijenlerinin kullanılması gerekmektedir. Çünkü bu türler kaba (rough) koloni formunda bulunurlar ve diğer *Brucella* türleri ile çarpaz reaksiyon gösteren antijenleri paylaşmazlar (80, 85).

2.9.2.1. Rose Bengal Lam Agglütinasyon Testi

Test, Rose Bengal boyası ile boyanmış ve spesifik olmayan aglütinini inhibe etmek amacıyla pH 3.65'te tamponlanan *B. abortus* hücrelerinin süspansiyonu ile serumun agglütinasyon reaksiyonuna dayanmaktadır (80). *B. abortus* S 99 veya S 1119-3 suşlarından hazırlanan antijenler kullanılmaktadır. Antijen, lam agglütinasyon testinde en güvenilir antijen olmasına rağmen, daha çok serum agglütinasyon testleri için kullanılan diğer ticari olarak temin edilebilir boyalı antijenler de lam agglütinasyon için kullanılabilir, ancak antijenin kaynağına bağlı olarak değişen

sonuçlar gözlemlenebilmektedir. Testin uygulanması basit ve hızlıdır (5-10 dakika içinde) ve akut brusellozu olan hastaların tanısında nispeten iyi sonuçlara sahiptir, ancak kronik ve komplike vakalarda yüksek oranda yanlış negatif sonuç verebilmektedir (80, 86, 87).

2.9.2.2. Serum Aglutinasyon Testi (SAT)

Bir asırdan fazla bir süre önce 1897 yılında, Smith ve Wright tarafından geliştirilmiş SAT, günümüzde halen insan bruselloz tanısında en sık kullanılan ve referans olarak kabul edilen yöntemdir. Serum agglütinasyon testi, Wright agglütinasyon testi (WAT), tp agglütinasyon testi (TAT) ve Standart tp agglütinasyon testi (STA) gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Test bilinen standart hacim ve konsantrasyonda Brusella hücre süspansiyonu konsantrasyonu ile 1:20 ile 1: 1280 arasında değişen iki katına çıkan standart hacimde serum dilüsyonlarının tüplerde reaksiyona sokulmasıyla gerçekleştirilir. Süspansiyon karışımı, su banyosunda 37  C'de 24 saat inkübe edilir ve tüplerin altındaki agglütinasyon grsel olarak incelenir. % 50'den fazla agglütinasyon gösteren en yüksek serum dilüsyonu agglütinasyon titresi olarak kabul edilir (80, 81).

Klinik bulguların ve temas öyküsü varlığından bir serum örneğindeki SAT titresi $\geq 1:160$ ise akut/aktif brusellozla uyumlu olarak kabul edilir. 1:80 titre şüpheli olarak kabul edilirken, endemik bölgelerde $\geq 1:320$ titrelerin pozitif kabul edilmesi özgüllüğü artırmaktadır (81, 85, 87, 88). Erken dönemde SAT titrelerinin çok düşük olması nedeniyle en az iki hafta ara ile alınan çift serum rneğinde SAT titresinin ≥ 4 kat artışı (serokonversiyon) kesin tanı kriteridir (80, 81, 87).

2.9.2.3. İndirekt Coombs (Anti-insan globulin) Testi

Coombs testi, brusellozun seyri sırasında açığa çıkan blokan Ig/IgA antikorlarının, anti-human immunoglobulin kullanılarak, aglütinasyon reaksiyonuna katılmasını sağlayan bir testtir (80, 87).

Serum dilüsyonları ve tüm *B. abortus* veya *B. melitensis* hücreleri (antijenler olarak) içeren 24 saat inkübasyondan sonra negatif olan SAT tüpleri santrifüje tabi tutulur, süpernatant boşaltılır ve hücre pelleti yeniden suspanse edilir ve fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile yıkanır, üç kez tekrarlanır. Standart anti-human globulin reaktifi (anti-IgG), her bir test tüpüne eklenir. Pelet yeniden suspanse edilir ve 24 saat 37 °C 'de su banyosunda inkübe edilir. Aglütinasyon, SAT testinde olduğu gibi görsel olarak belirlenir (80).

Test, SAT sonuçlarının negatif olduğu veya düşük antikor titrelerinin saptandığı şüpheli durumlarda yararlıdır. Özellikle kronik brusellozda, IgG ve Ig A yüksek düzeyde uzun süre kalabilmesi ve blokan antikorların daha ileri dönemlerde açığa çıkması nedeniyle, kronik bruselloz şüphesinde SAT'a ek olarak CT veya ELISA testi yapılması gereklidir. CT, komplike ve kronik olguların değerlendirilmesinde yararlıdır ancak ELISA ile karşılaştırıldığında kronik olguların yaklaşık % 7'sinde negatif olarak bulunmuştur (80, 85, 89).

2.9.2.4. Brucellacapt (Vircell, Granada, Spain)

Brucellacapt testi, 1997 yılında geliştirilmiştir. Tek adımda Brusella aglütinini ve aglütinasyon vermeyen IgG ve IgA antikorlarını saptayabilen immun yakalama tekniğine dayanır (85, 90, 91).

Brucellacapt testinde; her bir serum dilusyonu, anti-insan immunoglobulin (IgG, IgM ve IgA) ile kaplı mikropleyte eklenir, daha sonra formaldehit ile öldürülmüş, renkli *B. melitensis* tüm hücre antijen süspansiyonu eklenir. Plaka 18-24 saat 37 °C 'de inkübe edilir. Test pozitif ise kuyucuğun dibinde aglütinasyon gözlenirken, negatif ise kuyucukta pellet gözlenecektir (80).

Brucellacapt testinin tanısal titre/sınır değeri $\geq 1:320-640$ titredir. SAT ile pozitif çıkan olgular; Brucellacapt testinde hem aglütinasyonlar hem de blokan antikorların saptandığından dolayı SAT ile pozitif çıkan olgular daha yüksek titrede pozitif bulunacaktır. Ayrıca, CT ile sadece IgG antikorları saptandığı ve Brucellacapt ile total antikorlar tespit edildiği için Brucellacapt titreleri CT'ye göre daha yüksek çıkmaktadır (90-93).

Tarama testi olarak kullanılabilmesi, 24 saat içinde sonuç vermesi, kolay uygulanabilmesi ve CT'ne benzer duyarlılık özgüllüğe sahip olması nedeniyle CT testine alternatif bir testtir (90, 91).

2.9.2.5. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

ELISA, yüksek duyarlılık ve özgüllükle total ve immünglobulin izotiplerini hızlı bir şekilde (4-6 saat içinde) saptayabilmektedir. Kısaca test, Brusella antijeni ile kaplanmış 96 kuyucuklu mikropleytlerde gerçekleştirilir. Kuyucuklara standart hacimde serum eklenir ve pleyt inkübe edilir ve yıkanır. Kuyucuklara enzimle-konjuge (alkalin fosfataz, horseradish peroksidaz) anti-insan IgG, IgM veya IgA eklenir. Substratın eklenmesi ve inkubasyonun ardından, uygun dalga boyunda optik dansite okunur (80).

ELISA, karmaşık, fokal ve kronik vakalarda, özellikle klinik şüphenin olduğu ancak diğer testlerin negatif sonuç verdiği olgularda tercih edilmektedir. ELISA, özellikle geçirilmiş, kronik ve nörobruselloz gibi komplike olgularda SAT'dan daha duyarlı iken akut olgularda aglutinasyon testlerine benzer tanısal özelliklere sahiptir. ELISA testleri, aglutinasyon yöntemlerine göre daha pahalı, testlerdir ayrıca donanım ve deneyim gerektirmektedir. Bu nedenle akut olgularda klinik tablonun özelliklerine bağlı olarak tercih edilmektedir (80, 94, 95).

ELISA serosurveyans çalışmaları için mükemmel bir yöntem olarak kabul edilmektedir. İmmünoglobulin sınıflarının saptanmasına ek olarak, ELISA ile Brusella'ya özgü IgG alt sınıflarını ve IgE gibi diğer Brusella immünoglobulinlerini de tespit edebilir (80, 95, 96).

2.9.2.6. İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA)

Lamlara, tüm *B. abortus* veya *B. melitensis* hücreleri (referens laboratuvarlardan veya farklı ticari firmalardan) asetonla fikse edilir. İki katlı serum dilüsyonlarının ilavesinden sonra, inkube edilir (37° C 'de 30 dakika) ve fosfat tamponlu tuz çözeltisi içinde yıkanır, floresan işaretli anti-insan IgG, IgM veya IgA lama eklenir ve tekrar inkube edilir (37° C 'de 30 dakika) ve yıkanır. Daha sonra pozitif floresan gösteren en yüksek dilüsyon titresini belirlemek için floresan mikroskop altında incelenir. Test hızlıdır (2-3 saat) ve ELISA ile karşılaştırılabilir sonuçlar gösterir. Ancak, test subjektiftir, IgA'yı tespit edemeyebilir ve farklı üreticilerden elde edilen antijenlere karşı reaksiyonlarda farklılıklar gözlenmiştir (80, 97).

2.9.2.7. Immunokromatografik Test (Lateral Flow Assay)

LFT, bir uca bir reaktif ped ile ve diğ er ucunda bir emici ped ile birleştirilmiş bir nitroselüloz saptama şeridinden oluşmaktadır. Kompozit şerit, bir plastik cihazda bulunur. Saptama şeridi, Brusella'ya ö zğ ü bir yakalama probu olarak Brusella lipopolisakkaritini (LPS) ve ayrıca bir reaktif kontrolünü ię erir. Reaktif ped, kolloidal altınla konjuge anti-human IgG/ IgM reagenini ię erir (80, 98).

Serum eklendikten sonra 10-15 dakika ię erisinde test sonucu gö rsel olarak değ erlendirilmektedir. Kalitatif bir test olmasına rağ men, antikor miktarına bağ li olarak reaksiyonun ř iddeti-boyanma yoğ unluğ u 1'den 4'e kadar değ erlendirebilmektedir. Kolay uygulanabilmesi ve ekipmana gerek duyulmaması nedeniyle, sahada tarama/serosurveyans ç alışmalarında, salgı nlarda uygun bir yöntem olarak kabul gö rmektedir (98, 99).

2.9.3. Moleküler Yöntemler

In-house konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve gerç ek zamanlı (real-time PCR) yöntemleri, klinik ö rneklerden Brusella'nın direk tespiti, tedavi yanıtının izlenmesi veya izole edilen Brusella türlerinin identifikasyonu ve tür ayrımı amacıyla kullanılmaktadır (80, 100, 101).

Brusellanın klinik ö rneklerden direk tespiti amacıyla kullanılan bu yöntemlerin duyarlılığ ı % 50-100, ö zğ üllüğ ü % 60-% 98 arasında değ işmektedir. Bu farklılığ ın nedeni, farklı DNA ekstraksiyon yöntemlerine, seç ilen hedef bölgeye, yöntemin sınır değ erine ve kullanılan ö rnek türleriyle ilişkili olabilmektedir (100, 101).

Moleküler yöntemler bruselloz tanısında iyi bir potansiyele sahip olmasına rağmen, rutin kullanıma girmeden önce sonuçların tutarlılığını ve güvenilirliğini sağlamak için standardizasyon ve optimizasyonun sağlanması gerekmektedir (80, 100-101).

2.10. Tedavi

Bruselloz hem önlenabilir hem de tedavi edilebilir bulaşıcı bir hastalıktır. Bruselloz tedavisinde primer amaç hastalığın semptomatik hastalığın doğal seyrini kısaltmak, komplikasyon görülme sıklığını azaltmak ve relapsı önlemektir. Ancak klinik tablonun çok yönlülüğü genellikle yanlış tanı ve tanının gecikmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu durumda hem komplikasyon hem de vaka ölüm oranları artmaktadır (81, 102).

