

**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**BRUSELLOZ TANISINDA SEROLOJİK  
TESTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ozan PABUCÇUOĞLU**

**Tez Danışmanı**  
**Yrd. Doç. Dr. Talat ECEMİŞ**

**Manisa, 2010**

## ÖNSÖZ

Çok değerli anne ve babama, hayat arkadaşım; müstakbel eşim Aysel'e, Tıbbi Mikrobiyoloji ihtisasım boyunca bilimsel bir eğitim ve araştırma ortamı sağlayan, her zaman destek ve hoşgörüsünü gördüğüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Süheyla Sürücüoğlu'na, bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan başta tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Talat Ecemiş olmak üzere anabilim dalımızın saygıdeğer öğretim üyeleri; Prof. Dr. Beril Özbakkaloğlu'na, Prof. Dr. Tamer Şanlıdağ'a, Doç. Dr. Kenan Değerli'ye, Doç. Dr. Sinem Akçalı'ya, Doç. Dr. Hörü Gazi'ye, Doç. Dr. Nuri Özkütük'e, Doç. Dr. Semra Kurutepe'ye, tezimin çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD'dan sayın Prof. Dr. Metin Korkmaz'a ve anabilim dalımız laborantı sayın Mehtap Koçan Bayter'e, ihtisasım sırasında her zaman uyum içinde çalışmalarıyla huzurlu bir iş ortamını paylaştığım asistan arkadaşlarıma, laborant arkadaşlarıma, isimlerini saymadığım üniversitemizin tüm çalışanlarına ve projemizi destekleyen Celal Bayar Üniversitesi Rektörlüğü'ne sonsuz teşekkürler ederim.

Dr. Ozan Pabucçuoğlu

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR

Sayfa

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
1. Tarihçe	3
2. Bakterinin özellikleri	4
2.1. Yapı	4
2.2. Genomik yapı ve sınıflandırma	4
3. Üreme ve biyokimsyal özellikleri	6
4. Antijenik yapı	7
5. Virülans ve patogenez	10
6. Konak immünitesi	12
7. Yaptığı hastalıklar	12
7.1. Subklinik bruselloz	13
7.2. Akut bruselloz	13
7.3. Subakut bruselloz	14
7.4. Kronik bruselloz	14
7.5. Relaps	15
7.6. Komplikasyonlar	15
8. Epidemiyoloji	16
8.1. Bulaşma şekli	18

8.2. Korunma	20
9. Tanı	21
9.1. Laboratuvar tanı	21
9.2. Kültür	21
9.3. Brucella serolojik testler	22
9.3.1. Rose Bengal lam aglütinasyon testi	22
9.3.2. Serum (standart) aglütinasyon testi (SAT)	23
9.3.3. Mikroaglütinasyon testi (MAT)	24
9.3.4. İndirekt Coombs (antihuman globülin) testi	24
9.3.5. Enzim Immuno assay (EIA) testi	24
9.3.6. İndirekt florasan antikor testi:	25
9.3.7. İmmünokromatografik lateral flow Yöntemi	25
9.3.8. Moleküler testler	25
10. Tedavi	26
10.1. Tetrasiklinler	26
10.2. Aminoglikozitler	26
10.3. Trimetoprim/sulfametaksazol	27
10.4. Rifampisin	27
10.5. Florokinolonlar	27
10.6. Sefalosporinler	27
III. GEREÇ VE YÖNTEM	28
IV. BULGULAR	30
V. TARTIŞMA	33
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	38
VII. ÖZET	39
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	40
IX. KAYNAKLAR	41
X. EK	47

## KISALTMALAR

AI:	Avidite indeksi
EIA:	Enzim Immuno assay
IFA:	İndirekt İmmünofloresan Antikor
IgA:	İmmünglobulin A
IgG:	İmmünglobulin G
IgM:	İmmünglobulin M
LPS:	Lipopolisakkarit
MAT:	Mikroaglütinasyon Testi
2-ME:	2-Merkaptoetanol Testi
PCR:	Polymerase Chain Reaction
RB:	Rose Bengal Testi
SAT:	Standart Aglütinasyon Test

## I. GİRİŞ

Bruselloz, birçok hayvan türü ve insanları etkileyen *Brucella* cinsi bakterilerin oluşturduğu sistemik bir hastalıktır. Ortadoğu ve Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede, halk sağlığı ve veterinerlik yönünden temel bir sorun olarak önemi korumaktadır. İnsan brusellozu, oluşan rölaplarla, kronikleşmesi ve reenfeksiyonları ile dalgalı bir seyir izler. Büyük bir çeşitlilik sergileyen hastalık, tanının klinik olarak konmasını zorlaştırmaktadır ve bu nedenle şüpheli brusellozlularda laboratuvar tanı gereklidir (1).

İnsan brusellozunun laboratuvar tanısı kan kültüründen *Brucella* izolasyonuna ve serolojik testlerle spesifik antikorlarının gösterilmesine dayanmaktadır. Ancak *Brucella* cinsi bakteriler yavaş üremekte ve bu yöntem ile vakaların ancak %10-70'inde başarı sağlanmaktadır (2). Kemik iliği aspiratlarında kan kültürlerinden daha çabuk üremektedir. Ayrıca *Brucella* bakterileri biyolojik olarak "risk III patojen" olarak değerlendirilmektedir ve laboratuvar işlemleri personel için kontaminasyon riski yaratmaktadır. Bu nedenlerle brusellozun laboratuvar tanısı sıklıkla serum antikorlarının tespitine dayanmaktadır. Çeşitli laboratuvar testleri bu amaçla kullanılmaktadır. Sıklıkla başvuru olan Rose Bengal (RB) testi *Brucella abortus* antijenlerine karşı antikorları tespit eder ve düşük yalancı pozitifliği ile bir ön tarama testi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır ancak diğer testlerle doğrulanmasının yapılması önerilmektedir (3). 1897 yılında Wright tarafından geliştirilen standart aglütinasyon testi (SAT) karşılaştırılan diğer serolojik testler için bir referans niteliğinde olup, bruselloz tanısında en yaygın kullanılan testtir. Hastalıkta oluşan total antikorlar semikantitatif olarak

tespit edilir. Blokan antikorlarının varlığında negatif sonuç veren SAT için Coombs'lu *Brucella* testi uygulanmaktadır. Bruselloz, semptomların süresine göre temelde üç farklı klinik formu vardır; semptomların süresine göre, akut (ilk 2 ay) subakut (2-12 ay), kronik (> 12 ay). Bu klinik formların dışında, asemptomatik, subklinik, fokal veya komplikasyonlu, relaps ve reinfeksiyon şeklinde de görülebilir. Hastalık sürecinde ortaya çıkan antikorların varlığını tespit etmeye yönelik testler ile hastalığın klinik formunu veya oluş süresi ile ilgili görüş sahibi olunabilir. Bu amaçla 2-merkaptotanol testi (2-ME) kullanılabilir. 2-ME, IgM pentamerinin disülfid bantlarının redüksiyonuna neden olur ve SAT ile IgG titresini tespit edilebilir (4). Son yıllarda spesifik antikor sınıflarının (IgM, IgG, IgA) tespitinde enzim immuno assay (EIA) yüksek duyarlılık ve özgüllük değerleriyle kullanıma girmiştir. Aynı amaçla son yıllarda geliştirilen immünokromatografik lateral flow assay de bu antikorların tespitini yapabilmektedir. Son yıllarda sandviç EIA sistemine dayanan immunocapture aglütinasyon testi de kullanıma girmiştir. Her üç antikor çeşidini Coombs antiserumu kullanılarak tespit etmektedir. Tüm bu testler hastalığın farklı klinik formlarını ve gelişim dönemlerini değerlendirmeye katkı sağlamakla birlikte vakaların çoğunda bu kesin olarak ortaya konulamamakta hastalığın zamanlaması -özellikle ilerleyen veya tekrarlayan vakalarda- serolojik olarak belirlenememektedir (1).

Bazı viral ve paraziter hastalıklarda, antikor afinitesinin olgunlaşması temeline dayanan IgG avidite testi kullanılarak hastalık için akut ve kronik ayırımı yapılabilmekte, hastalığın süreci tahmin edilebilmektedir. Avidite testi bruselloz tanısı için henüz standardize edilmemiş olması nedeniyle rutin kullanıma girmemiştir, ancak bu test akut enfeksiyon ile geçirilmiş enfeksiyon arasındaki ayırımı faydalı olabilir ve bazı araştırmalar brusella için geliştirilebileceğine dair olumlu sonuçlar alınmıştır. (5).

Biz bu çalışmamızda, ön tanısı konmuş farklı klinik formlardaki bruselloz hastaları için rutin olarak kullanılan serolojik testleri (RB, SAT, EIA, 2-ME) karşılaştırmak ve IgG avidite testini uygulayarak sonuçlarını değerlendirmek istedik.

## II. GENEL BİLGİLER

### 1. TARİHÇE

Bruselloz, ilk olarak Hippocrates tarafından humma olarak tanımlanmıştır. 1859 yılında Martson, hastalığın tarifini yapmıştır. İngiliz ordusu doktoru Sir David Bruce 1886'da Malta adasında çalışmalar yaparken Malta Humması sebebiyle ölen hastaların dalak pulpasından hastalık etkenini izole etmiştir. Küçük koklar şeklinde görüldüğünden, "Micrococcus" şeklinde adlandırmıştır. 1897'de Malta'da, Hughes hastalığı "ondülan ateş" olarak adlandırmıştır ve etken bakteriye "Micrococcus melitensis" adını vermiştir. Aynı yıl Malta'da patoloji profesörü olarak çalışan Wright, Gruber ve Durham'ın serum reaksiyonu adlı yöntemini Micrococcus melitensis septisemisinin tanısında kullanmıştır (10). Aynı yıl Bang Danimarka'da sığırlardan bakteriyi izole etmeyi başarmıştır. Fetüsten elde edilen ve düşüğe sebep olan bu bakteriye "*Bacillus abortus*" ismi verilmiştir. Aynı yıl Wright ve arkadaşları bruselloza yakalan hastaların kanında *Brucella. melitensis*'e karşı aglütinlerin mevcudiyetini göstermişler. 1911'de Schröder ve Cotton, 1912'de Smith ve Fabyan inek sütünden *B.abortus*'u izole etmişler; 1914'de de Traum domuzlardan *B. suis*'i izole etmiştir (11). Ülkemizde bruselloz ilk kez 1915 yılında Hüsamettin Kural ve Mahmut S. Akalın tarafından tespit edilmiştir. Hastalık ilk olarak Malta adasında tespit edildiğinden "Malta Humması" veya "Akdeniz Humması" olarak isimlendirilmiştir (12).