Esansiyel ilaç direnci henüz Brusella izolatlarında tanımlanmamış olmasına rağmen, insan brusellozunun tedavisinde monoterapi ve kısa süreli antibiyotik rejimlerinin yeterli olmadığı düşünülmektedir. Uzun süreli antibiyotik ilaç uygulaması, birincil tedavi başarısızlığı ve relaps riskini giderek azaltır. Özellikle, endokardit veya spondilit gibi fokal hastalıkları olan hastalarda uzun süreli antibiyotik tedavisi ve ek cerrahi müdahaleler gerekmektedir (81, 103).

Bruselloz tedavisinde standart rejim olarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 1986 yılında; doksisisiklin 2x100 mg + rifampisin 600-900 mg/gün 4-6 hafta süreyle (veya doksisisiklin 2x100 mg/gün 4-6 hafta + 2-3 hafta süreyle streptomisin 1 g/gün) kullanılmasını önermiştir. Bu dönemden beri farklı tedavi rejimlerinin brusellozdaki etkinliğini değerlendirmek üzere çok sayıda çalışma yapılmıştır (103).

Bruselloz tedavisinde kullanılacak antimikrobiklerin makrofajlara penetre olabilmesi ve hücre içi asit ortamda etkinliğini sürdürebilmesi gerekmektedir. Bruselloz tedavisinde tüm monoterapi denemeleri yüksek oranda relaps ile sonuçlandığından tedavinin bir diğer prensibi kombine antimikrobiyal kullanılmasıdır (63).

En yaygın olarak kullanılan antibiyotik rejimi 6 hafta boyunca günde iki kez 100 mg oral doksisisiklin ile tek doz oral 600–900 mg/gün rifampisin kombinasyonudur. Rifampisin yerine, streptomisin 1g (15 mg/kg/gün) 2-3 hafta boyunca günde bir kez intramusküler olarak uygulanmaktadır. Streptomisin, etkinlik kaybı olmaksızın bruselloz çoklu ilaç rejimlerinde gentamisin ile yer değiştirebilmektedir (81, 104).

Doksisisiklin-rifampisin ile tedavi edilen hastalarda genel başarısızlık oranı (yüksek relaps oranından dolayı), doksisisiklin-streptomisin ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek olmasına rağmen, insan brusellozunda ilk seçenek olarak önerilmektedir. Doksisisiklin-rifampisin rejiminin tercih edilmesinin başlıca nedenleri, oral olarak uygulanması ve daha az yan etkiye sahip olmasıdır (103, 104).

Doksisisiklin, rifampisin ve gentamisin, üçlü kombinasyonunun, doksisisiklinin sadece bir aminoglikozid ile kombinasyonundan daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, özellikle fokal komplikasyonlar olmaksızın akut hastalığı olan hastalarda üçlü tedavinin eleştirel olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmektedir (104, 105).

8 yaşın altında olan çocukların tedavisinde, tetrasiklin ve kinolonlar kontrendikedir. DSÖ, bu yaş grubundaki çocuklarda rifampisin monoterapisi

önerirken, başka kaynaklar ko-trimoksazol monoterapisi veya rifampisin+ko-trimoksazol kombinasyonu önermektedir (104, 105).

Gebelikte bruselloz tedavisi ile ilgili randomize kontrollü çalışma bulunmamaktadır. En geniş serili çalışmada, Trimetoprim/sülfametaksazol'un tek başına veya rifampisinle kombine kullanımı önerilmektedir. Rifampisin gebelikte bruselloz tedavisinde emniyetli kabul edilebileceği ve komplike olmayan gebe brusellozunda rifampisin monoterapisinin verilebileceği bildirilmiştir (103, 106).

2.11. ADMA

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), proteinlerdeki arjinin rezidülerine, Protein Arjinin Metil Tranferaz-1 (PRMT1) enzimi aracılığıyla metil gruplarının eklenmesi ve metillenmiş proteinlerin parçalanması sonucu oluşan arjinin türevidir. NG monometil L-arjinin (L-NMMA), simetrik dimetil arjinin (SDMA) ve asimetrik dimetilarjinin (ADMA) başlıca metil arjinin türevleridir (107).

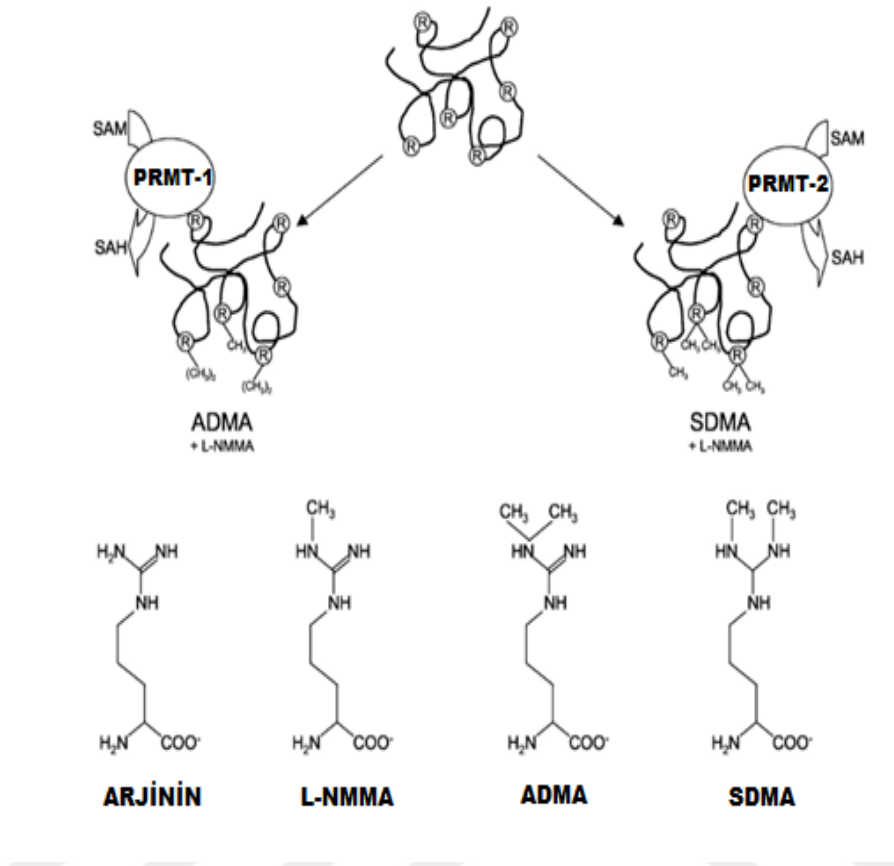
Metillenmiş arjinin türevleri ilk olarak 1970 yılında insan idrarından tanımlanmıştır. Ancak, Vallance ve arkadaşları, 1992 yılında insan plazmasında ve idrarda, Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olarak ADMA'nın varlığını ilk kez ortaya koyarak bu alandaki çalışmaları başlatmıştır (108). ADMA ve L-NMMA, NOS enziminin inhibitörü iken, SDMA'nın ise NOS enzimini inhibe etme özelliği yoktur (107).

2.11.1. ADMA'nın Biyosentezi ve Taşınması

Proteinlerin arjinin rezidüleri, post-translasyonel modifikasyon sayesinde metillenerek metil arjinin türevleri oluşmaktadır. Bu metilasyonu, Protein Arjinin

Metil Transferaz (PRMT) enzimi katalizleyerek, proteinlerin içindeki arjininin guanido azotuna 1 veya 2 metil grubu transferini sağlar. Bu reaksiyonlar sırasında, PRMT grubu enzimler, S-adenozil metioyonini metil kaynağı olarak kullanırlar (107-109).

PRMT-1, NG monometil-L-arginin (LNMMA) ve NG, NG-dimetil-L-arginin (ADMA) oluşumunu katalize ederken, PRMT-2, proteinlerden NG, NG-dimetil-L-arginin (simetrik dimetil ADMA arginin; SDMA) ve L-NMMA'nın oluşumu katalize eder (Şekil 1) (107-109). Endotel hücrelerine ADMA, SDMA ve L-NMMA aminosit taşıyıcısı (y+ taşıyıcısı) ile girer. Bu üç metilarjinin hücreye girebilmek için arjininle yarışa girer. Yüksek ADMA konsantrasyonları; L-arjininin hücre içine taşınmasını engelleyerek NO sentezini azaltır (108).



Şekil 1. Arjininin metillenmiş formlarının sentezi (107)

2.11.2. ADMA'nın Metabolizması

Proteoliz sonrası serbest ADMA ve SDMA salınır. Sağlıklı bir yetişkinde günde 60 mg (~ 300 μ Mol) ADMA üretilir, bunun yaklaşık % 20'si böbrekler yoluyla idrarla atılır (110, 111). ADMA'nın aksine, SDMA, ADMA düzeylerinin sadece % 50'si kadar üretilir ve SDMA'nın eliminasyonu büyük ölçüde idrar atılımı yoluyla olmaktadır. Serbest ADMA ve SDMA, L-arginin ile ortak bir taşıma sürecini paylaşır ve bu şekilde, katyonik amino asit taşıyıcı (CAT) ailesi aracılığıyla hücrelerin içine veya dışına taşınabilirler (112). Dolaşımdaki ADMA enzimatik

degradasyon için böbrek, beyin ve karaciğer gibi büyük organlara taşınır. Bugüne kadar, üç enzimin ADMA'yı metabolize ettiği bildirilmiştir: dimetilarginin dimetilaminohidrolaz-1 (DDAH-1) ve dimetilarginin dimetilaminohidrolaz-2 (DDAH-2) ve alanin-glioksilat aminotransferaz 2 (AGXT2). DDAH' lar, ADMA' yı sitrulin ve dimetilamine metabolize etmektedir. Benzer şekilde ADMA, AGXT2 enzimi ile a-keto-a-(NG, NG-dimetilguanidino) valerik aside (DMGV) transamine edilmektedir (113). Plazma ve doku ADMA seviyeleri, DDAH ve AGXT2' nin ekspresyonu ve aktivitesini etkileyen faktörlere büyük ölçüde bağımlıdır (114).

2.11.3. ADMA Ölçüm Metodları

ADMA ve SDMA çok dar bir normal konsantrasyon aralığı gösterdiğinden, normal ve hafif yüksek konsantrasyonları ayırt etmek için yüksek analitik hassasiyet zorunludur. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC), kütle spektrometrisi (MS), sıvı kromatografisi/tandem kütle spektrometresi (LC-MS ve LC-MS/MS), Ultra Basınçlı (performanslı) Sıvı Kromatografisi (UPLC) ve Enzim immuno assay (ELISA), ADMA ve SDMA düzeylerinin ölçümü için kullanılan yöntemlerdir (115-118).

HPLC tabanlı yöntemler, plazma, idrar ve doku homojenatı gibi örneklerde ADMA ve SDMA seviyelerini değerlendirmek için kullanılan en yaygın tekniklerdir. Ancak HPLC yöntemleri çok zaman alıcıdır. MS bazlı yöntemler daha hassas olmasına rağmen, ADMA ve SDMA çeşitli MS sistemlerinde farklı ayrışma paternleri sergiler (119).