## 2. BAKTERİNİN ÖZELLİKLERİ

### 2.1. YAPI

*Brucella* cinsi bakteriler 0,6- 1,5 x 0,5- 0,7 mm boyutlarında, Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, zorunlu aerob hücre içi kokobasillerdir. Genelde tek olarak, bazen ikili, kısa zincir halinde veya küçük gruplar halinde bulunabilirler. (13). Gerçek asit-fast olmadıkları halde zayıf asitlerle dekolorizasyona dirençli olduklarından modifiye Ziehl-Neelsen boyama tekniği ile kırmızı renkte boyanırlar. Bipolar boyanma özelliği göstermezler (14). S şeklinde ve mukoid koloni oluşturan suşlarda kapsül gösterilebilir. Pasajlarla ve R koloni şekillerinde bu kapsüller kaybolur (15).

### 2.2. GENOMİK YAPI VE SINIFLANDIRMA

*Brucella* cinsinin taksonomisi hala net değildir ve çözümlenmemiştir. 16S rRNA gen sekanslarına bağlı olarak *Brucella* ailesi alfa-2 protoeobakteria olarak kategorize edilir ve *Agrobacterium*, *Rickettsia*, *Rhizobium* ve *Rhodobacter* ile yakın filogenetik ilişkileri vardır. Konak tercihi ve patojenitesindeki farklılıklara bağlı olarak *Brucella* altı türe ayrılmıştır: *B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*, *B.ovis*, *B.canis* ve *B.neotomae*. Ancak Verger ve arkadaşları DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarını kullanarak her cinsten 51 suş keşfettiler ve onları tanımladılar. Bu sonuçlarla birlikte tüm türlerin aslında *B.melitensis*'in biyovaryantları olarak kabul edilmesi gerektiğini ileri sürdüler. (16)

Şimdiye kadar altı karasal, üç su *Brucella* türü tanımlanmıştır: *B. melitensis* (keçilerde, koyunlarda, develerde), *B. abortus* (sığırlarda, bufalalarda), *B. suis* (domuz ve vahşi hayvanlarda), *B. canis* (köpeklerde), *B. ovis* (koyunlarda), *B. neotame* (kemiricilerde), *B. dephini*, *B. pinnipediae* ve *B. cetaceae* (fok balığı, balina, yunus balığı gibi deniz memelerinde). İlk dört tür insanları enfekte edebilir, *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, hem

insanlarda hem hayvanlarda en sık hastalık yapan etkenlerdir. Su hayvanları ile ilişkili *Brucella* türlerinin insanlarda da hastalık yaptığı bildirilmiştir (17).

Karbonhidrat ve amino asitlerin sübstrat olarak kullanıldığı oksidatif metabolizma deneyi temeline dayanarak tür ayrımı yapılabilmektedir. *B. abortus* ve *B. neotomae* üre siklusu ara ürünleri dışında bir grup karbonhidrat ve amino asidi okside edebilmektedir. *B. melitensis* aminoasitleri okside edebilmekte ancak i-erythritol ve D-glikoz dışında sadece birkaç karbonhidratı daha okside edebilmektedir. *B. ovis* sadece birkaç amino asidi okside edebilmektedir. *B. canis* ve *B. suis* geniş bir grup karbonhidratı, amino asidi ve üre siklusu ara ürünlerini okside edebilmektedir. Oksidatif metabolizma paterni faj erime paterni ile oldukça yakın bir benzerliğe sahiptir ve her iki işlemde türlerin identifikasyonunda kullanılmaktadır.

*B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis* içindeki biyovaryeler, karbonhidrat gereksinimi, H<sub>2</sub>S üretimi, serolojik özelliklerine ve bazı boyaların bulunduğu ortamda üreme özelliklerine göre birbirlerinden ayırt edilebilmektedir. Biyovaryeler arasında aşı yapımında kullanılan suş, diğer bazı ek testler kullanılarak ayırt edilebilmektedir. *Brucella* cinsinin günümüzde kullanılan sınıflama sistemi Tablo 1'de özetlenmiştir. (10)

**Tablo 1. *Brucella* türlerinin biyotiplerinin ayırıcı karakterleri**

Tür	Biyotip	CO2 ihtiyacı	H2S üretimi	Tiyoninde üreme	Bazik fuksinde Üreme	A*	M*	R*
<i>B.melitensis</i>	1	-	-	+	+	-	+	-
	2	-	-	+	+	+	-	-
	3	-	-	+	+	+	+	-
<i>B.abortus</i>	1	+	+	-	+	+	-	-
	2	+	+	-	-	+	-	-
	3	+	+	+	+	+	-	-
	4	+	+	-	+	-	+	-
	5	-	-	+	+	-	+	-
	6	-	-	+	+	+	-	-
<i>B.suis</i>	1	-,+	+	+	+	-	+	-
	2	-	+	+	-	+	-	-
	3	-	-	+	+	+	-	-
	4	-	-	+	-	+	+	-
	5	-	-	+	-	-	-	-
<i>B.neotomae</i>		-	+	-	-	+	-	-
<i>B.ovis</i>		+	-	+	-	-	-	+
<i>B.canis</i>		-	-	+	-	-	-	+

\*A, M, R antijenleri

### 3. ÜREME VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

*Brucella* cinsi bakteriler, bir çok aminoasiti içeren kompleks besiyerlerine ihtiyaç gösterirler. Tiamin, nikotinamid, biyotin ihtiyaçları üremeleri için esastır. Kan ve serum üremeleri üzerine olumlu etki yapar. *Brucella spp.* için temel enerji üretim kaynağı oksidatif metabolizmadır (15). *B.abortus*'un baz tipleri ve *B.ovis* üremeleri için %10 CO2' ye ihtiyaç gösterirler. Etkenler 20-40 °C arasında ürerlerse de, ortalama 37 °C ve PH 6.6-7.4 optimum üreme koşullarını oluşturur. Etkenlerin izolasyonları ve üretilmeleri için genelde katı besiyerleri kullanılır. Koloniler küçük, kabarık, S tarzında (*B .ovis* ve *B. canis* hariç) ve saydam renkli olup, şebnem tanesi görünümündedirler (15). Tüm *Brucella* türleri katalaz pozitifler, eritrositleri eritmezler, indol ve asetil metil karbinol (Voges-Proskauer) oluşturmazlar, metil red ve o-Nitrophenyl-Beta-D-galactopyranoside (ONPG) negatiftirler, sitratlı besiyerlerinde üremezler (18). *B. neotomae* dışında, besiyerlerinde karbonhidratlardan asit oluşturmazlar. *B. ovis*, *B. neotomae* ve *B. abortus*'un

bazı suşları hariç tüm *Brucella* türleri oksidaz pozitifdir H<sub>2</sub>S ve üreaz aktiviteleri değişkendir. *B. suis* en uzun süre (3-5 gün) ve en fazla miktarda, *B. abortus* orta süre (2gün) ve az miktarda; *B. melitensis* ise en az süre (1 gün kadar) ve en az miktarda H<sub>2</sub>S yapar (19). *B. ovis* hariç diğer türler nitratları indirgerler (15).

*Brucella* cinsi bakteriler organizmadan yeni ayrıldıklarında; besiyerinde yavaş ürerler ve ilk izolasyondan sonra buyyon ve jeloz gibi basit besiyerinde de üremeye alışırlar (19). Jelozdaki kolonileri küçük, yuvarlak, konveks, saydam, şebnem tanesine benzeyen kaygan ve S tipindedir ancak *B. canis* ve *B. ovis* ilk izolasyonlarında R koloni oluştururlar (20). Pigment yapmazlar. *B. melitensis* ve bir kısım *B. abortus* kökenlerinin kolonileri zamanla esmerkahverengi bir renk alır, hemoliz yapmazlar (21).

Karbonhidratlardan asit veya gaz yapmamakla beraber glikozu az miktarda kullanırlar. Jelâtinini eritmezler ve indol oluşturmazlar. Katalaz ve çoğu kez oksidaz olumludurlar. Nitratları nitritlere indirgerler. Asetil metil karbinol (Voges Proskauer) oluşturmazlar. Metil kırmızısı testi olumsuzdur. Üreaz aktivitesi değişken olup en yüksek *B. suis*'te görülmektedir.

*Brucella* bakterilerinin belirli boyalar ile olan ilişkilerinde de bazı farklar görülür, bundan dolayı türlerinin ayırımında bu boyaların eklendiği özel besiyerleri (triptikaz soyagar veya triptoz agar) kullanılmaktadır (19).

**Tablo 2:** *Brucella* türlerinin boya varlığında üreme özellikleri

Tür	Tiyonin	Bazik fuksin	Metil viyole	Pironin
<i>B. melitensis</i>	Ürer	Ürer	Ürer	Ürer
<i>B. abortus</i>	Üremez	Ürer	Ürer	Ürer
<i>B. suis</i>	Ürer	Üremez	Üremez	Üremez

#### 4. ANTİJENİK YAPI

Çeşitli antijenik yapılar tanımlanmış ve patogeneizde, immün yanıtta ve hastalığın tanısındaki rolleri ortaya konulmuştur. Lipopolisakkarit (LPS) temel antijendir ve iki antijenik epitop halinde bulunur: A (*B. abortus*) ve M (*B. melitensis*). LPS molekülünün O spesifik yan zincirleri, *Brucella* türleri ile

*Yersinia enterocolitica* O:9, *Escherichia hermannii*, *Escherichia coli* O:157, *Salmonella* O:30, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Vibrio cholerae* O:1 arasındaki bildirilen çapraz reaksiyondan (aglutinasyon ve kompleman fiksasyon testlerinde) sorumlu olduğu düşünülmektedir (22).