2.11.4. ADMA'nın Çeşitli Fizyopatolojik Durumlarla İlişkisi

Vasküler endotelial sistemin fonksiyonun devamında endotel kaynaklı mediatörlerin önemli rolleri bulunmaktadır ve NO bunların en önemlilerinden biridir. NO, endotelde, nöronlarda ve makrofajlarda bulunan NOS enzimi aracılığı ile sentezlenmektedir. NO, kardiyovasküler sistemde önemli rollere sahiptir, vazodilatasyonu uyararak trombositlerin adezyon ve agregasyonuna engel olur. Ayrıca lökosit ve monositlerin endotele yapışmasını ve düz kas hücre proliferasyonunu önler (120, 121).

NO, superoksit radikallerinin oluşumunu önleme ve angiogenezi uyarma gibi etkilerinden dolayı "endojen anti-aterojenik molekül" olarak da adlandırılmaktadır. Yüksek ADMA seviyeleri, NOS enzimini inhibe ederek L-arjininin intrasellüler geçişini önlediği için NO sentezinde azalmaya neden olur. NO üretiminin baskılanması oksidan-antioksidan durumun değişmesine yol açar ve oksidasyonun artması da doku hasarı ile sonuçlanır (122-124).

Son yıllarda, plazma ADMA seviyelerinin, kronik böbrek yetmezliği, hipertansiyon, periferik arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, hiperkolesterolemi, preeklampsi, diabetes mellitus, inme, koroner arter hastalığı ve polikistik over sendromu gibi klinik durumlarda yüksek olduğu gösterilmiştir (125-135).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Türü

Bu çalışma Ocak 2014-Ocak 2016 tarihleri arasında Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran ve Bruselloz tanısı alan 40 hasta ve 40 sağlıklı kontrol üzerinden prospektif olarak gerçekleştirildi.

3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Zaman

Araştırma, Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniği ve Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2014-Ocak 2016 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Araştırmanın evrenini Ocak 2014-Ocak 2016 tarihleri arasında Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran hastalar, araştırmanın örnekleme ise ilgili tarihler arasında polikliniğe başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden Bruselloz tanısı alan 40 hasta ve 40 sağlıklı kontrolden oluştu.

3.4. Araştırmanın Etik İlkeleri

Araştırmanın yapılabilmesi için Erzincan Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 11.04.2017 tarih ve 04/10 sayılı etik kurul onayı alındı (EK-1). Araştırma kapsamında hastaların haklarının korunması amacıyla, "Özerklik" ilkesine

ve ‘‘Gizlilik ve Gizliliğin Korunması’’ ilkesine uyulmasına zen gösterildi. Genel olarak ‘Zarar Vermeme/Yarar Sağlama’ etik ilkeleri yerine getirildi.

3.5. Araştırmanın Sınırlılıkları ve Genellenebilirliği

Bu araştırma, Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden Bruselloz tanısı alan 40 hasta ve 40 sağlıklı kontrolle sınırlandı. Çalışma Bruselloz tanısı alan ve sağlıklı kontrol üzerinde yapıldığından araştırma sonuçları bu gruba genellenebilir.

3.6. Verilerin Toplanması

Bruselloz şüphesi ile Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran hastalara, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda Rose Bengal Aglutinasyon Testi (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye) ve doğrulama için Brusella immuncapture aglutinasyon testi (Brucellacapt) (Metserlab, Türkiye) alışıldı. Kardiyovasküler sistem hastalıkları, diabetes mellitus, multipl organ yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği gibi serum ADMA düzeylerini etkileyebilecek hastalıkları olan kişiler çalışma dışı bırakıldı. Rose Bengal Lam Aglutinasyon Testi ile pozitiflik veren, Brusella immuncapture aglutinasyon testi ile doğrulan 40 olgu çalışmaya alındı. Herhangi bir hastalığı ve şikayeti olmayan daha önce bruselloz geçirmemiş 40 sağlıklı gönüllü kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Her katılımcıdan 10 ml venöz kan rneği alınarak, 1000 xg’de 15 dakika santrifüj edilip serumları ayrıldı. Elde edilen serum örneklerinden brusellozun serolojik tanısında kullanılan Rose Bengal Testi, Brucella CAPT testleri

bekletilmeden çalışılırken, serum ADMA ELISA testi için serum örnekleri -20°C'de çalışıncaya kadar saklandı.

Katılımcıların cinsiyet, yaş ve ikamet adreslerini içeren demografik karakteristikleri kayıt altına alındı. Kişilerin fiziki muayeneleri yapılarak hemogram, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), kreatinin, sedimentasyon, CRP düzeyleri belirlendi.

3.7. Bruselloz Tanısı

3.7.1. Rose Bengal Lam Aglutinasyon Testi

Tarama testi olarak Rose Bengal aglutinasyon testi (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye) kullanıldı. Serum örnekleri (kontrol serumları dahil) ve test antijeninin teste başlamadan önce oda sıcaklığına gelmesi beklendi (yaklaşık 30 dakika). Beyaz zeminli kart üzerine serum örneğinden, pozitif ve negatif kontrollerden 50 µL bırakıldı ve her birinin üzerine 50 µL Rose Bengal antijeni damlatıldı. Pipet ucu kullanılarak serum ve antijenin karışması sağlandı ve 4 dakika boyunca elle dairesel hareketler yapılarak antijen ve serumun karışması sağlandı. Aglutinasyon görülen örnekler pozitif, görülmeyenler negatif kabul edildi. Tarama testi pozitif bulunan hasta serumlarına Brusella immuncapture aglutinasyon testi (Brucellacapt) (Metserlab, Türkiye) uygulandı.

3.7.2. Brusella Immuncapture Aglutinasyon Testi

Brucellacapt testi, üretici firma önerileri (Metserlab, Türkiye) doğrultusunda yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına (18-25°C) getirildi. Her hasta için altı kuyucuk, pozitif ve negatif kontroller için de iki kuyucuk

kullanıldı. İlk kuyucuğa 95 µL, diğer kuyucuklara 50 µL serum diluenti konuldu. İlk kuyucuğa 5 µL hasta serumu, pozitif ve negatif kontrol kuyucuklarına da 5'er µL pozitif ve negatif kontrol serumları konuldu. İlk kuyucuğa 5 µL serum pipetaj yapılarak karıştırıldı. Bu kuyucuktan 50 µL alıp sırayla dilüsyon yaparak en son 50 µL dışarı atıldı. Bütün kuyucuklara 50 µl Brucella antijeni eklendi. Üzeri koruyucu bantla kapatılarak plak nemli ortamda 18-24 saat 37 °C'de inkübe edildi. Sonuçlar, ilk kuyucuk 1/40 olmak üzere 1/1280 titrasyona kadar gözle değerlendirildi. Brucellacapt testinde 1/320 ve üzeri bulunan titreler pozitif olarak kabul edildi.

3.8. Hemogram, Biyokimyasal Testler, Sedimentasyon ve CRP Düzeylerinin Ölçülmesi

Hemoglobin (Hb), Hematokrit (Hct), Lökosit (WBC), Trombosit (PLT) değerleri Sysmex XN-2000™ Hematology System (Sysmex, Kobe, Japonya) otomatize kan sayım cihazında çalışıldı.

Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), kreatinin (Kr) değerleri Beckman Coulter AU2700Plus Chemistry Analyzer (Beckman Coulter, ABD) cihazı kullanılarak ölçüldü. Sedimentasyon değerleri TEST 1 BCL (Alifax, Padova, İtalya) cihazı ile, C-reaktif protein (CRP) değerleri ise BN™ II System (Siemens, Munich, Almanya) cihazında çalışıldı.

Testlerin değer aralıkları ölçümlerin yapıldığı Erzincan Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji ve Biyokimya laboratuvarlarının referans aralığına uygun olarak belirlendi. Bu referans aralığına göre, WBC: 4.49-12.68 x 10⁹/L; Hb: 12-16 g/L, Hct: % 36-48, PLT: 150-450

$\times 10^3/\text{mL}$, AST: 0-35 U/L, ALT (0-35 U/L), Kr: 0.66-1.09 mg/dL, Sedimentasyon (0-20 mm/h), CRP (0-5 mg/L) olarak kabul edildi.

3.9. ELISA İle Serum ADMA Düzeylerinin Ölçülmesi

Hastalardan ve kontrol grubundaki bireylerden kan örnekleri alındı ve santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum ADMA ELISA testi için serum örnekleri -20°C'de çalışıncaya kadar saklandı.

Serum ADMA düzeyleri insan ADMA ELISA kiti (Cusabio, Wuhan, China) ile üretici firma önerileri doğrultusunda çalışıldı. Kit içerisinde bulunan standart sulandırılarak, 7.8-500 ng/ml aralığında standart hazırlandı. Standart kuyucuklarına 100 µL standart, örnek kuyucuklarına ise 100 µL serum örneği eklendi. Daha sonra sızdırmaz membranla kaplayarak, yavaşça çalkalanarak, 37 °C'de 120 dakika inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuktaki sıvı aspire edildi. Her kuyucuğa 100 µL Biotin-Antikor eklendi. Sızdırmaz membranla kaplandı ve yavaşça çalkalanarak, 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. 25x konsantre yıkama solüsyonu distile su ile 25 kez dilue edildi. Membranı dikkatlice kaldırıldı ve sıvı aspire edildi. Yıkama işlemi 6 kere 200 µL yıkama solüsyonu ile yapıldı. Daha sonra, her kuyucuğa 100 µL Horseradish Peroxidase (HRP-Avidin) eklendi. Sızdırmaz membranla kaplayarak, yavaşça çalkalandı ve 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Membranı dikkatlice kaldırılarak, sıvı aspire edildi ve 6 kere 200 µL yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı. Her kuyucuğa 90 µL Tetrametilbenzidin (TMB) substrat eklendi. 15-30 dakika 37 °C'de inkübe edildi. Son olarak, reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklendikten sonra 5 dakika içerisinde standartların ve örneklerin absorbanları Epoch spektrofotometre (BioTek

Instruments, Inc., Winooski, VT, ABD) kullanılarak 450 nm dalga boyunda (540 nm veya 570 nm düzeltme) okutuldu. ADMA düzeyini belirlemek için standart eğri x eksenini üzerinde standart konsantrasyon ve y eksenini üzerinde absorbans olacak şekilde oluşturuldu. Her örnek çift çalışıldı.

3.10. İstatistiksel Analiz

Demografik veriler ve bütün laboratuvar sonuçları istatistiksel olarak analiz edilip yorumlandı. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 19 (IBM Corp. Released 2010. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenler Ortalama±Standart sapma ve Medyan (Minimum-Maksimum) değer olarak, kategorik değişkenler ise n (%) değer olarak verildi. Normallik varsayımına Kolmogorov-Smirnov testi ile bakıldı, iki grup arasındaki farklılıklar değerlendirilmek istendiğinde parametrik test ön şartlarının sağlandığı durumda Student's t test; sağlamadığı durumlarda ise Mann Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik veri analizi yapılırken Pearson Ki-Kare Testi ve Fisher's Exact Test kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi ($p < 0.05$) ve ($p < 0.01$) olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya, Bruselloz tanısı almış 40 (% 50) hasta ve 40 (% 50) sağlıklı kontrol dahil edildi. Her iki gruptaki katılımcı oranları homojen olarak seçildi. Bruselloz ve kontrol gruplarında serum ADMA, AST, ALT, PLT, WBC, Hb, Hct, Sedimentasyon ve Kır değerlerine bakıldı.

4.1. Çalışma Gruplarında Cinsiyet ve Yaş Oranları

Bruselloz grubunda 22 (% 55) kadın, 18 (% 45) erkek, kontrol grubunda 22 (% 55) kadın, 18 (% 45) erkek vardı ve her iki grupta da cinsiyet oranları benzerdi ($p=1.000$). (Tablo 5).

Bruselloz grubunda yaş ortalaması 49.2 ± 17.3 , kontrol grubunda ise 39.0 ± 7.9 olarak bulundu. Gruplar arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılığa rastlandı ($p=0.001$). Bruselloz grubunda yaş ortalaması daha yüksekti. (Tablo 6).

Tablo 5. Çalışma Gruplarında Cinsiyetin Dağılımı

			Grup		Toplam	p
			Kontrol	Bruselloz		
Cinsiyet	Kadın	n	22	22	44	1.000
		%	55.0	55.0	%55.0	
	Erkek	n	18	18	36	
		%	45.0	45.0	%45.0	
	Toplam	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.2. Çalışma Gruplarında ADMA Düzeyleri

Serum ADMA düzeylerinde bruselloz grubunda 262.6 ± 139.59 ng/ml, kontrol grubunda ise 196.52 ± 85.25 ng/ml olarak saptandı. Bruselloz ve kontrol gruplarında ADMA düzeylerindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.013$). Bruselloz grubunda ADMA ortalaması daha yüksek bulundu.

4.3. Çalışma Gruplarında Biyokimyasal Test Düzeyleri

AST düzeyleri bruselloz grubunda 32.5 ± 25.8 , kontrol grubunda ise 25.4 ± 10.5 olarak bulundu. Bruselloz ve kontrol gruplarında anlamlı olarak fark yoktu ($p=0.319$).

ALT düzeyleri bruselloz grubunda 27.5 ± 24.7 , kontrol grubunda 21.6 ± 8.9 olarak bulundu. Her iki grupta da değerler benzerdi ($p=0.160$).

Kr düzeyleri bruselloz grubunda 0.7 ± 0.2 ve kontrol grubunda 0.8 ± 0.2 olarak bulundu. Değerler birbirine yakındı. Ancak Kr düzeyi kontrol grubunda daha yüksekti. İki grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.023$).

4.4. Çalışma Gruplarında Hemogram Test Düzeyleri

Bruselloz ve kontrol gruplarında WBC, Hb, Hct ve PLT değerleri incelendi. WBC düzeylerine bakıldığında bruselloz grubunda 6.3 ± 2.1 iken kontrol grubunda 7.7 ± 1.8 olarak saptandı. Bruselloz ve kontrol grubu arasında anlamlı fark vardı ($p=0.003$). Kontrol grubunda WBC ortalaması daha yüksek bulundu.

Hb ve Hct düzeylerine bakıldığında, Hb, bruselloz grubunda 13.6 ± 1.7 ve kontrol grubunda ise 14.0 ± 1.8 olarak bulundu. Her iki grupta değerler birbirine

benzerdi ($p=0.370$). Hct ise bruselloz grubunda 40.3 ± 4.7 , kontrol grubunda ise 41.9 ± 5.1 olarak bulundu ve değerler benzerdi ($p=0.148$).

PLT düzeyleri bruselloz grubunda 224850.0 ± 71379.3 ve kontrol grubunda ise 230450.0 ± 40787.1 olarak bulundu. Bruselloz ve kontrol gruplarında oranlar benzerdi ($p=0.668$).

4.5. Çalışma Gruplarında Sedimentasyon Test Düzeyleri

Sedimentasyon düzeyleri bruselloz grubunda 22.4 ± 16.3 ve kontrol grubunda ise 10.8 ± 10.5 olarak saptandı. Bruselloz ve kontrol gruplarında anlamlı olarak farklılık tespit edildi ($p=0.001$). En yüksek sedimentasyon değerleri bruselloz grubunda saptandı.

4.6. Çalışma Gruplarında CRP Test Düzeyleri

CRP düzeyleri bruselloz grubunda 1.8747 ± 2.86470 ve kontrol grubunda ise 0.9638 ± 1.31798 olarak saptandı. Bruselloz ve kontrol gruplarında anlamlı değildi. ($p=0.389$). (Tablo 6).

Tablo 6. Çalışma Gruplarında Tüm Parametrelerin Karşılaştırılması ????

	Gruplar		P
	Kontrol (ortalama \pm s.sapma) medyan (min-max)	Bruselloz (ortalama \pm s.sapma) medyan (min-max.)	
Yaş	39.0 \pm 7.9 39.5 (27.0-53.0)	49.2 \pm 17.3 50.0 (18.0-78.0)	0.001
ADMA (ng/mL)	196.5 \pm 85.2 173.5 (69.8-371.9)	262.6 \pm 139.6 233.3 (4.2-512.5)	0.013
AST (U/L)	25.4 \pm 10.5 23.0 (12.0-66.0)	32.5 \pm 25.8 25.0 (14.0-163.0)	0.319
ALT (U/L)	21.6 \pm 8.9 20.5 (7.0-48.0)	27.5 \pm 24.7 19.0 (7.0-121.0)	0.160
PLT (x10 ³ /mL)	230450.0 \pm 40787.1 229000.0 (152000.0-365000.0)	224850.0 \pm 71379.3 223000.0 (14000.0-379000.0)	0.668
WBC (10 ⁹ /L)	7.7 \pm 1.8 7.2 (5.0-11.6)	6.3 \pm 2.1 5.8 (2.1-12.4)	0.003
Hb (g/L)	14.0 \pm 1.8 13.9 (10.3-17.0)	13.6 \pm 1.7 13.6 (9.3-16.6)	0.370
HCT (%)	41.9 \pm 5.1 42.3 (30.2-51.6)	40.3 \pm 4.7 40.6 (27.2-50.2)	0.148
Sedimentasyon (mg/dL)	10.8 \pm 10.5 8.5 (1.0-45.0)	22.4 \pm 16.3 20.0 (1.0-76.0)	0.001
Kr (mg/dL)	0.8 \pm 0.2 0.8 (0.1-1.2)	0.7 \pm 0.2 0.7 (0.4-1.2)	0.023
CRP (mg/L)	0.9638 \pm 1.31798 0.4160 (0.15-3.30)	1.8747 \pm 2.86470 0.6240 (0.13-11.60)	0.389

4.7. Grup Bazında Değerlendirilen Biyokimyasal Test Düzeyleri

Bruselloz ve kontrol gruplarında değerlendirilen biyokimyasal testlerden AST, ALT ve KR düzeyleri grup bazında düşük, normal ve yüksek düzey olarak incelendi.

4.7.1. AST Düzeyleri

AST düzeyleri grup bazında incelendiğinde bruselloz grubunda 31 (% 77.5) kişide AST normalken, kontrol grubunda 36 (% 90) kişide normaldi ve bu oranlar istatistiksel olarak benzerdi. Kontrol ve bruselloz gruplarında AST düzeyleri incelendiğinde kontrol grubunda 4 (% 10) kişide yüksek düzeyde AST değerleri saptanırken, bruselloz grubunda 9 (% 22.5) kişide AST düzeyi yüksekti. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0.130$). (Tablo 7).

Tablo 7. AST Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
AST Düzeyleri	Normal	n	36	31	67	0.130
		%	90.0	77.5	%83.8	
	Yüksek	n	4	9	13	
		%	10.0	22.5	%16.3	
	Total	n	40	40	80	
		%	50.0	50.0	%100.0	

4.7.2. ALT Düzeyleri

Bruselloz ve kontrol gruplarında ALT düzeyleri incelendiğinde kontrol grubunda 3 (% 7.5) kişide yüksek düzeyde ALT değerlerine saptanırken, bruselloz grubunda 7 (% 17.5) kişide ALT düzeyi yüksekti. Değerler istatistiksel olarak birbirine benzerdi ($p=0.176$) (Tablo 8).

Tablo 8. ALT Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
ALT Düzeyleri	Normal	n	37	33	70	0.176
		%	92.5	82.5	%87.5	
	Yüksek	n	3	7	10	
		%	7.5	17.5	%12.5	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.7.3. Kr Düzeyleri

Kr düzeyleri grup bazında incelendiğinde bruselloz grubunda 15 (% 37.5) kişide Kr değerleri düşük iken, kontrol grubunda 4 (% 10) kişide düşük bulundu.

Bruselloz grubunda sadece 1 (% 2.5) kişide Kr değeri yüksekti. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi ($p=0.008$) (Tablo 9).

Tablo 9. Kr Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
Kr Düzeyleri	Düşük	n	4	15	19	0.008
		%	10.0	37.5	%23.8	
	Normal	n	36	24	60	
		%	90.0	60.0	%75.0	
	Yüksek	n	0	1	1	
		%	0.0	2.5	%1.3	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.8. Grup Bazında Değerlendirilen Hemogram Test Düzeyleri

Bruselloz ve kontrol gruplarında değerlendirilen hemogram testlerinden WBC, HB, Hct, PLT düzeyleri grup bazında düşük, normal ve yüksek düzey olarak incelendi.

4.8.1. WBC Düzeyleri

WBC düzeyleri bruselloz grubunda sadece 2 (% 5) kişide düşük bulunurken, 2 (% 5) kişide de yüksek bulundu. Kontrol grubunda ise 3 (% 7.5) kişide yüksek bulundu. Oranlar benzerdi ve gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.331$) (Tablo 10).

Tablo 10. WBC Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
WBC Düzeyleri	Düşük	n	0	2	2	0.331
		%	0.0	5.0	%2.5	
	Normal	n	37	36	73	
		%	92.5	90.0	%91.3	
	Yüksek	n	3	2	5	
		%	7.5	5.0	%6.3	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.8.2. Hb Düzeyleri

Hb düzeyleri, her iki grupta benzerdi ve gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmadı ($p=1.000$). Bruselloz grubunda 37 (% 92.5) kişide Hb düzeyleri normalken, kontrol grubunda da 37 (% 92.5) kişide normaldi (Tablo 11).

Tablo 11. Hb Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
Hb Düzeyleri	Düşük	n	3	3	6	1.000
		%	7.5	7.5	%7.5	
	Normal	n	37	37	74	
		%	92.5	92.5	%92.5	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.8.3. Hct Düzeyleri

Hct düzeyleri bruselloz grubunda 35 (% 87.5) kişide normal düzeyde iken, kontrol grubunda 38 (% 95) kişide normal olarak bulundu. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0.235$). (Tablo 12).

Tablo 12. Hct Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
HCT Düzeyleri	Düşük	n	2	5	7	0.235
		%	5.0	12.5	%8.8	
	Normal	n	38	35	73	
		%	95.0	87.5	%91.3	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.8.4. PLT Düzeyleri

PLT düzeyleri bruselloz grubunda 4 (% 10) kişide düşük iken 36 (% 90) kişide ise normal düzeyde bulundu. Kontrol grubunun tamamında 40 (% 100) kişide normal düzeylerdeydi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.040$). (Tablo 13).

Tablo 13. PLT Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
PLT Düzeyleri	Düşük	n	0	4	4	0.040
		%	0.0	10.0	%5.0	
	Normal	n	40	36	76	
		%	100.0	90.0	%95.0	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.9. Grup Bazında Değerlendirilen Sedimentasyon Test Düzeyleri

Bruselloz grubunda sedimentasyon düzeyleri 20 (% 50) kişide yüksek bulunurken, kontrol grubunda ise 6 (% 15) kişide yüksek bulundu. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$). (Tablo 14).

Tablo 14. Sedimantasyon Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
Sedimantasyon Düzeyleri	Normal	n	34	20	54	0.001
		%	85.0	50.0	%67.5	
	Yüksek	n	6	20	26	
		%	15.0	50.0	%32.5	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

4.10. Grup Bazında Değerlendirilen CRP Test Düzeyleri

CRP düzeyleri bruselloz grubunda 16 (% 40) kişide yüksek düzeyde bulunurken, 24 (% 60) kişide normal düzeyde idi. Kontrol grubunun tamamında ise 40 (% 100) kişide normaldi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$). (Tablo 15).