Sitoplazmik, periplazmik, dış membran yapı proteinleri (Omp25 vb.) gibi protein antijenleri immün sistem tarafından tanınmaktadır ve tanıda da kullanılmaktadır. Diğer proteinlerin (ribozomal ve füzyon proteinleri gibi) antikor ve hücre aracılı yanıtı dayanan *Brucella*'ya karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir. Bu tip antijenler potansiyel bir aşılama da faydalı olabilirler.

*Brucella*'nın antijenik içeriğinin önemli bir kısmı karakterize edilmiştir. Ancak antikor salınımını yönlendiren esas antijen lipopolisakkarittir.(LPS) S tipi koloniler içinde bulunan S-LPS; lipid A (iki çeşit aminoglikoz içerir), yağ asitleri, ( $\beta$ -hidroksimirisitik asit dışında), glukoz, mannoz, quinovasamin içeren kor bölge ve yaklaşık 100 tane 4-formamido-4,6 dideoksimannoz kalıntısı içeren homopolimerden oluşan O zincirden oluşur.

Bağlantılardaki farklılıklar LPS epitoplarının şeklini etkilemektedir. A-dominant tip çubuk şeklindedir ve beş birbirini takip eden  $\alpha$ -1,2 bağıyla bağlı rezidülerle belirlenir. Aynı zamanda M-dominant tip  $\alpha$ -1,3 bağıyla bağlı dört rezidüden oluşur. Wilson ve Miles'in hipoteziyle uyumludur. *Escherichia hermannii* ve *Escherichia coli* O:157, *Salmonella* O:30 *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae* O:1 ve *Yersinia enterocolitica* O:9 ile gelişen antijenik çapraz reaksiyondan sorumlu olan LPS içindeki 4-amino, 4-6 dideoksimannozdur. Pürüzsüz olmayan kolonilerdeki (R-LPS) LPS yapısı temelde S-LPS'e benzemektedir. Tek farkı O zincir yoktur veya birkaç rezidü eksiktir. R-LPS'in özelliği geniş ölçüde kor polisakkarit tarafından belirlenir.

Çeşitli iç ve dış membran, sitoplazmik ve periplazmik protein antijenleri ayrıca karakterize edilmiştir. Bir kısmı infeksiyon süresince immün sistem tarafından tanınmaktadır ve potansiyel olarak tanısal testler için yararlıdır. Bu antijenlere dayalı testlerin duyarlılığı düşüktür. Enfekte kişiler LPS'lere kıyasla bireysel protein antijenlerine daha az tutarlı yanıt geliştirirler. Pürifiye insan antijenleri içeren kantitatif testlere göre, örneğin immüno-blot yöntemi gibi

tüm hücre ekstraktlarına karşı uygulanan testler daha fazla avantajlara sahiptir.

Son dönemde, ribozomal proteinler immünolojik olarak önemli komponentler olarak yeniden ortaya çıkmıştır. Ribozomal proteinlere karşı ilgi 20 yıl öncesinde ortaya çıkmaya başlamıştır. L7/L12 ribozomal proteinlerinin hücre aracılı bağışıklığı uyardığı yayımlanmıştır. Brucellin'ler ve füzyon proteinlerinin; *Brucella*'ya karşı koruyucu yanıtın gelişmesini uyardığı gösterilmiştir. Ertelenmiş hipersensitivite yanıtına neden olurlar. (23)

## 5. VİRÜLANS VE PATOGENEZ

*Brucella*'nın virülansı ve patojenitesi ve bakterinin immün sistemden kaçmasının mekanizmaları henüz tam aydınlatılmış değildir. Polimorfonükleer ve mononükleer fagositler içinde yaşayabilmesi, fagozom-lizozom füzyonundan ve immün yanıtta kurtulması bazı faktörler tarafından kolaylaştırılmaktadır. Bu faktörlerden biri üreaz üretme yeteneğidir ve bu faktör mide asidinden korunmayı sağlar. Vakuol içeren *Brucella* LPS ve Cu/Zn süperoksit dismutazdan korunmaktadır. Ardından patojen, lenf nodlarına transfer olur; değişik organlar ve vücut sistemlerine yayılmak üzere sirkülasyona katılır (24).

Virülan *Brucella* organizmaları, fagositik ve nonfagositik hücreleri infekte edebilir. Fagositik olmayan hücrelere invazyon mekanizması net olarak anlaşılabilmiş değildir. Hücre adezyonu ve invazyonunu destekleyen hücre komponentleri karakterize edilebilmiş değildir. Enterobacteriaceae ile homolog olan invazyon genlerinin saptanmasıyla ilgili denemeler sonuç vermemiştir. Nonfagositik hücreler içinde *Brucella*, endoplazmik retikulum içinde yerleşme eğilimindedir. Polimorfonükleer veya mononükleer fagositik hücreler içinde bakterisidal etkiden korunmak için bir dizi mekanizmalar kullanırlar. S-LPS muhtemelen hücre içi korunmasında önemli bir rol oynamaktadır, çünkü düz olan koloniler düz olmayanlara göre daha efektif bir şekilde hücre içi bakterisidal mekanizmalardan korunmaktadırlar. Enterobakterial LPS ile kıyaslandığında, S-LPS çok farklı özelliklere sahiptir. Endotoksin duyarlı

civciv, tavşan ve fare embriyolarını ve makrofajları, hipoferremi ve düşük pirogenisiteyi uyarma aktiviteleri vardır. Ayrıca interferon ve tümör nekrozis faktörün göreceli zayıf bir uyarandır. Ancak paradoks olarak interlekin 12'nin efektif bir uyarandır.

Koruma kısa sürelidir ve tam değildir. Virülan *Brucella*'nın eliminasyonu aktive edilmiş makrofajlara bağlıdır ve bu yüzden protein antijenlerine karşı gelişen Th<sub>1</sub> tipi hücresel bağışıklığın gelişmesine ihtiyaç duyar.

Adenin ve guanin monofosfatın üremesi en önemli virülans faktörüdür. Bu faktör fagolizozom füzyonunu, degranülasyonu tümör nekrozis faktörün oluşumunu ve miyeloperoksidazı inhibe eder. Cu-Zn süperoksit dismutaz erken dönem hücre içi infeksiyonunda önemli bir role sahiptir. Ancak çelişkili sonuçlar rapor edilmiştir ve doğrulanmaya ihtiyaçları vardır. Makrofajlar içinde yaşamak moleküler ağırlığı 17, 24, 28, 60 ve 62 kDa olan proteinlerin sentezi ile ilişkilidir. 24 kDa protein asit ile uyarılır ve üretimi asidik koşullarda (pH4) bakterinin yaşamı ile doğrudan koreledir.

17 ve 28 kDa proteinler özellikle makrofajlar tarafından etkilenirler ve hücre içi yaşam ile bağlantılıdır.

Bir diğer stres proteini olan HtrA, farelerdeki *B. abortus*'a karşı gelişen erken granümatöz yanıtın sunumunda rol alır. Ayrıca erken faz süresince infeksiyonun düzeyini sınırlandırmada da rolü vardır. Buna karşı bakteri sayısının tekrarlayan artışını önleyemez ve htrA eksikliği olan mutantlar, vahşi tip *B.abortus* suşlarına benzer düzeyde dalak enfeksiyonu oluşturur. Benzer şekilde rec-A delesyonu gösteren mutantlar dirençli enfeksiyon oluşturmalarına karşın, rec-A pozitif suşlara göre daha az başlangıç dalak tutulumu gösterirler.

Bruselloz patojenitesinde, demir içeren proteinler ve sideroforların rolü hala bilinmemektedir. Genelde düşük miktarda demir, mikrobial büyümeyi sınırlar. Ancak yüksek demir konsantrasyonları *Brucella*'nın hidrosilamin ve hidrosil radikalleri ile öldürülmesini uyarır.

Doğal konak suşlarında ve insanlarda *Brucella* infeksiyonunun patojenite mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir ve daha başka çalışmaların yapılması gerekmektedir (23).

*Brucella* insan vücuduna akciğer, konjunktiva, orofarinks mukozasından veya derinin bütünlüğünü kaybetmiş bölümlerinden girer. Bakteri mukozayı geçtikten sonra polimorfnüveli lökosit veya histiyositler tarafından hemen fagosite edilir. Vücuda giren bakteri sayısı az ise hemen elimine edilir, ancak sayı fazla ise bir kısmı lenfatik dolaşıma girmeyi başarır ve lenf bezlerine ulaşır; bu aşamadan sonra sinüzitlerde bulunan makrofajlar tarafından fagosite edilir. Vücuda giren bakteri miktarı aşırı derecede fazla ise, fagositer hücreler tümünü fagosite etmeyi başaramaz, bu durumda kana bakteri geçer ve bakteriyemiye neden olur. Kanda dolaşan bakteri, dolaşımdaki polimorfnüveli lökositler ve makrofajlar tarafından fagosite edilerek retikuloendotelial hücrelerden zengin karaciğer, dalak, lenf bezi ve kemik iliği gibi organlara taşınır. Bu organlarda bakteri tamamen elimine edilebilmektedir. Konak savunma sisteminin bakteriyi tamamen elimine edemediği durumlarda bulunmaktadır. Bu durumda ise granülomlar meydana gelir. Meydana gelen granülomların süpürasyonu sonucu bakteri tekrar kana geçerek yineleyen bakteriyemiye neden olmaktadır. Yineleyen bakteriyemi, retikuloendotelial sistem dışında bakterinin kas iskelet sistemi, idrar yolları, optik sinir, akciğer, kardiyovasküler sistem, deri ve yumuşak doku gibi bölgelere lokalizasyonundan kaynaklanabilmektedir.

Bruselloza bağlı patolojik lezyonlar bu nedenle bakterinin girdiği bölgede veya bağışık yanıtta yer alan örneğin lenf bezi, dalak ve kemik iliği gibi organlarda görülebilmektedir. Yineleyen bakteriyemiye bağlı olarak ikincil organlarda lokalizasyonlar görülebilmektedir.

İkincil organlarda bakterinin lokalizasyonu, bu dokularda bağışık yanıtla ilgili doku yıkımı görülebilmesine neden olmaktadır. Çeşitli glomerüler lezyonlar, deride vaskülit ve diğer organlarda immün kompleks depolanmasına bağlı lezyonlar görülebilmektedir (10).