Tablo 15. CRP Düzeyleri

			Gruplar		Total	p
			Kontrol	Bruselloz		
CRP Düzeyleri	Normal	n	40	24	64	0.001
		%	100.0	60.0	%80.0	
	Yüksek	n	0	16	16	
		%	0.0	40.0	%20.0	
	Total	n	40	40	80	
		%	100.0	100.0	%100.0	

5. TARTIŞMA

ADMA, NO sentazın seçici olmayan güçlü bir inhibitörü, endotel disfonksiyonunun bir biyobelirleyicisi olarak kabul edilmektedir (136). ADMA'nın hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi, hipertansiyon, diabetes mellitus, insülin direnci, kronik kalp yetmezliği, hipertiroidizm, hemorajik şok, preeklampatik gebelik, çoklu organ yetmezliği ve sepsiste arttığı gösterilmiştir (136-139).

NO üretiminin azaltılması, vasküler disfonksiyon ve tromboza katkıda bulunan artan trombosit agregasyonu ve lökosit adezyonu ile ilişkilidir. NO sentezinin inhibisyonu vasküler tutulumu hızlandırır, uzun süreli L-arginin takviyesinin ateroskleroza ve vasküler tutulumu inhibe ettiği gösterilmiştir. ADMA'nın artan plazma konsantrasyonunun vasküler tutulumda ve inflamasyonda görüldüğü bildirilmiştir (140).

Brusellozlu hastalarda vaskülit, endokardit ve anevrizmalar gibi vasküler patolojiler tanımlanmış olmasına rağmen Ferrero ve arkadaşlarının çalışmasına kadar, Brusella'nın endotel ile etkileşimi karakterize edilememiştir. Ferrero ve diğerleri, *Brucella abortus* ve *Brucella suis*'in insan umbilikal ven endotel hücrelerinde (HUVEC'ler) ve mikrovasküler endotel hücre hattı 1 'de (HMEC-1) enfekte ettiğini ve çoğaldığını göstermiştir. Brusellozda enfeksiyonun HUVEC ve HMEC-1 hücrelerinde interleukin (IL) 8 ve IL-6 üretiminin artmasına ve adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonuna yol açtığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar *Brucella spp.* vasküler endotel hücrelerini enfekte edebileceğini göstermiştir (141).

Yoğun bakım hastaları ile yapılan prospektif bir çalışmada, O'Dwyer ve ark. organ yetmezliğinin şiddeti, inflamasyon ve şiddetli sepsiste erken şok varlığı artmış ADMA seviyeleri ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (139).

ADMA ve enfeksiyon hastalıkları arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Weis M. ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı çalışmada, akut rejeksiyon ya da enfeksiyon kanıtı olmayan 33 ortotopik kalp nakli alıcısı transplantasyondan 67 ± 51 ay sonra ve 16 sağlıklı kontrolde sitomegalovirüs (CMV) DNA ve ADMA varlığını araştırmışlar. Transplant alıcılarında sağlıklı kontrole göre 200 kat plazma ADMA konsantrasyonunun yükseldiğini, CMV DNA-pozitif lökositleri olan transplant hastalarının daha yüksek plazma ADMA konsantrasyonlarına sahip olduğunu bildirmişler. Yüksek ADMA seviyesi olan hastalar ($> 2.0 \mu\text{mol} / \text{L}$) ve CMV DNA varlığı olan hastalarda en yüksek transplant arteriopati prevalansını göstermişler. HMEC-1 ve HMVEC hücre kültürü ortamındaki ADMA seviyesinin, CMV TB40/E ile enfeksiyondan sonra önemli ölçüde arttığını belirtmişler. Kardiyak alıcıların koroner arterlerinde gözlenen değişmiş vasküler fonksiyon ve yapıda CMV kaynaklı endotelial disfonksiyonun önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir (142).

Kurz K. ve ark'ları ise HIV-1 ile enfekte olmuş 112 hastada, anti-retroviral tedavi verilmeden önce ADMA, SDMA ve arjinin konsantrasyonları ile C-reaktif protein ve neopterin konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. HIV-1 ile enfekte olmuş hastalarda, sağlıklı kontrole göre neopterin, ADMA ve SDMA konsantrasyonlarının arttığı ve arginin, plazma lipid konsantrasyonlarının ise azaldığı gözlenmiştir. Gözlemlenen ADMA artışının HIV-1 ile enfekte hastalarda kardiyovasküler riskin

artışı ile ilişkili olup olmadığının, daha geniş çalışmalarla ortaya konması gerektiğini bildirmişlerdir (143).

Helicobacter pylori (*H. pylori*) aterogenezde rol oynayan patojenlerden biridir. Aydemir ve ark.'ları *H. pylori* enfeksiyonu tedavisinin serum ADMA düzeyine etkisini araştırmak amacıyla 42 *H. pylori* pozitif hastayı çalışmaya almış ve 14 gün boyunca tüm hastalara üçlü tedavi yöntemi uygulamışlar. ADMA serum seviyelerini tedavi öncesi ve tedaviden 2 ay sonra ölçmüşler. Çalışmada 42 hastadan 34 (% 81)'ünde *H. pylori* eradike edilmiş. *H. pylori*'nin eradike edildiği grupta tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı azalmış serum ADMA düzeyleri saptamışlar. *H. pylori* eradikasyonunun ateroskleroz riskini azaltabileceğini belirtmişlerdir (144).

Sünnetçioğlu ve ark.'ları kutanöz antraksts olan 35 serum örneğinde ve 18 kontrol serum örneğinde ADMA düzeylerini ELISA yöntemi ile araştırmışlar. ADMA düzeylerini hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlar. ADMA düzeylerinin sedimentasyon ve INR düzeyleri ile de pozitif ilişkili olduğunu belirtmişler. Kutanoz antraksts hastalarında artmış ADMA düzeylerinin altında yatan kesin mekanizma net olmamakla birlikte, bu artışın daha önce rapor edilen kutanoz antraksta perivasküler inflamasyon ve vaskülite bağlı olabileceğini bildirmişler (136).

Kronik HCV enfeksiyonu olan hastalarda interferon- α (IFN- α) tedavisi ile ADMA seviyelerinin değiştiği gösterilmiştir (145). Ayrıca HCV-HIV ko-enfeksiyonu olan hastalarda yüksek ADMA konsantrasyonları tespit edilmiştir (146).

Karakeçili ve ark.'ları, kronik aktif hepatit B hastaları (KHB), inaktif hepatit B virus taşıyıcıları (taşıyıcı) ve sağlıklı bireylerin serum örneklerinde ADMA

düzelelerini araştırmışlar. KHB hastalarındaki serum ADMA düzeyleri, taşıyıcı ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişler. ADMA düzeylerindeki bu ykseklığın, HBV'nin vaskülitteki rolünü desteklediğini ortaya koymuşlardır (147).

Literatürde Bruselloz hastalarında ADMA düzeyi hakkında yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. Mengeloğlu ve ark.'ları, ADMA ve brusella arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla 39 bruselloz hastası ve 18 sağlıklı kontrolden alınan serum örneklerinde ADMA varlığını araştırmışlar. ADMA düzeylerini hasta grubunda kontrollerden anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar (148).

Çalışmamızda Mengeloğlu ve ark.'larının çalışmasına benzer şekilde, bruselloz grubunda serum ADMA düzeyleri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Serum ADMA düzeyleri 262.6 ± 139.59 ng/ml, kontrol grubunda ise 196.52 ± 85.25 ng/ml olarak saptandı. Bruselloz ve kontrol gruplarında ADMA düzeylerindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.013$).

Yüksek Eritrosit sedimentasyon (ESR), CRP ve karaciğer enzimleri ve anemi, lökopeni ve trombositopeni gibi hematolojik anormallikler Brusellozda en sık görülen laboratuvar bulgularıdır. ESR ve CRP'de yükselmeler birçok çalışmada en yaygın laboratuvar bulguları olarak bildirilmiştir (149, 150).

Çalışmamızda bruselloz ve kontrol gruplarında serum AST, ALT, PLT, WBC, Hb, Hct, Sedim ve Kr, CRP değerlerine bakıldı.

AST düzeylerinde bruselloz grubunda 32.5 ± 25.8 iken kontrol grubunda 25.4 ± 10.5 olarak bulundu. Bruselloz ve kontrol gruplarında anlamlı olarak fark yoktu

($p=0.319$). ALT düzeylerinde bruselloz grubu 27.5 ± 24.7 , kontrol grubu 21.6 ± 8.9 olarak bulundu. İki grup arasında düzeyler benzerdi ($p=0.160$).

Kr düzeyleri ise bruselloz grubu 0.7 ± 0.2 ve kontrol grubu 0.8 ± 0.2 olarak bulundu. İki grup arasındaki düzeyler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.023$).

WBC düzeylerine bakıldığında bruselloz grubunda 6.3 ± 2.1 iken kontrol grubunda 7.7 ± 1.8 olarak saptandı. Bruselloz ve kontrol grubu arasında anlamlı fark vardı. ($p=0.003$). Kontrol grubunda WBC ortalaması daha yüksek bulundu.

Hb ve Hct düzeylerine bakıldığında, Hb, bruselloz grubunda 13.6 ± 1.7 ve kontrol grubunda ise 14.0 ± 1.8 olarak bulundu. Değerler birbirine yakın ve benzerdi ($p=0.370$). Hct düzeylerinde ise bruselloz grubu 40.3 ± 4.7 , kontrol grubu ise 41.9 ± 5.1 olarak bulundu ve düzeyler birbirine yakın ve benzerdi ($p=0.148$).

PLT düzeyleri bruselloz grubu 224850.0 ± 71379.3 ve kontrol grubu 230450.0 ± 40787.1 olarak bulundu. Bruselloz ve kontrol gruplarında değerler benzerdi ($p=0.668$).

Sedimentasyon düzeyi bruselloz grubunda 22.4 ± 16.3 ve kontrol grubu 10.8 ± 10.5 olarak saptandı. Bruselloz ve kontrol gruplarında anlamlı olarak farklılık tespit edildi ($p=0.001$).

CRP düzeyleri bruselloz grubunda 16 (% 40) kişide yüksek, 24 kişide (% 60) ise bulundu. Kontrol grubunun tamamında 40 (% 100) ise normaldi. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$). Çalışmamızda sedimentasyon, CRP ve WBC düzeyleri literatürle uyumlu bulundu.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın bulguları, bugüne kadar bildirilen enfeksiyon hastalıkları ve ADMA düzeyleri arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. ADMA düzeylerindeki bu yüksekliğin, brusellozun vaskülitteki rolü konusunda yeni yorumlar yapılmasına olanak sağlayacağı ve yeni tedavi yöntemlerinin gündeme gelebileceği kanaatindeyiz. ADMA ile bruselloz arasındaki ilişkinin altında yatan mekanizmayı açıklığa kavuşturmak için hücre kültürü çalışmalarını da içeren kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Gwida, M., Al Dahouk, S., Melzer, F., Rösler, U., Neubauer, H., Tomaso, H. (2010). Brucellosis- regionally emerging zoonotic disease? *Croat Med J*, 51(4), 289-95.
2. El-Koumi, MA., Afify, M., Al-Zahrani, SH. (2013). A prospective study of brucellosis in children: relative frequency of pancytopenia. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 5(1), e2012011.
3. Seleem, MN., Boyle, SM., Sriranganathan, N. (2010). Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Vet Microbiol*, 140(3-4), 392-8.
4. Yilma, M., Mamo, G., Mammo, B. (2016). Review on Brucellosis Sero-prevalence and Ecology in Livestock and Human Population of Ethiopia. *Achievements in the Life Sciences*, 10(1), 80-86.
5. Moreno, E. (2014). Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Front Microbiol*, (5), 213.
6. Wyatt, HV. (2000). Dr G Caruana Scicluna, the first Maltese microbiologist. *J Med Biogr*, 8(4), 191-3.
7. Wyatt, HV. (2005). How Themistocles Zammit found Malta Fever (brucellosis) to be transmitted by the milk of goats. *J R Soc Med*, 98(10), 451-4.
8. Wyatt, HV. (2009). James Crawford Kennedy and the sexual transmission of brucellosis. *J. R. Army. Med. Corps*, 155(1), 239-40.
9. Bang, B. (1897). The etiology of epizootic abortion. *J Comp Pathol Ther*, (10), 125-49.
10. Evans, AC. (1918). Further studies on bacterium abortus and related bacteria: a comparison of bacterium abortus with bacterium bronchisepticus and with the organism that causes Malta fever. *J Infect Dis*, 22(6), 580-93.

11. Meyer, KF., Shaw, EB. (1920). A comparison of the morphologic, cultural and biochemical characteristics of *B. abortus* and *B. melitensis* studies on the genus *Brucella* Nov. Gen. I. *J Infect Dis*, 27(3), 173-84.
12. Jahans, KL., Foster, G., Broughton, ES. (1997). The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Vet Microbiol*, 57(4), 373-82.
13. Carmichael, Le., Shin, SJ. (1996). Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)*, 11(3), 161-5.
14. Batut, J., Andersson, SG., O'Callaghan, D. (2004). The evolution of chronic infection strategies in the alpha-protobacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2(12), 933-45.
15. Wattam, AR., Inzana, TJ., Williams, KP., Mane, SP., Shukla, M., Almeida, NF., Dickerman, AW., Mason, S., Moriyón, I., O'Callaghan, D., Whatmore, AM., Sobral, BW., Tiller, RV., Hoffmaster, AR., Frace, MA., De Castro, C., Molinaro, A., Boyle, SM., De, BK., Setubal, JC. (2012). Comparative genomics of early-diverging *Brucella* strains reveals a novel lipopolysaccharide biosynthesis pathway. *MBio*, 3(5), 246-11.
16. Foster, G., Osterman, BS., Godfroid, J., Jacques, I., Cloeckert, A. (2007). *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57(Pt 11), 2688-93.
17. Sholz, HC., Hubalek, Z., Sedláček, I., Vergnaud, G., Tomaso, H., Al Dahouk, S., Melzer, F., Kämpfer, P., Neubauer, H., Cloeckert, A., Maquart, M., Zygmunt, MS., Whatmore, AM., Falsen, E., Bahn, P., Göllner, C., Pfeffer, M., Huber, B., Busse, HJ., Nöckler, K. (2008). *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int J syst Evol Microbiol*, 58 (Pt 2), 375-82.
18. Scholz, HC., Nöckler, K., Göllner, C., Bahn, P., Vergnaud, G., Tomaso, H., Al Dahouk, S., Kämpfer, P., Cloeckert, A., Maquart, M., Zygmunt, MS.,

- Whatmore, AM., Pfeffer, M., Huber, B., Busse, HJ., De, BK. (2010). *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int J Syst Evol Microbiol*, 60(Pt4), 801-8.
19. Percin, D. (2013). Microbiology of *Brucella*. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 8(1), 13-7.
20. Murray, PR., Corbel, MJ. (2005). In: Borriello, SP., Murray, PR., Funke, G., Eds. *Brucella*. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Tenth edition. London: Hodder Arnold, 1719-51.
21. Falenski, A., Mayer-Scholl, A., Filter, M., Göllner, C., Appel, B., Nöckler, K. (2011). Survival of *Brucella* spp. in mineral water, milk and yogurt. *Int J Food Microbiol*, (145), 326-30.
22. Rittig, MG., Kaufmann, A., Robins, A., Shaw, B., Sprenger, H., Gemsa, D., Foulongne, V., Rouot, B., Dornand, J. (2003). Smooth and rough lipopolysachharide phenotypes of *Brucella* induce different intracellular trafficking and cytokine/chemokine release in human monocytes. *J Leukoc Biol*, 74(6), 1045-55.
23. Nielsen, K., Yu, WL. (2010). Serological diagnosis of brucellosis. *Prilozi*, 31(1), 65-89.
24. Corbel, MJ. (1997). Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis*, 3(2), 213-21.
25. Martirosyan, A., Moreno, E., Gorvel, JP. (2011). An evolutionary strategy for a stealthy intracellular *Brucella* pathogen. *Immunol Rev*, 240(1), 211-34.
26. Roop, RM., Gaines, JM., Anderson, ES., Caswell, CC., Martin, DW. (2009). Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. *Med Microbiol Immunol*, 198(4), 221-38.
27. De Jong, MF., Rolán, HG., Tsolis, RM. (2010). Innate immune encounters of the (Type) 4th kind: *Brucella*. *Cell Microbiol*, 12(9), 1195-202.

28. Cardoso, PG., MAcado, Gc., Azevedo, V., Oliveira, SC. (2006). Brucella spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. *Microb Cell Fact*, (5), 13.
29. Haag, AF., Myka, KK., Arnold, MFF., Caro-HernándezP, Ferguson, GP. (2010). Importance of Lipopolysaccharide and Cyclic β -1,2-Glucans in Brucella-Mammalian Infections. *Int J Microbiol*, 124-509.
30. Young, EJ. (1995). An overview of human brucellosis. *Clin Infect Dis*, 21(2), 283-9.
31. Jimenez de Bagues, MP., Dudal, S., Dornand, J., Gross, A. (2005). Cellular bioterrorism: how Brucella corrupts macrophage physiology to promote invasion and proliferation. *Clin Immunol*, 114(3), 227-38.
32. Selleem, MN., Boyle, SM., Sriranganathan, N. (2008). Brucella: a pathogen without classic virulence genes. *Vet Microbiol*, 129(1-2), 1-14.
33. Fugier, E., Pappas, G., Gorvel, JP. (2007). Virulence factors in brucellosis: implications for aetiopathogenesis and treatment. *Expert Rev Mol Med*, 9(35), 1-10.
34. Guzman-Verri, C., Manterola, L., Sola-Landa, A., Parra, A., Cloeckert, A., Garin, J., Gorvel, JP., Moriyon, I., Moreno, E., Lopez-Goni, I. (2002). The two-component system BVrR/BvrS essential for Brucella abortus virulence regulates the expression of outer membrane proteins with counterparts in members of the Rhizobiaceae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99(19), 12375-80.
35. Roop, RM., Bellaire, BH., Valderas, MW., Cardelli, JA. (2004). Adaptation of the Brucellae to their intracellular niche. *Mol Microbiol*, 52(3), 621-30.
36. Gee, JM., Valdera, MW., Kovach, ME., Grippe, VK., Robertson, GT., NgWL, Richardson, JM., Winkler, ME., Roop, RM. (2005). The Brucella abortus Cu, Zn, superoxide dismutase is required for optimal resistance to oxidative killing by murine macrophages and wild-type virulence in experimentally infected mice. *Infect Immun*, 73(5), 2873-80.

37. Hornback, ML., Roop, RM. (2006). The *Brucella abortus* xthA-1 gene product participates in base excision repair and resistance to oxidative killing but is not required for wild-type virulence in the mouse model. *J Bacteriol*, 188(4), 1295-300.
38. Halling, SM., Peterson Burch, BD., Bricker, BJ., Zuerner, RL., Qing, Z., Li, LL., Kapur, V., Alt, DP., Olsen, SC. (2005). Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *J Bacteriol*, 187(8), 2715-26.
39. Kim, JA., Sha, Z., Mayfield, JE. (2000). Regulation of *Brucella abortus* catalase. *Infect Immun*, 68(7), 3861-6.
40. Sangari, F., Seoane, A., Rodriguez, MC., Agüero, J., García Lobo, JM. (2007). Characterization of the urease operon of *Brucella abortus* and assessment of its role in virulence of the bacterium. *Infect Immun*, 75(2), 774-80.
41. Endley, S., McMurray, D., Ficht, TA. (2001). Interruption of the *cydB* locus in *Brucella abortus* attenuates intracellular survival and virulence in the mouse model. *J Bacteriol*, 183(8), 2454-62.
42. Seimenis, A., Morelli, D., Mantovani, A. (2006). Zoonoses in the Mediterranean region. *Ann Ist Super Sanita*, 42(4), 437-45.
43. Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L., Tsianos, EV. (2006). The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, 6(2), 91-9.
44. Donev, D., Karadzovski, Z., Kasapinov, B., Lazarevik, V. (2010). Epidemiological and public health aspects of brucellosis in the Republic of Macedonia. *Prilozi*, 31(1), 33-54.
45. Russo, G., Pasquali, P., Nenova, R., Alexandrov, T., Ralchev, S., Vullo, V., Rezza, G., Kantardjiev, T. (2009). Reemergence of human and animal brucellosis, bulgaria. *Emerg Infect Dis*, 15(2), 314-6.
46. Farina, F., Fuser, R., Rossi, M., Scotton, PG. (2008). Brucellosis outbreak in Treviso province caused by infected cheese from an endemic area. *Infez Med*, 16(3), 154-7.

47. Yumuk, Z., O'Callaghan, D. (2012). Brucellosis in Turkey -- an overview. *Int J Infect Dis*, 16(4), 228-35.
48. Kilic, S., Ivanov, IN., Durmaz, R., Bayraktar, MR., Ayaslioglu, E., Uyanik, MH., Aliskan, H., Yasar, E., Bayramoglu, G., Arslantürk, A., Vergnaud, G., Kantardjiev, TV. (2011). Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis genotyping of human Brucella isolates from Turkey. *J Clin Microbiol*, 49(9), 3276-83.
49. Refai, M. (2002). Incidence and control of brucellosis in the Near East region. *Vet Microbiol*, 90(1-4), 81-110.
50. Pappasi, G. (2010). The changing Brucella ecology: a novel reservoirs, new threats. *Int J Antimicrob Agents*, 36(1), 8-11.
51. Durusoy, R., Karababa, AO. (2010). Completeness of hepatitis, brucellosis, syphilis, measles and HIV/AIDS surveillance in Izmir, Turkey. *BMC Public Health*, (10), 71.
52. Doguer, M., Yilmaz, S. (1963). Brucellosis in Turkey. *Etlik Vet Bakt Enst Derg*, (2), 1-20.
53. Celik, O. (1937). A case of abortus. *Turk Tip Cem Mecmuasi*, (3), 14-6.
54. Golem, SB. (1949). The situation of brucellosis in Turkey. *Turk Hij Tec Biyol Derg*, (9), 32-63.
55. Akyay, N., Gursel, A. (1957). An outbreak of brucellosis and brucellosis in Turkey. *Turk Hij Tec Biyol Derg*, (7), 208-15.
56. Cetin, ET., Coral, B., Bilgiy, A., Bigehan, H., Sipahioglu, O., Gurel, M. (1990). Incidence of human brucellosis in Turkey. *Doga Rr J Medical Sciences*, (14), 324-34.
57. Kose, S., Smits, HL., Abdoel, TH., Ozbel, Y. (2006). Prevalence of Brucella antibodies in rural and suburban communities in three provinces of Turkey: need for improved diagnosis and prevention. *J Infect*, (53), 308-14.