## 6. KONAK İMMÜNİTESİ

Humoral immünite reinfeksiyona karşı korunmada etkili iken, bakterisidal fazda hücresel immünite daha önemli bir görev almaktadır. Enfeksiyonun kontrolü ve eradikasyonu, T-lenfositlerinden salgılanan lenfokinlerin makrofajları aktive etmesi ile sağlanır. İmmün yanıtın başlamasını takiben, *Brucella* protein antijenlerine karşı gelişen geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu oluşan granülomatöz lezyonlar enfeksiyonun sınırlandırılmasında önemli rol oynar (25).

Bağışıklık sistemi mikroorganizmayla karşılaştığında 7-10 gün içinde IgM antikor cevabı, ardından 7-14 gün sonra IgG antikor cevabı meydana gelir. Daha sonra her iki immunoglobulin birlikte artar ve çoğunluğunu IgG oluşturur. İyileşme döneminde, IgG antikorları aylar içinde düşer; IgM antikorları ise infeksiyondan sonra 1-2 yıl, bazen de yıllarca serumda düşük seviyede kalabilir. IgG antikor persistansı veya IgG titresinde ikinci bir artış, sırasıyla persistan enfeksiyon ve relapsı gösterir (26, 27).

## 7. YAPTIĞI HASTALIKLAR

Bruselloz kronikleşebilen bir hastalıktır. Uzun ve değişken inkübasyon periyodu olup, sık tekrarlar görülebilir. Yetişkinlerde ve çocuklarda non-spesifik febril sendrom (periyodik veya ondulan ateş, kas ve sırt ağrıları, bitkinlik, terlemek gibi) oluşabilir. Hastalığın çeşitli evrelerde (akut [0-2 ay], subakut [2-12 ay], ve kronik [ $\geq$ 12 ay]) görülmesi ve çok sayıda organ ve dokunun fokal olarak tutulması da brusellozun özelliklerindedir. Çeşitli ve geniş yelpazedeki infeksiyöz ve non-infeksiyöz hastalıklarla örtüşmesi yanlış tanıya ve diğer hastalıklarla karışabilmesine yol açmaktadır. Bu özelliğinden dolayı “major taklitçi” veya “hataların hastalığı” olarak isimlendirilmektedir. Karıştığı hastalıklar arasında tüberküloz, tifoid ateş, infektif endokardit, leptospiroz, kriptokokus, histoplazmosis, infeksiyöz mononükleoz, kollajen ve vasküler hastalıklar, malarya, kronik yorgunluk sendromu ve malignansi sayılabilir. Bazı hastalar akıl ve ruh sağlığı hastanelerinde yatırılmaktadırlar

ancak brusellozun tanı ve tedavisinden sonra psikiyatrik sorunları çözülmektedir. Kronik olgularda psikiyatrik belirtiler, özellikle depresyon ve mental zorluklar gibi görülmekte ve iyileşmenin gecikmesinin yol açtığı düşünülmektedir (24, 28, 30).

Bruselloz klinik olarak subklinik, akut, subakut ve kronik seyir gösterebilir Hastalığın inkübasyon süresi, genellikle 1-3 hafta olup, birkaç aya uzayabilir

### **7.1 Subklinik Bruselloz**

Bruselloz kimi kez asemptomatik seyir gösterebilir ya da klinik bulgular tam olarak ortaya çıkmadığı halde serolojik bulgular pozitif bulunabilir. Bu seyir özellikle mezbaha işçilerinde, çiftçilerde ve veteriner hekimlerde bildirilmiştir (30).

### **7.2 Akut Bruselloz**

Brusellozun tipik klinik formudur. Semptomların başlamasından itibaren 8 haftaya kadar olan olgular akut olarak kabul edilirler. Hastalık tabloları, hafiften çok ağır seyirli toksik bir tabloya kadar değişik bir spektrum gösterebilir (31). Vakaların %50'sinde ani başlangıç görülür (25). Bu vakalarda tablo, özellikle geceleri 38-39°C'ye ulaşan ateş, genel halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, bol terleme, eklem ağrıları ve adale ağrıları ile karakterizedir. Hastalığın ilk üç dört haftasında iştahsızlık, kabızlık ve kilo kaybına sık rastlanır. Akut başlayan ağır seyirli bruselloz, tıpkı bir sepsis tablosu gibi üşüme-titrete ile yükselen ateş, terleme, yaygın vücut ve eklem ağrıları ile kendini gösterir Buna karşılık hafif ve orta seyirli vakalarda influenzaya benzer, nonspesifik belirtiler mevcuttur. Bu vakaların, risk gruplarında oldukları bilinmiyorsa klinik olarak teşhis edilmeleri zordur (31).

Akut vakalarda ateş ve terleme en sık görülen belirtilerdir (30). Akut vakalarda en sık rastlanan fizik muayene bulguları; ateş, hepato-splenomegali ve medulla spinalis üzerine basmakla duyulan ağrıdır (31).

### 7.3 Subakut Bruselloz

Sekiz haftadan başlayıp 52 haftaya kadar (52 gün- 52 hafta) uzanan çizgide yer alan olgular, subakut olarak kabul edilirler. Antibiyotikler bulunmadan önce en yaygın form subakut brusellozdu. Bu vakaların %90'ı çoğunlukla ilk 6 ay içinde spontan olarak iyileşmekteydi. Yetersiz antibiyotik alarak relaps meydana gelen veya yanlış teşhislerle hatalı antibiyotik verilen hastalar için subakut bruselloz tanımı kullanılmaktadır. Subakut formun klinik paterni çok değişken olduğundan, sebebi bilinmeyen ateş vakalarında akla gelmelidir. Semptomlar akut formdaki gibi olmakla beraber daha hafiftir. Artrit, orşiepididimit, hematolojik tutulum ve göz tutulumuna akut formdan daha sık rastlanırken, hepatosplenomegali ve yüksek ateşe biraz daha az rastlanmaktadır. Subakut vakalarda en sık belirtiler; yorgunluk, sinirlilik, baş ve bel ağrısı ile ondulan ateştir (32).

### 7.4 Kronik Bruselloz:

Hastalık 1 yıldan uzun sürdüğü takdirde, kronikleştiği kabul edilir Kronik seyir 40 yaş üstündeki erişkinlerde sık görülür. Teşhis oldukça güçtür. Kronik bruselloz 4 şekilde ortaya çıkabilir:

- i. Hastalığın sinsi seyir gösterdiği,
- ii. Akut hastalığı izleyerek tekrarlayan nüks ataklarının olduğu,
- iii. Hastalığın lokalize organ tutulumları gösterdiği,
- iv. Hastalığın antibiyotik tedavisine cevap vermediği durumlarda.

Kronik vakaların % 85'i asemptomatik seyirlidir. Bu hastalar kontrol muayenesi sırasında patolojik bulgular tesbit edildiğinde ve bu patolojik bulguların sebepler araştırıldığında ortaya çıkarılırlar (30). Kronik form hastaların %10'unda görülür (54). Semptomatik vakalarda bulgular genellikle nonspesifik olup halsizlik, yorgunluk, sinirlilik, uykusuzluk, labilite, belli belirsiz etraf ağrıları ve başağrısı gibi depresyon belirtileri ön plandadır. Birçok hastada ateşlenme hissi olmakla beraber, çoğu kez dereceyle ölçülen bir ateş tespit edilemez. Bu kliniğiyle kronik bruselloz, kronik yorgunluk

sendromuna benzer (32, 30). Fizik bulgular akut ve subakut vakalardaki kadar zengin değildir. Hepatik ve hematolojik komplikasyonlar nadirdir. Episklerit ve üveit gibi oküler komplikasyonlar ise daha sıktır. Yine depresyon ve nevrasteni gibi psikiyatrik komplikasyonlar kronik vakalarda daha sık görülür (30).

## 7.5 Relaps

Tedaviden sonra hastalığın semptom ve bulgularının tekrarlaması ve/veya tedaviden sonra yeni bir pozitif kan kültürü olması şeklinde tanımlanır. Relaps olguların %10 kadarında görülmektedir. Relapsta klinik ve laboratuvar bulguları başlangıç hastalığından daha hafiftir. Relaps hızı kullanılan ilaçlara ve tedavi süresine göre değişir. Genel olarak kombinasyon tedavisi, monoterapiye göre relapsla daha az ilişkilidir. Antibiyotiğe dirençli suşlar bazen izole edilebilmesine rağmen relapsların çoğundan sorumlu değildir. Relapsın temel nedenleri arasında uzun tedavi süresinin tamamlanmasındaki başarısızlıklar ile cerrahi drenaj gerektiren lokalize infeksiyon odaklarının varlığı yer alır. Hemen hemen tüm relapslar antibiyotik tedavisinin tekrarlamasına cevap verirler (33, 34).

## 7.6 Komplikasyonlar

Genelde en sık rastlanan fokal komplikasyonlar, osteoartiküler (%10-70 en çok eklemler) genital, nörolojik (%3-5), kardiyak(%1-3), pulmoner (%1-2) ve renal (%<1) komplikasyonlardır. Mortalite çok düşüktür (%<1). Basit cerrahi işlem geçiren bazı hastalarda, örneğin herni düzeltilmesi, kolostomi gibi ve açıklanamayan uzamış ateş sonrası brusellozun reaktif olduğu kanıtlanmıştır ve dikkate alınması gerekmektedir (28).

Kas-İskelet Sistemi Tutulumu: Artralji, ostealji, miyalji, periferik artrit, sakroiliit, bursit, tendinit, fibrozit, spondilit, osteit-osteomyelit.

Cilt Tutulumu: Eritem, papül, ürtiker, peteşi, ekzematöz raş, eritema nodosum, ciltaltı abseleri, rubeoliform raş, kutanöz vaskülit.

Kalp Tutulumu: Endokardit, miyokardit, perikardit, aort kökü absesi, anevrizmalar, pulmoner anevrizmalı tromboflebit, pulmoner emboli.

Hematolojik Tutulum: Anemi, lökopeni, trombositopeni, pansitopeni, Evan's sendromu, D.I.C.

Solunum Sistemi Tutulumu: Bronşit, bronkopnömoni, akciğer nodülleri, pulmoner emboli, akciğer absesi, hiler LAP, perihiler infiltrasyon, plevral effüzyon.

Ürogenital Sistem Tutulumu: Orşit, epididimoorşit, interstisyel nefrit, eksüdatif glomerülonefrit, IgA nefropatisi, pyelonefrit, renal abseler, prostatit, seminalvezikülit, dismenore, tuboovaryen abse, salpenjit, servisit, abortus.

Oküler Tutulum: Keratit, korneal ülser, retinopati, endoftalmit, üveit, optik nörit, optik atrofi, papillit, papilla ödemi, optikoasmatik araknoidit, optik nöromiyelit, katarakt, maküla dekolmanı, fitizis bulbi, sekonder glokom.

Gastrointestinal Sistem Tutulumu: Hepatosplenomegali, diyare, konstipasyon, hepatit, transaminaz yüksekliği, dalak ve karaciğer abseleri, nekrotizan hepatik granülom, siroz, splenik nodül, hipersplenizm.

Brusellozlu hastaların %70' inde gastrointestinal sistem tutulumu (karaciğer, safra kesesi, ince ve kalın barsak, pankreas ve periton) vardır ve karın ağrısı, bulantı, kusma, diyare, konstipasyon gibi semptomlarla kendini gösterir

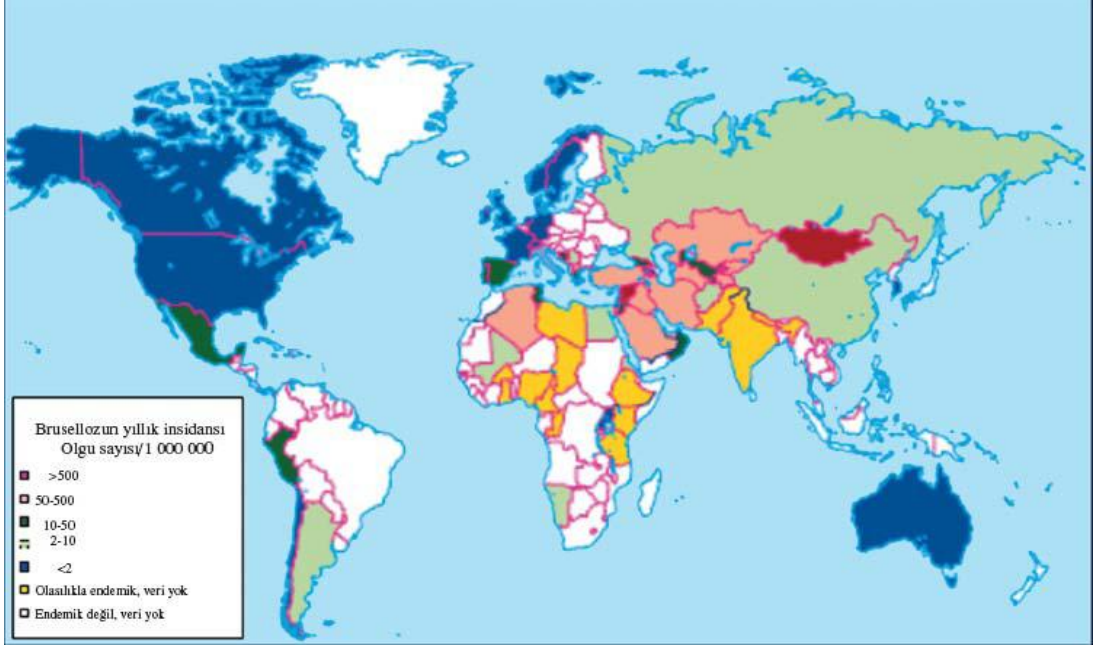
Endokrinolojik Tutulum: Tiroidit, adrenal yetmezlik, uygunsuz ADH salınımı sendromu, hipofiz absesi (35).

## **8 EPİDEMİYOLOJİ**

Bruselloz, en sık görülen zoonotik hastalıklardan biri olup tüm olgularda doğrudan ya da dolaylı olarak hayvan teması söz konusudur. Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle birlikte Akdeniz ülkeleri, Arap yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir. İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da brusellozun eradike edildiği bildirilmiştir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre tüm dünyada her yıl 500 000 yeni olgu belirlenmektedir. Dünyada insan brusellozu insidansı Şekil 1’de görülmektedir (36).

Şekil 1. Dünyada insan brusellozu insidansı



Son çalışmalar bazı ülkelerde bruselloz epidemiyolojisinin değiştiğini göstermektedir. Brusellozun 1985 yılında eradike edildiğini duyuran Japonya’dan Takahashi ve arkadaşları 1996 yılında bir olgu yayımlamıştır. Falkland Adaları 1994 yılında brusellozu eradike ettiklerini açıklamıştır. Kanada’da brusellozun eradike edildiğini açıklamak üzereyken Baffin adasından yapılan bir yayında 100,000 kişide 34 bruselloz olgusu görüldüğü bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri’nde insan brusellozunun epidemiyolojisi *B.suis*’e bağlı bir meslek hastalığı veya *B.melitensis*’e bağlı besinle bulaşan infeksiyon arasında değişkenlik gösterir. Bazı ülkelerde hastalık eradike edilmesine karşın dünyada insan ve hayvan brusellozu artış göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri’nde insan brusellozunun gerçek insidansı bildirilenden 26 kat daha fazladır. Foulon ve arkadaşlarına göre Fransa’da ki bruselloz insidansı bildirilen değerlerden 3-5, subklinik ve gözden kaçan vakalar ise tanı konanlardan 10 kat daha fazladır. Benzer bir

çalışma İspanya'dan yayımlanmış olup bu yayına göre gerçek bruselloz insidansı resmi olarak bildirilenden 10-12 kat kadar dah fazla tahmin edilmektedir. İrlanda'da yapılan bir çalışmada son yıllarda bruselloz insidansının artmakta olduğu bildirilmiştir (10).

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1970 yılında 37 olarak bildirilen olgu sayısı (0,1/ 100 000), 2005 yılına gelindiğinde 14644'e ulaşmıştır (20,32/ 100 000) (12). Bu artışın hastalık prevalansındaki gerçek artıştan çok bildirim ve tanı koyma oranlarındaki artıştan kaynaklandığı tahmin edilebilir. Ülkemizde hastalık bildirimlerinin halen yeterli düzeyde olmadığı dikkate alınır, olasılıkla gerçek bruselloz prevalansı sanıldığından daha yüksektir. 2004yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre bruselloz morbidite hızının en yüksek olduğu iller; Siirt, Van, Iğdır, Batman, Ardahan ve Aksaray olarak bildirilmiştir. Sağlık Bakanlığı'na 2005 yılında Rize ve Bartın illerinden bruselloz olgusu bildirilmemiştir. Türkiye'de brusellozun yıllık mortalite hızı milyonda 0,01 olarak bildirilmiştir. Türkiye'de hastalık etkeni olarak en sık izole edilen tür *B.melitensis*'tir (36). İnsanlar arasında brusellozun belirli bir bölgeye yayılması, o yöredeki hayvancılıkla yakından ilişkilidir. Bir ülkede hangi hayvan türü fazla ise insanlar arasında da o tipin infeksiyonları çoğunluktadır.1982-1986 yılları arasında Türkiye'de bazı illerde yapılan Bruselloz vakaları çalışmasında en fazla odağın, en fazla koyun ve keçi popülasyonuna sahip olan Konya ilinde olduğu görülmüştür.(15)

### **8.1 Bulaşma Şekli:**

Pastörize edilmemiş hayvan sütlerinin ve süt ürünlerinin tüketimi, dünyadaki vakaların çoğunun nedenini oluşturmaktadır. Mesleki enfeksiyon (çoğunlukla veterinerler, klinik çalışanları, laboratuvar araştırmacı ve üreticileri, mezbaha çalışanları) primer olarak respiratuvar, konjunktival ve deri yoluyla bulaşmaktadır (12).

*Brucella* insan vücuduna birçok yoldan girebilir. Bulaşmanın en sık görüldüğü yol hastalığın endemik doğasına ve bir eradikasyon programı olup olmamasına göre değişir. A.B.D. gibi bazı ülkelerde brucelloz bir meslek

hastalığı gibi düşünülürken Suudi Arabistan'da hastalık riski sadece mesleki önem taşımamaktadır.

Oral Yol: Gastrik sıvı *Brucella* türlerine bakterisid etkilidir. Antiasit kullananlarda gastrik sıvı bakterisid etki gösteremediğinde, bulaşma olduğunda hastalığa daha kolay yakalanır. Taze, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi endemik ülkelerde hastalığın başlıca geçiş kaynağıdır. Geleneksel olarak karaciğer, et veya kan gibi diğer hayvansal besinler bazı bölgelerde çiğ tüketildiğinden infeksiyonun ana kaynağını oluşturur. Suudi Arabistan'da koyun veya keçinin kesildiği sırada karaciğerinin yenmesine sık rastlanmaktadır.

Solunum Yolu: Endemik bölgelerde solunum yoluyla *Brucella* bulaşmasının en önemli nedeni geleneksel hayvan bakıcılığıdır. Kırsal kesimlerde insanların bahçelerinde et ve süt gereksinimlerini karşılamak için hayvan besledikleri sık görülür. Koyun ve keçi genellikle ev hayvanı olarak görülür ve çocukların bu hayvanlarla oynamasına, yakın temasta bulunmasına izin verilir. İnhalasyon yoluyla bulaş, çoban, hayvan bakıcısı, çiftçi, çiftlik çalışanları, kasap, mezbaha çalışanları, veteriner ve yardımcılarında sık görülür. İnhalasyon yoluyla bulaş laboratuvar çalışanlarında da sık görülür.

Kutanöz Yol: Mezbaha çalışanlarında deriden hastalığın bulaşması sık görülür. Eldiven giymeden infekte hayvanlarla çalışan veteriner ve çiftçilerin el derisinde lokal alerjik reaksiyonlar görülür ve infeksiyon deri ile temas sonucu meydana gelebilmektedir.