58. Doganay, M., Aygen, B. (2003). Human brucellosis: an overview. *Int J Infect Dis*, 7(3), 173-82.
59. Ulu-Kilic, A., Metan, G., Alp, E. (2013). Clinical presentations and diagnosis of brucellosis. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 8(1), 34-41.
60. Karahocagil, MK. (2012). Clinical Manifestations. *Turkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics*, 5(1), 24-33.
61. Colmenero, JD., Reguera, JM., Fernández-Nebro, A., Cabrero-Franguelo, F. (1991). Osteoarticular complications of brucellosis. *Ann Rheum Dis*, 50(1), 23-6.
62. Turan, H., Serefhanoglu, K., Karadeli, E., Togan, T., Arslan, H. (2011). Osteoarticular involvement among 202 brucellosis cases identified in Central Anatolia region of Turkey. *Inter Med*, 50(5), 421-8.
63. Pappas, G., Akritidis, N., Bosilkovski, M., Tsianos, E. (2005). Brucellosis. *N Engl J Med*, 352(22), 2325-36.
64. Aygen, B., Doganay, M., Sumerkan, B., Yildiz, O., Kayabas, U. (2002). Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: A retrospective evaluation of 480 patients. *Med Mal Infect*, 32(9), 485-93.
65. Ugarriza, LF., Porras, LF., Lorenzana, LM., Rodríguez-Sánchez, JA., García-Yagüe, LM., Cabezudo, JM. (2005). Brucellar spinal epidural abscesses. Analysis of eleven cases. *Br J Neurosurg*, 19(3), 235-40.
66. Alp, E., Koc, RK., Durak, AC., Yildiz, O., Aygen, B., Sumerkan, B., Doganay, M. (2006). Doxycycline plus streptomycin versus ciprofloxacin plus rifampicin in spinal brucellosis. *BMC Infect Dis*, (6), 72.
67. Demiraslan, H., Metan, G., Mese, EA., Yildiz, O., Aygen, B., Sumerkan, B., Doganay, M. (2009). Neurobrucellosis: an evaluation of a rare presentation of brucellosis from a tertiary care centre in Central Anatolia, Turkey. *Trop Doct*, 39(4), 233-5.

68. Gul, HC., Erdem, H., Bek, S. (2009). Overview of neurobrucellosis: a pooled analysis of 187 cases. *Int J Infect Dis*, 13(6), 339-43.
69. Eren, S., Bayam, G., Ergönül, O., Celikbas, A., Pazvantoğlu, O., Baykam, N., Dokuzoğuz, B., Dilbaz, N. (2006). Cognitive and emotional changes in neurobrucellosis. *J Infect*, 53(3), 184-9.
70. Kizilkilic, O., Calli, C. (2011). Neurobrucellosis. *Neuroimaging Clin N Am*, 21(4), 927-37.
71. Reguera, JM., Alarcón, A., Miralles, F., Pachón, J., Juárez, C., Colmenero, JD. (2003). Brucella endocarditis: clinical, diagnostic, and therapeutic approach. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 22(11), 647-50.
72. Sasmazel, A., Baysal, A., Fedakar, A., Buğra, O., Ozkokeli, M., Büyükbayrak, F., Keleş, C., Göçer, S., Sunar, H., Zeybek, R. (2010). Treatment of Brucella endocarditis: 15 years of clinical and surgical experience. *Ann Thorac Surg*, 89(5), 1432-6.
73. Aziz, S., Al-Anazi, AR., Al-Asla, AI. (2005). A review of gastrointestinal manifestations of Brucellosis. *Saudi J Gastroenterol*, 11(1), 20-7.
74. Demirdal, T., Okur, N., Demirturk, N. (2011). Spontaneous splenic rupture with hematoma in a patient with brucellosis. *Chang Gung Med J*, 34(6), 52-5.
75. Papatsoris, AG., Mpadra, FA., Karamouzis, MV., Frangides, CY. (2002). Endemic brucellar epididymo-orchitis: a 10-year experience. *Int J Infect Dis*, 6(4), 309-13.
76. Coskun, O., Gul, HC., Mert, G., Besirbellioglu, B., Erdem, H., Eyigun, C. (2009). Brucellar epididymo-orchitis: A retrospective study. *Balkan Med J*, 26(3), 220-25.
77. Pappas, G., Bosilkovski, M., Akritidis, N., Mastora, M., Krteva, L., Tsianos, E. (2003). Brucellosis and the respiratory system. *Clin Infect Dis*, 37(7), 95-9.

78. Balabanova-Stefanova, M., Starova, A., Arsovska-Bezhoska, I. (2010). Cutaneous manifestations of brucellosis. *Macedonian J Medical Sci*, 3(3), 257-62.
79. Rolando, I., Olarte, L., Vilchez, G., Lluncor, M., Otero, L., Paris, M., Carrillo, C., Gotuzzo, E. (2008). Ocular manifestations associated with brucellosis: a 26 year experience in Peru. *Clin Infect Dis*, 46(9), 1338-45.
80. Araj, GF. (2010). Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *Int J Antimicrob Agents*, 36(1), 12-7.
81. Al Dahouk, S., Nöckler, K. (2011). Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy, *Expert Rev Anti Infect Ther*, 9(7), 833-45.
82. Baysallar, M., Aydogan, H., Kilic, A., Kucukkaraarslan, A., Senses, Z., Doganci, L. (2006). Evaluation of the BacT/ALERT and BACTEC 9240 automated blood culture systems for growth time of Brucella species in a Turkish tertiary hospital. *Med Sci Monit*, 12(7), 235-8.
83. Al Dahouk, S., Tomaso, H., Nöckler, K., Neubauer, H., Frangoulidis, D. (2003). Laboratory-based diagnosis of brucellosis—a review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of Brucella spp. *Clin Lab*, 49(9-10), 487-505.
84. Cekovska, Z., Petrovaska, M., Jankoska, G., Panovski, N., Kaftandzieva, A. (2010). Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of brucella blood culture isolates. *Prilozi*, 31(1), 117-32.
85. Gómez, MC., Nieto, JA., Rosa, C., Geijo, P., Escribano, MA., Muñoz, A., López, C. (2008). Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clin Vaccine Immunol*, 15(6), 1031-3.
86. Díaz, R., Casanova, A., Ariza, J., Moriyón, I. (2011). The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLoS Negl Trop Dis*, 5(4), 950.

87. Al Dahouk, S.; Tomaso, H., Nöckler, K., Neubauer, H., Frangoulidis, D. (2003). Laboratory-based diagnosis of brucellosis – a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. *Clin Lab*, 49(11-12), 577-89.
88. Mert, A., Ozaras, R., Tabak, F., Bilir, M., Yilmaz, M., Kurt, C., Ongoren, S.; Tanriverdi, M., Ozturk, R. (2003). The sensitivity and specificity of Brucella agglutination tests. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 46(4), 241-3.
89. Colak, H., Usluer, G., Ozgünes, I., Karagüven, B., Barlas, S. (1992). Comparison of the Wright, indirect Coombs and enzyme immunoassay IgG methods for the diagnosis of chronic brucellosis. *Mikrobiyol Bul*, 26(1), 56-60.
90. Orduña, A., Almaraz, A., Prado, A., Gutierrez, MP., Garcia-Pascual, A., Dueñas, A., Cuervo, M., Abad, R., Hernández, B., Lorenzo, B., Bratos, MA., Torres, AR. (2000). Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol*, 38(11), 4000-5.
91. Casao, MA., Navvaro, E., Solera, J. (2004). Evaluation of Brucellapt for the diagnosis of human brucellosis. *J Infect*, 49(2), 102-8.
92. Serra, J., Velasco, J., Godoy, P., Medoza, J. (2001). Can the Brucellapt test be substituted for the Coombes test in the diagnosis of human brucellosis? *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 19(5), 202-5.
93. Casanova, A., Ariza, J., Rubio, M., Masuet, C., Díaz, R. (2009). BrucellaCapt versus classical tests in the serological diagnosis and management of human brucellosis. *Clin Vaccine Immunol*, 16(6), 844-51.
94. Araj, GF. (1997). Enzyme-linked immunosorbent assay, not agglutination, is the test of choice for the diagnosis of neurobrucellosis. *Clin Infect Dis*, 25(4), 942.
95. Araj, GF., Awar, GN. (1997). The value of ELISA vs negative Coombs findings in the serodiagnosis of human brucellosis. *Serodiag Immunother Infect Dis*, 8(3-4), 169-72.

96. Araj, GF., Kattar, MM., Fattouh, LG., Bajakian, KO., Kobeissi, SA. (2005). Evaluation of the PANBIO Brucella immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human brucellosis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 12(11), 1334-5.
97. Araj, GF., Dhar, R., Lastimoza, JL., Haj, M. (1990). Indirect fluorescent antibody test versus enzyme linked immunosorbent assay and agglutination tests in the serodiagnosis of patient with brucellosis. *Serodiag Immunother Infect Dis*, (4), 1–8.
98. Smits, HL., Abdoel, TH., Solera, J., Clavijo, E., Diaz, R. (2003). Immunochromatographic Brucella-specific immunoglobulin M and G lateral flow assays for rapid serodiagnosis of human brucellosis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 10(6), 1141-6.
99. Mizanbayeva, S., Smith, HL., Zhalilova, K., Abdoel, TH., Kozakov, S., Ospanov, KS., Elzer, PH., Douglas, JT. (2009). The evaluation of a user-friendly lateral flow assay for the serodiagnosis of human brucellosis in Kazakhstan. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 65(1), 14-20.
100. Kattar, MM., Zalloua, PA., Araj, GF., Samaha-Kfoury, J., Shbaklo, H., Kani, SS., Khalife, S., Deeb, M. (2007). Development and evaluation of real-time polymerase chain reaction assays on whole blood and paraffin-embedded tissues for rapid diagnosis of human brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 59(1), 23-32.
101. Queipo-Ortuño, MI., Colmenero, JD., Bravo, MJ., Garcia- Ordoñez, MA., Morata, P. (2008). Usefulness of a quantitative real-time PCR assay using serum samples to discriminate between inactive, serologically positive and active human brucellosis. *Clin Microbiol Infect*, 14(12), 1128-34.
102. Al Dahouk, S., Neubauer, H., Hensel, A., Schöneberg, I., Nöckler, K., Alpers, K., Merzenich, H., Stark, K., Jansen, A. (2007). Changing epidemiology of human brucellosis, Germany, 1962–2005. *Emerg Infect Dis*, 13(12), 1895-1900.

103. Ariza, J., Bosilkovski, M., Cascio, A., Colmenero, JD., Corbel, MJ., Falagas, ME., Memish, ZA., Roushan, MR., Rubinstein, E., Sipsas, NV., Solera, J., Young, EJ., Pappas, G. (2007). International Society of Chemotherapy; Institute of Continuing Medical Education of Ioannina. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21 st century: the Ioannina recommendations. *PLoS Med*, 4(12), 317.
104. Skalsky, K., Yahav, D., Bishara, J., Pitlik, S., Leibovici, L., Paul, M. (2008). Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*, 336(7646), 701-4.
105. Solera, J. (2010). Update on brucellosis: therapeutic challenges. *Int J Antimicrob Agents*, 36(1), 18-20.
106. Vilchez, G., Espinoza, M., D'Onadiao, G., Saona, P., Gotuzzo, E. (2015). Brucellosis in pregnancy: clinical aspects and obstetric outcomes. *Int J Infect Dis*, 95-100.
107. Vallance, P., Leiper, J. (2004). Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(6), 1023-30.
108. Beltowski, J., Kedra, A. (2006). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacol Rep*, 58(2), 159-78.
109. Sibal, L., Agarwal, SC., Home, PD., Boger, RH. (2010). The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. *Curr Cardiol Rev*, 6(2), 82-90.
110. Tain, YL., Hsu, CN. (2017). Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins (Basel)*, 9(3), pii:E92.
111. Bode-Böger, SM., Scalera, F., Ignarro, LJ. (2007). The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther*, 114(3), 295-306.