Konjunktival Yol: *Brucella* aşısının yanlışlıkla göze sıçraması hastalığı bulaştırmaktadır. İlk oftalmik daha sonra sistemik bruselloz gelişir.

Otoinokülasyon: Aşılama sırasında kişi enfeksiyonu kendine bulaştırabilir.

Kan Transfüzyonu ve Kemik İliği Transplantasyonu: Bakteriyemisi olan subklinik bruselloz hastalarının kan vermesi hastalığı bulaştırmasına neden olur. Benzer şekilde kemik iliği transplantasyonunu izleyerek infeksiyon bulaşabilir. İlaç bağımlıları ortak iğne kullandığı için de hastalığı bu yolla bulaştırabilmektedir.



Transplasental Geçiř: Aktif brusellozu olan anne çocuđuna plasental yolla veya dođumundan sonra hastalıđı bulařtırabilir. Mikroorganizma plasenta, fetus ve diđer dūřuk materyalinden izole edilebilmektedir.

Cinsel Yolla Geçiş: 1907 yılında hastalığın cinsel temasla geçtiği deney hayvanlarında gösterilmiştir. Yakın zamanda insan semeninden *Brucella* izole edilmiştir. Cinsel temasla bulaş insandan insana hastalığın bulaştığı gösterilen tek yoldur.

Anne Sütüyle Geçiş: Aktif brusellozu olan bir anne bebeğine süt verirken hastalığı bulaştırabilmektedir. Anne sütü, bazı hastalarda mastit olsun veya olmasın *Brucella* açısından kültürde pozitif bulunmuştur. *B.melitensis* anne sütüyle en sık bulaşan türdür. (10)

## 8.2 Korunma

İnsanların brusellozdan korunması doğrudan doğruya özellikle koyun, keçi, sığır ve domuz gibi evcil hayvanların kontrolü ve eradikasyonu ile ilgilidir. Risk altındaki personelin (mezbaaha işçileri, et paketleyicileri, laborantlar, veterinerler ve hayvan bakıcıları) eldiven ve tüm kollarını örten giysiler giymeleri ve gzlük takmaları gerekmektedir. Sütlerin pastörizasyonu; taze peynir ve krema yağı imalatının önlenmesi önemlidir. Etlerin iyice pişirilmeden yenmemesi gerekmektedir. Endemik bölgelerde hayvan idrarı ile kirlenmiş sebzelerden de bulaş olabileceği dūřünölmeli ve sebzelerin dezenfekte edildikten sonra veya pişirilerek tüketimeine çalışılmalıdır. Taze peynir yapımında son peynirlerin yeterince tuzlanması ve en az iki ay bekletildikten sonra yenmesi önerilir. Bruselloz kuşkulu kişilerin cinsel teması yasaklanmalıdır. Bruselloz olgularının mutlaka Sağlık Bakanlığı'na ihbar edilerek o bölgenin bruselloz yönünden geniş incelemesinin yapılması sağlanmalıdır (37).

## 9 TANI

### 9.1 Laboratuvar tanısı:

Bruselloz tanısı, tıbbi öykü, klinik muayene, rutin hematolojik ve biyokimyasal laboratuvar testleri, radyolojik araştırma ve en önemlisi *Brucella* spesifik kültürü, serolojik ve moleküler testleri içeren çeşitli yaklaşım kombinasyonlarını gerektirmektedir. Bruselloz tanısı için kullanılan rutin hematolojik araştırmalar, esas olarak tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, karaciğer fonksiyon testleridir. Genellikle bu testlerdeki bulgular bruselloz tanısı için spesifik değildir, değişkendir ve diğer bazı hastalıklarla düzeyleri artabilir. İnsan bruselloz tanısında temel olan spesifik testlerdir.

### 9.2 Kültür:

Kültür pozitifliği kesin tanı olarak değerlendirilir ve bruselloz tanısında altın standart olarak kabul edilir. Antimikrobial duyarlılık ve suş tiplendirmesinin gerçekleşmesi çok önemlidir. İşlemin sonucu ve hızı uygulanan kültür yöntemine, klinik örneğin çeşidine ve hacmine bağlıdır. Konvansiyonel yöntem olan bifazik Ruiz-Castaneda şişeleri uzun bir inkübasyon süresine ihtiyaç duyar (6 hafta) ve akut olgularda pozitif sonuç değişkendir (%40-90). Kronik, fokal ve komplike olgularda ise %5-20'dir. Otomatize sürekli monitorize kan kültürü sistemleri, örneğin Bactec (BDDiagnostics, Sparks, MD, Amerika Birleşik Devletleri) ve BacTAlert (bioMerieux, Durham, NC, Amerika Birleşik Devletleri) konvansiyonel kan kültürü yöntemlerine göre daha yüksek pozitif sonuçlar verir ve bakteriyel üremenin saptanmasının daha erken dönemde olmasını sağlar (genellikle bir hafta içinde). Kemik iliği kültürlerinin sonuçları periferik kan kültürüne göre %15-20 daha yüksek oranda sonuç verir. Ender olarak pozitif serolojik testlerin yokluğunda bazı hastalarda pozitif kan kültürü sonucu görülmektedir (38).

*Brucella spp.* kolonileri çeşitli klinik örneklerden, Kanlı veya çikolata agarda, 24-48 saat aerobik inkübasyonla veya 5-10 % C<sub>2</sub>O'li ortamda 37°C da üretilir. Patojenin identifikasyonu birkaç test ile mümkündür, bunlar; Gram-negatif kokobasil olduğunun gösterilmesi, pozitif oksidaz ve katalaz testleri ve *Brucella* spesifik antiserumuyla pozitif aglutinasyon reaksiyonudur. İzolatın karakterize edilmesi ve belirlenmesi, özelleşmiş iyi donanımlı, konvansiyonel biyokimyasal, metabolik, boya ve faj testleriyle mümkündür. Bunlar riskli ve tehlikeli testlerdir ve uygulaması çok uzun zaman almaktadır. *Brucella* izolatlarının alt tiplerinin belirlenmesi için kullanılan çeşitli moleküler yöntemler daha güvenlidir ve sonuçları da daha iyidir ve konvansiyonel yöntemlerin yerini almaktadırlar (39).

### **9.3 Brucella serolojik testleri:**

Brusellozun laboratuvar tanısında serolojik testler, en geniş ölçüde güvenilir testlerdir. Brusellozu olan hastaların araştırılmasında in-house ve ticari serolojik testler kullanılmaktadır. Standardize referans antijen olmadığından, antijenin kullanıldığı kaynağın test sonucuna etki edebileceği unutulmamalıdır. Ayrıca *B. canis* ve *B. ovis*'e karşı gelişen antikorların saptanması major dış membran protein antijenlerini gerektirir.

#### **9.3.1. Rose Bengal lam aglutinasyon testi:**

Bu test serum ile Rose Bengal boyasıyla boyanmış, bütün *B. abortus* hücreleri süspansiyonunun aglutinasyon reaksiyonuna dayanmaktadır. Bu antijen lam aglutinasyon testinde en güvenilir olandır. Kullanılan diğer ticari antijenlerin kaynağına bağlı olarak değişken test sonuçları alınabilir. Bu testin uygulanması kolaydır, hızlı (5-10 dakika) ve akut brusellozda iyi sonuçlar vermektedir.

### 9.3.2. Serum (standart) aglütinasyon testi (SAT):

Bu testin yaklaşık yüz yıl önce (1897) bulunmasına rağmen bruselloz serolojik tanısında köşetaşı olarak kalmıştır. Test bilinen standardize hacimde *Brucella* hücre solusyonunun, 1:20'den 1:1280'e kadar çift kat serum dilusyonları ile uygulanır. Süspansiyon karışımı 37°C de 24 saat inkübe edilir.ve görsel olarak tüplerin dibindeki aglütinasyon değerlendirilir. Aglütinasyonun görüldüğü en yüksek serum dilüsyonu titre değeri olarak kabul edilir. Ticari hücre süspansiyonları kalitede çok değişkenlik gösterirler ve bu yüzden pozitif ve negatif serum ile kalite kontrolü yapılmalıdır. SAT total *Brucella* antikorunu ölçer (Ig G, Ig M,ve Ig A).

### 9.3.3. Mikroaglütinasyon testi (MAT):

Bu test aslında SAT testinin, U ve V tabanlı mikrotitre plaklarıyla uygulanan minyatür bir şeklidir. SAT testine göre avantajı çok daha küçük hacimde serum ve antijen kullanır ve ayrıca aynı anda birden fazla örneğin değerlendirmesini yapar.

### 9.3.4. İndirekt Coombs (antihuman globülin) testi:

Coombs testi, SAT testinin devamıdır. İnkomplet, blokan, nonaglütine IgG'lerin saptanması için kullanılır. Standardize anti-human globulin (anti IgG) eklenerek aglütinasyondaki bu aksaklık giderilir ve STA testindeki gibi değerlendirilir (41).

*Brucellacapt* testi (Vircell, Granada, Spain): İmmünocapture aglütinasyon tekniğine dayanan bir testtir ve bir adımda, aglütine olmayan IgG ve IgA antikorlarını aglütine antikorlar kadar iyi bir şekilde saptar. Coombs testine değerli bir alternatiftir. Benzer sensitivite ve spesifite göstermesine karşın daha hızlı olması ve daha kolay gerçekleştirilebilir (42). Son yıllarda geliştirilmiş olan bir hemaglütinasyon yöntemidir. Kuyucuklar insan kaynaklı IgG, IgM ve IgA antikorlarına karşı antikorlarla (Coombs

antikorları) kaplıdır. Kuyucuklarda sulandırılan hasta serumu üzerine boyalı *B.abortus* antijeni damlatılır ve 24 saat 37 de inkübasyon sonrasında reaksiyon değerlendirilir. *Brucella*'ya karşı oluşan her üç antikor ve blokan antikoru da tespit ettiği için saptadığı titreler STA ve Coombs yöntemine göre daha yüksek, duyarlılık ve özgüllüğü de bu yöntemlere göre daha fazladır. Bu yöntemde tüm *Brucella*'ya karşı oluşan (özellikle S-LPS) antikolar bulunmaktadır Orduna ve arkadaşları *Brucellacapt* ve Coombs testlerinin duyarlılığını, eşik titresi 1/160 olarak alındığında sırasıyla %95.1 ve %91.4, özgüllüğünü ise %81.5 ve %96.2 olarak bildirmiş; eşik titresi 1/320 olarak alındığında duyarlılığın sırasıyla %91.5 ve %82.9, özgüllüğün ise %97.4 ve %100 olduğunu ifade etmişlerdir (43).

#### **9.3.5. Enzim Immuno assay (EIA) testi:**

Komplike, kronik ve fokal olgularda, diğer testler negatifse ve yüksek klinik şüphe varsa EIA tercih edilir. Yüksek sensitivite ve spesifite ile hızlıca (4-6h) total ve ayrı olarak spesifik immünoglobulinleri (IgG, IgA, IgM) saptar (44). EIA *Brucella* türlerine karşı gelişen antikoların gösterilmesinde en duyarlı yöntemdir. EIA testinde kullanılan antijenler: *B. abortus* hücreleri, düz LPS, *B. abortus*'un salt-extracted proteini, *B. melitensis*'e özgün haptan polisakkaritleri, *B. melitensis*'in dış membran proteini, *B. abortus* ve *B. ovis* sitoplazmik proteini. Bazı araştırmacılara göre EIA, kronik brusellozun tanısında ilk tercih edilmesi gereken yöntemdir. Maalesef kronik brusellozun kabul edilmiş bir tanısı henüz yoktur. EIA ile belirlenen antikoların aktif ve inaktif hastalığı ayırt etmede kullanılabileceğine ait bir kanıt yoktur. İnsan brusellozunun tanısı için ve bilimsel çalışmalarda önemli yer sahibidir (10). Hastalığın başlangıcında özgül Ig M, üçüncü haftadan sonra ise özgül Ig G antikoru serumda saptanabilir. ELISA yöntemi akut ve kronik bruselloz tanısında immünoglobulin sınıflarının profilini veren, hızlı, duyarlı, özgül ve güvenilir bir yöntemdir ve geniş kitlelerin taranmasında uygundur (45, 46).

### 9.3.6. İndirekt florasan antikor testi:

Tüm *B. abortus* ve *B. melitensis* antijenleri içeren süspansiyonun aseton dirençli slaytlar üzerine fiske edilmesini içerir. İki kat serum dilüsyonlarıyla hazırlanır ve IgG, IgA ve IgM antikorları tespit edilebilir. Hızı bir testtir ancak değerlendirme subjektiftir (44). Ig A yı saptamada başarısız olabilir, ve farklı üreticilerden elde edilen antijenlerin reaksiyonları farklılık gösterebilir (47),

### 9.3.7. İmmünokromatografik lateral flow Yöntemi:

Bu testin uygulanabilmesi için nitroselüloz ve antijen içeren plastik kompozit strip kullanılır. *Brucella* spesifik IgG ve IgM test sonuçları 10-15 dakika sonra gözle okunur, antijen ve kontrol çizgilerinin test penceresinde değerlendirilmesiyle pozitif veya negatif sonuca varılır. Endemik ve kırsal alanda, salgınlarda tarama amacıyla kullanılır. Basit, hızlı, uygulaması ve okuması kolaydır. Sensitivitesi ve spesifitesi (>%90) yüksektir (48).

### 9.3.8. Moleküler testler:

Brucellozis laboratuvar tanısında, moleküler bazlı gelişmiş teknolojiye dayalı testler kullanılmaktadır. Klinik örneklerden *Brucella*'nın saptanabilmesi için konvansiyonal PCR ve real-time PCR kullanıma girmiştir. İdentifikasyon, tedavi takibi, saptanan *Brucella spp*'nin identifikasyonunda kullanılmaktadır. Bu testlerin duyarlılıkları ve özgüllüklerin geniş bir aralıktadır; duyarlılıklarında %50'den %100'e, özgüllüklerinde %60'dan % 98'e kadar farklı sonuçlar elde edilmiştir. Moleküler testler, brusellozlu hastaların araştırılması için iyi bir potansiyele sahiptirler ancak rutin laboratuvar testlerinin içine girebilmelerinden önce geçerlilik ve güvenilirlik elde edebilmeleri amacıyla daha ileri standardizasyon ve optimizasyon gereklidir (49,50).

## 10 TEDAVİ

*Brucella* intrasellüler bir bakteri olduğu için tedavisinde, hücre içi etkili ve sinerjizmi olan antibiotik kombinasyonları tercih edilmelidir. Bruselloz tedavisinde tercih edilen antibiotikler; tetrasiklin, doksisisiklin, streptomisin, rifampisin, ko-trimaksazol, kinolonlar, seftriakson, kloramfenikol ve makrolidlerdir (51, 52).

### 10.1 Tetrasiklinler

*Brucella* türlerine karşı güçlü in vitro aktiviteye sahiptirler. Tetrasiklinler minimum inhibisyon konsantrasyon değerinin düşük olması, aktivitelerinin yüksek olması ve intrasellüler penetrasyonlarının çok iyi olması sebebiyle tedavide ilk seçilecek antibiyotiklerdir. Doksisisiklin, tetrasiklinler içerisinde yağda en fazla çözünen yapıda olması, günde iki doz kullanım kolaylığı, kan-beyin bariyerini en iyi geçebilen tetrasiklin grubu olması ve lökositler içine daha fazla nüfuz edebilmesi sebebiyle tercih edilmektedir. Gebelerde ve sekiz yaşın altındaki çocuklarda (dişlerde kalıcı sarı lekelenmelere yol açması nedeniyle) kullanılmazlar (53, 54).

### 10.2 Aminoglikozitler

Aminoglikozitler *Brucella* bakterilerine karşı orta derecede aktiviteye sahiptirler. Brusellozda üzerinde en fazla çalışma yapılan aminoglikozit streptomisindir. Lokomotor sistem tutulumu olan vakalarda streptomisin daha etkili bulunmuştur. Doksisisiklin + rifampisin ile doksisisiklin + streptomisin kombinasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada her iki rejimin de 45 gün süreyle uygulandığında eşdeğer etkinlikte olduğu saptanmış, ancak doksisisiklin + streptomisin kombinasyonunun spondilit gibi komplikasyonu olan vakalarda daha etkili olduğu bildirilmiştir (55, ,56).

### 10.3 Trimetoprim/Sulfametoksazol

Brusellozlu gebe ve sekiz yaş altındaki çocuklarda tercih edilen, ancak tek başına kullanıldığında %40-50'ye varan nüks oranı bildirilen bu nedenle kombinasyon şeklinde kullanılması gereken bir ilaçtır (57).

#### **10.4 Rifampisin**

Rifampisin hücre içine çok iyi penetre olup, yüksek anti-*Brucella* aktivite gösterir. Tek başına kullanıldığında %2-10 oranında başarısızlık saptanmıştır. Bu nedenle doksisisiklin veya trimetoprim/sulfametoksazol ile kombine edilerek kullanılır. Gebelerde ve çocuklarda kullanılabilir (57).

#### **10.5 Fluorokinolonlar**

Son yıllarda bruselloz tedavisinde kinolonların kullanımı gündeme gelmiştir. Kinolonlar, oral biyoyaralanımlarının iyi olması, yüksek doku konsantrasyonlarına ulaşmaları, hücre içine penetrasyonları ve in vitro *Brucella spp*'ye etkili olmaları nedeniyle bruselloz tedavisinde ilgi çeken antimikrobiyal ajanlar arasında yer almışlardır. Siprofloksasin ve ofloksasin, bruselloz tedavisinde etkili bulunan kinolonların başında gelir (57).

#### **10.6 Sefalosporinler**

Birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler *Brucella* kökenlerine etkisi bulunurken, üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefotaksim, seftriakson ve seftizoksım in vitro etkili ajanlardır. İn vitro *Brucella* türlerine en etkili sefalosporin seftriaksondur. Seftriakson, nörobruselloz vakalarında ve gebelerde kombine tedavide tercih edilen antimikrobiyal ajanlardan biridir (58).



### III. GEREÇ VE YÖNTEM

Nisan 2009-Haziran 2010 tarihleri arasında, hasta yoğunluğu fazla olan İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Manisa Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Poliklinik ve Kliniklerinden bruselloz klinik ön tanılı hastalar çalışmaya alındı. Tıbbi muayene ve tetkikleri yapılarak çalışmaya alınan her hasta için tanı formu oluşturuldu (ek), hastalar, hastalık sürelerine göre yaygın olarak kullanılan şekliyle akut, subakut, kronik olarak sınıflandırıldı (bir relaps vakası çalışmaya alınmadı). Her hastadan 7-8 ml venöz kan alındı ve çalışılmak üzere uygun transport şartlarında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na getirildi. Kanlar serumlarına ayrılarak, tüm serumlardan Brucella S99 suşunun kullanıldığı RB ve SAT (Wright Testi) testleri (Seromed, İstanbul, Türkiye) üretici firma önerileri doğrultusunda çalışıldı. Serolojik olarak bruselloz tanısı için, SAT testi  $\geq 1/160$  titre olması şartı arandı ve bunu sağlayan toplan 92 hasta serumu çalışmaya alındı. Negatif olan 2 hasta serumuna blokan antikoları ve/veya prezon fenomenini gidermek üzere Coombs testi uygulandı (59). Aynı zamanda tüm serumlardan 0.05 M 2-ME kullanılarak 2-ME testi çalışıldı (60). 2-ME testi titresinin, SAT testi titresine göre azalması, IgM antikoları varlığı yönünden olumlu kabul edildi. Söz konusu tüm testlerin değerlendirilmesi en az iki mikrobiyoloğun gözlemiyle gerçekleştirildi. Serumlar daha sonra EIA ve IgG avidite testlerini çalışmak üzere ependorf tüplerinde  $-20^{\circ}\text{C}$ 'a kaldırıldı. Hasta örneklerinin toplanması tamamlanmasından sonra tüm serumlarda, EIA yöntemiyle anti brusella IgM, IgG ve IgA antikoları arandı. Ticari EIA kitler ve cihazı (Radim,

Roma, İtalya) üretici firmaların önerileri doğrultusunda kullanılarak testler gerçekleştirildi. Sonuçlar hesaplanan eşik (cut-off) değerlerine göre pozitif ve negatif olarak tespit edildi. SAT testleriyle çelişen EIA test sonuçlarında, hem STA testleri, hem EIA testleri tekrar edildi.