112. Teerlink, T., Luo, Z., Palm, F., Wilcox, CS. (2009). Cellular ADMA: regulation and action. *Pharmacol Res*, 60(6), 448-60.
113. Rodionov, RN., Martens-Lobenhoffer, J., Brilloff, S., Hohenstein, B., Jarzebska, N., Jabs, N., Kittel, A., Maas, R., Weiss, N., Bode-Böger, SM. (2014). Role of alanine:glyoxylate aminotransferase 2 in metabolism of asymmetric dimethylarginine in the settings of asymmetric dimethylarginine overload and bilateral nephrectomy. *Nephrol Dial Transplant*, 29(11), 2035-42.
114. Palm, F., Onozato, ML., Luo, Z., Wilcox, CS. (2007). Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 293(6), 3227-45.
115. Tsikas, D. (2008). A critical review and discussion of analytical methods in the L-arginine/nitric oxide area of basic and clinical research. *Anal Biochem*, 379(2), 139-63.
116. Tsikas, D., Beckmann, B., Gutzki, FM., Jordan, J. (2011). Simultaneous gas chromatography-tandem mass spectrometry quantification of symmetric and asymmetric dimethylarginine in human urine. *Anal Biochem*, 413(1), 60-2.
117. Hui, Y., Wong, M., Kim, JO., Love, J., Ansley, DM., Chen, DD. (2012). A new derivatization method coupled with LC-MS/MS to enable baseline separation and quantification of dimethylarginines in human plasma from patients to receive on-pump CABG surgery. *Electrophoresis*, 33(12), 1911-20.
118. Boelaert, J., Schepers, E., Glorieux, G., Eloit, S., Vanholder, R., Lynen, F. (2016). Determination of Asymmetric and Symmetric Dimethylarginine in Serum from Patients with Chronic Kidney Disease: UPLC-MS/MS versus ELISA. *Toxins (Basel)*, 8(5), 149.
119. Horowitz, JD., Heresztyn, T. (2007). An overview of plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in health and disease and in clinical studies: methodological considerations. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 851(1-2), 42-50.

120. Böger, RH., Ron, ES. (2005). L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern Med Rev*, 10(1), 14-23.
121. Böger, RH. (2003). The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res*, 59(4), 824-33.
122. Cooke, JP. (2005). ADMA: its role in vascular disease. *Vasc Med*, 10(1), 11-7.
123. Yamagishi, S., Ueda, S.; Nakamura, K., Matsui, T., Okuda, S. (2008). Role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in diabetic vascular complications. *Curr Pharm Des*, 14(25), 2613-8.
124. Lubos, E., Handy, DE., Loscalzo, J. (2008). Role of oxidative stress and nitric oxide in atherothrombosis. *Front Biosci*, (13), 5323-44.
125. Sydow, K., Münzel, T. (2003). ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl*, 4(4), 41-51.
126. Schlesinger, S., Sonntag, S.; Lieb, W., Maas, R. (2016). Asymmetric and Symmetric Dimethylarginine as Risk Markers for Total Mortality and Cardiovascular Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *PLoS One*, 11(11), e0165811.
127. Goonasekera, CD., Rees, DD., Woolard, P., Friend, A., Shah, V., Dillon, MJ. (1997). Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens*, 15(8), 901-9.
128. Böger, RH., Bode-Böger, SM., Thiele, W., Junker, W., Alexander, K., Förlich, JC. (1997). Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*, 95(8), 2068-74.
129. Usui, M., Matsuoka, H., Miyazaki, H., Ueda, S., Okuda, D., Imaizumi, T. (1998). Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci*, 62(26), 2425-30.
130. Böger, RH., Bode-Böger, SM., Szuba, A., Tsao, PS., Chan, JR., Tangphao, O., Blaschke, TF., Cooke, JP. (1998). Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a

novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*, 98(18), 1842-7.

131. Pettersson, A., Hedner, T., Milsom, I. (1998). Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 77(8), 808-13.
132. Fard, A., Tuck, CH., Donis, JA., Sciacca, R., Di Tullio, MR., Wu, HD., Bryant, TA., Chen, NT., Torres-Tamayo, M., Ramasamy, R., Berglund, L., Ginsberg, HN., Homma, S., Cannon, PJ. (2000). Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20(9), 2039-44.
133. Yoo, JH., Lee, SC. (2001). Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis*, 158(2), 425-30.
134. Wang, J., Sim, AS., Wang, XL., Salonikas, C., Naidoo, D., Wicken, DE. (2006). Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease. *Atherosclerosis*, 184(2), 383-8.
135. Charitidou, C., Farmakiotis, D., Zournatzi, V., Pidonia, I., Pegiou, T., Karamanis, N., Hatzistilinaou, M., Katsikis, I., Panidis, D. (2008). The administration of estrogens, combined with anti-androgens, has beneficial effects on the hormonal features and asymmetric dimethyl-arginine levels, in women with the polycystic ovary syndrome. *Atherosclerosis*, 196(2), 958-65.
136. Sunnetcioglu, M., Mengeloglu, Z., Baran, AI., Karahocagil, M., Tosun, M., Kucukbayrak, A., Ceylan, MR., Akdeniz, H., Aypak, C. (2014). Asymmetric dimethylarginine levels in patients with cutaneous anthrax: a laboratory analysis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, (13), 12.
137. Lundman, P., Eriksson, MJ., Stühlinger, M., Cooke, JP., Hamsten, A., Tornvall, P. (2001). Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated

- with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol*, 38(1), 111-6.
138. Vallet, B. (2003). Bench-to-bedside review: endothelial cell dysfunction in severe sepsis: a role in organ dysfunction? *Crit Care*, 7(2), 130-8.
139. O'Dwyer, MJ., Dempsey, F., Crowley, V., Kelleher, DP., McManus, R., Ryan, T. (2006). Septic shock is correlated with asymmetrical dimethyl arginine levels, which may be influenced by a polymorphism in the dimethylarginine dimethylaminohydrolase II gene: a prospective observational study. *Crit Care*, 10(5), R139.
140. Sahin, M., Arslan, C., Naziroglu, M., Tunc, SE., Demirci, M., Sutcu, R.; Yilmaz, N. (2006). Asymmetric dimethylarginine and nitric oxide levels as signs of endothelial dysfunction in Behcet's disease. *Ann Clin Lab Sci*, 36(4), 499-54.
141. Ferrero, MC., Bregante, J., Delpino, MV., Barrionuevo, P., Fossati, CA., Giambartolomei, GH., Baldi, PC. (2011). Proinflammatory response of human endothelial cells to Brucella infection. *Microbes Infect*, 13(10), 852-61.
142. Weis, M., Kledal, TN., Lin, KY., Panchal, SN., Gao, SZ., Valantine, HA., Mocarski, ES., Cooke, JP. (2004). Cytomegalovirus infection impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine in transplant arteriosclerosis. *Circulation*, 109(4), 500-5.
143. Kurz, K., Teerlink, T., Sarcletti, M., Weiss, G., Zangerle, R., Fuchs, D. (2012). Asymmetric dimethylarginine concentrations decrease in patients with HIV infection under antiretroviral therapy. *Antivir Ther*, 17(6), 1021-7.
144. Aydemir, S., Eren, H., Tekin, IO., Harmandar, FA., Demircan, N., Cabuk, M. (2010). Helicobacter pylori eradication lowers serum asymmetric dimethylarginine levels. *Mediators Inflamm*, 2010, 685-903.
145. Baranyi, A., Meinitzer, A., Putz-Bankuti, C., Stauber, R., Kapfhammer, HP., Rothenhäusler, HB. (2014). Asymmetric dimethylarginine responses during

interferon- α -induced depression in patients with chronic hepatitis C infection. *Psychosom Med*, 76(3), 197-207.

146. Beltrán, LM., Muñoz, Hernández, R., de Pablo, Bernal, RS., García, Morillo, JS., Egido, J., Noval, ML., Ferrando-Martinez, S., Blanco-Colio, LM., Genebat, M., Villar, JR., Moreno-Luna, R., Moreno, JA. (2014). Reduced STWEAK and increases sCD163 levels in HIV-infected patients: modulation by antiretroviral treatment, HIV replication and HCV co-infection. *PLoS One*, 9(3), e90541.
147. Karakecili, F., Cikman, A., Aydin, M., Gulhan, B. (2018). Asymmetrical Dimethylarginine Levels in Hepatitis B Virus-Positive Patients. *Ann Lab Med*, 38(5), 446-9.
148. Mengeloglu, Z., Sünnetcioglu, M., Tosun, M., Küçükbayrak, A., Ceylan, MR., Baran, AI., Karahocagil, M., Akdeniz, H. (2014). High asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with brucellosis. *Inflammation*, 37(1), 127-31.
149. Parlak, M., Akbayram, S., Doğan, M., Tuncer, O., Bayram, Y., Ceylan, F., Özlük, S., Akbayram, HT., Öner, A. (2015). Clinical manifestations and laboratory findings of 496 children with brucellosis in Van, Turkey. *Pediatr Int*, 57(4), 586-9.
150. Ulug, M., Yaman, Y., Yapici, F., Can-Ulug, N. (2011). Clinical and laboratory features, complications and treatment outcome of brucellosis in childhood and review of the literature. *Turk J Pediatr*, 53(4), 413-24.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onay Sayfası



T.C.
ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : 33216249-604.01.02-E.17835
Konu : Etik Kurul Kararı

13/04/2017

Sayın Muhammed SEZGİN
Temel Tıp Bilimleri Bölümü
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üniversitemiz Etik Kurul Başkanlığının 11/04/2017 tarih ve 4 sayılı oturumunda alınan 4/10 sayılı kararı aşağıya çıkarılmıştır.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Yrd. Doç. Dr. Talat EZMECİ
Klinik Etik Kurul Başkanı

KARAR:04/10

Erzincan Üniversitesi – Sağlık Bakanlığı Mengücekgazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Muhammed SEZGİN’e ait “Brusellozlu Hastalarda Asimetrik Dimetilarginin (ADMA) Düzeyinin Araştırılması” konulu çalışması görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen öğretim üyesinin değerlendirilmek üzere Etik Kurula sunduğu bilimsel çalışmasının; Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği ile ilgili mevzuat hükümleri bakımından uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Yrd. Doç. Dr. Talat EZMECİ tarafından 13.04.2017 tarihinde e-imzalanmıştır.
Konu: Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı 13/04/2017 Tarihinde 4/10 Sayılı Kararıdır.
Telefon : 0 (446) 224 18 18-31037 Belge Geçer: 0 (446) 224 18 19 Ayrıntılı Bilgi İçin: S.GUL Dahili:31037

ÖZGEÇMİŞ

1990 tarihinde Erzincan'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzincan'da tamamladıktan sonra, Erzincan Y.D.A.L (Yabancı Dil Ağırlıklı Lise) lise eğitimini tamamlayarak 2008 yılında mezun oldu. 2009 yılında Osmaniye Korkut ATA Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı. 2014 yılında mezun olarak aynı yıl içerisinde yüksek lisans eğitimine Erzincan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında başladı.