Avidite testi Hedman ve Rousseau'nun tanımladığı "8M üre denatürasyonu" yöntemi temel alınarak gerçekleştirildi (8). IgG antikorları pozitif olan 78 hasta serumuna yukarıda söz konusu olan aynı EIA anti brusella IgG kiti ve cihazı kullanılarak, aynı prosedürle IgG avidite testi uygulandı. Serumlar 1/100 oranında dilüe edilerek, her birinden bir çift kuyucuğa dağıtıldı. İlk inkübasyon ve yıkamadan sonra, mikro kuyucuklardaki her serum çiftinden birine 100 µl 8 M üre, diğerine ise aynı miktarda fosfat tampon solüsyonu eklendi ve 5 dakika inkübe edildi. Yıkandıktan sonraki aşamalar üretici firmanın öneriler doğrultusunda IgG EIA testindeki gibi gerçekleştirildi ve 450 nm'de tüm kuyucukların absorbansı ölçüldü. Avidite indeksi yüzde olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

IgG avidite indeksi (AI)=Üre uygulanmış mikrokuyucukların absorbansı / üre uygulanmamış mikrokuyucukların absorbansı X 100

AI eşik değeri %40, düşük aviditeli antikorların yüksek aviditeli antikorlara dönüşümü (olgunlaşması) için gerekli süre 6 ay olarak alındı (1, 5)

Elde edilen bulgular, SPSS v15 istatistik programı (SPSS Inc. Chicago, IL, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak, avidite testlerinin değerlendirilmesi için Pearson Ki Kare Testi ve, diğer serolojik testlerin uyumun değerlendirilmesi için McNemar Testi (kappa değeri) uygulandı. İstatistiksel anlamlılık sınırı  $P \leq 0.05$  kabul edildi.

#### IV. BULGULAR

Çalışmaya ortalama yaşı 39.2 olan 23 ile 68 yaş arasında, 45'i erkek (%48.9), 47'si kadın (%51.1) olan toplam 92 hasta alındı. Bruselloz tanısı için SAT testinin  $\geq 1/160$  titre şartı arandı ve 1/160 ile 1/1280 arasında değişen titrelerde sonuçlar alındı. Hastalar semptomların sürelerine göre sınıflandırıldığında 92 hastanın 42'si (%45.7) akut, 40'ı (%43.5) subakut ve 10'u (%10.9) kronik gruptaydı. Tüm hastalara uygulanan SAT dışındaki testlerin, bruselloz sürelerine göre sınıflandırılmış gruplardaki dağılımı tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1:** Tüm hastalar uygulanan SAT dışındaki testlerin bruselloz tiplerine göre dağılımı.

	<b>AKUT</b> n=42 (45.7)**	<b>SUBAKUT</b> n=40 (43.5)**	<b>KRONİK</b> n=10 (10.9)**	<b>TOPLAM</b> n=92 (100)**
<b>RB (%)*</b>	39 (92.9)	39 (97.5)	10 (100)	88 (95.7)
<b>IgM (%)*</b>	32 (76.2)	16 (40)	3 (30)	51 (55.4)
<b>IgA (%)*</b>	29 (69)	26 (65)	9 (90)	64 (69.6)
<b>IgG (%)*</b>	32 (76.2)	36 (90)	10 (100)	78 (84.8)

\*Klinik tiplerdeki oranı

\*\*Toplamdaki oranı

SAT ile RB arasındaki uyum %95.7 bulundu. Hastaların 4'ünde (%4.3) ise EIA testlerinin hepsi negatifti. EIA testleri klinik tiplere göre değerlendirildiğinde sadece IgM antikoru akut dönem bruselloz ile anlamlı derecede ilişkili tespit edildi ( $P=0.02$ ). EIA testleri ikişerli kombinasyonlar

şeklinde ele alındığında, ikili antikor testleri ile klinik gruplar arasında istatistiksel bir ilişki oluşturacak yeterlilikte değildi.

Hastaların 53'ünün (%57.6) SAT titresi 1/160'dı ve en büyük oranı oluşturmaktaydı. 1/160 SAT titresinde pozitiflik tespit edilen serumlarda, tüm immüoglobülinler en yüksek oranda tespit edildi (Tablo 2).

**Tablo 2:** Titrelere göre SAT testi sonuçları ve RB ve EIA testlerinin pozitifliklerinin SAT titrelerine göre dağılımı

	SAT				TOPLAM n=92 (100)**
	1/160 n=53 (57.6)**	1/320 n=22 (23.9)**	1/640 n=8 (8.7)**	1/1280 n=9 (9.8)**	
<b>RB (%)*</b>	49 (92.5)	22 (100)	8 (100)	9 (100)	88 (95.7)
<b>IgM (%)*</b>	24 (47.1)	12 (54.5)	6 (75)	9 (100)	51 (55.4)
<b>IgA (%)*</b>	30 (56.6)	17 (77.3)	8 (100)	9 (100)	64 (69.6)
<b>IgG (%)*</b>	44 (83)	20 (90.9)	6 (75)	8 (88.9)	78 (84.8)

\*Titredeki oranı

\*\*Toplamdaki oranı

2-ME testinin etkinliğini değerlendirmek için, 2-ME testi titreleri, SAT titreleriyle karşılaştırıldı. Titre azalması olan hastaların sayısı

üm hastalarda SAT testine göre saptanan titrelerde, 2-ME testinde saptanan pozitifliklerin titresi göz önüne alındı.

Tüm serumlarda çalışılan 2-ME testi ile toplam 55 hastada (%59.8), SAT testine göre daha düşük titrede pozitiflik tespit edildi. 2-ME testinin IgG ile ilişkisi değerlendirildiğinde, toplam 78 IgG pozitif hastanın 72'sinde (%92.3) 2-ME pozitifliği tespit edildi. Toplam 51 IgM pozitif hastanın 46'sında (%90.2) titre düşüşü tespit edildi. 2-ME ve EIA IgM testlerinin uyumluluğu %84.8 olarak hesaplandı.

**Tablo 3:** 2-ME ile IgM'nin karşılaştırılması

		IgM		TOPLAM (%)**
		Pozitif	Negatif	
<b>2-ME titre düşüşü</b>	Pozitif	46 (90,2)	9 (22)	55 (59.8)
	Negatif	5 (9.8)	32(78)	37 (40.2)
TOPLAM (%)**		51 (55.4)	41 (44.6)	92 (100)

\*IgM'deki oranı

\*\*Toplamdaki oranı

Uygulanan IgG avidite testinde, IgG pozitif olan toplan 78 hastanın 35'i (%44.9) düşük AI, 43'ü (%55.1) yüksek AI'ne sahipti. 78 hastanın 40'ında (%51.3) hem IgG, hem de IgM pozitifliği mevcuttu. IgG avidite olgunlaşma süresini 6 ay, AI için eşit değeri (düşük ve yüksek avidite ayırımı) %40 olarak aldığımızda, eşik değer ile olgunlaşma süresi arasında istatistiksel bir ilişki tespit edilmedi ( $P=0.465$ ). AI eşik değeri %45, %50, %55 aldığımızda,  $P$  değerleri sırasıyla 0.190, 0.035 ve 0.050 olarak hesaplandı. Avidite olgunlaşma süreleri birer ay artırılarak yapılan analizlerde de anlamlı bir istatistiksel uyum tespit edilemedi. İstatistiksel anlamlılık sınırına en yakın olarak ( $P=0.035$ ), avidite için olgunlaşma süresinin 6 ay, AI eşik değerinin %50 olduğu çalışmamızda ortaya konuldu (Tablo 4).

**Tablo 4:** Farklı AI'lerin hastalık sürelerine göre dağılımı

		HASTALIK SÜRESİ		TOPLAM (%)**
		≤ 6 ay	> 6 ay	
<b>AI %40 (%)*</b>	Düşük	27 (77.1)	8 (22.9)	35 (44.9)
	Yüksek	30 (69.8)	13 (30.2)	43 (55.1)
AI %45 (%)*	Düşük	39 (78)	11 (22)	50 (64.1)
	Yüksek	18 (64.3)	10 (35.7)	28 (35.9)
AI %50 (%)*	Düşük	46 (79.3)	12 (20.7)	58 (74.4)
	Yüksek	11 (55)	9 (45)	20 (25.6)
AI %55 (%)*	Düşük	51 (77.3)	15 (22.7)	66 (84.6)
	Yüksek	6 (50)	6 (50)	12 (15.4)

\*AI'deki oranı

\*\*Toplamdaki oranı

## V. TARTIŞMA

Bruselloz hastalığının kesin tanısı, etken bakterinin izolasyonu ile konulmakta ve tanıda da altın standart olarak kabul edilmektedir. Kan kültüründe bakteri izolasyonu %10-70 değiştiği bildirilmektedir (62). Kültürde örneğin kemik iliğinden alınması, bakteri sayısının bu dokuda yüksek olması nedeniyle, izolasyon şansını artırmaktadır ancak rutin olarak bu örneğin alınması da mümkün değildir. İzolasyon süresi de çok değişken olabilmektedir ve bu süre 4 haftayı geçebilmesi mümkündür. Otomatize kültür sistemlerinde bu süre 1 haftaya kadar inmektedir.

Bugün, brusellozun rutin laboratuvar tanısı serolojiye dayanmaktadır. İlk basamakta RB ve SAT (gerektiğinde Coombs testi) ve EIA testleri ülkemizde ve dünyada en sık kullanılan rutin serolojik testlerdir. Çalışmamızda SAT testi  $\geq 1/160$  olan 92 hastanın 88'inde RB testi pozitif bulundu. RB testini SAT ile %95.7'lik uyumuyla, kullanım kolaylığı, sonuç verme süresi, ucuzluğu dikkate alındığında mükemmel bir tarama testi olduğunu ortaya koymaktadır ve sonuçlarına büyük oranda güvenilebileceğini göstermektedir. Bu konuda yapılmış çalışmalarda farklı sonuçlar alınmakla birlikte, genellikle SAT sonuçlarıyla yapılan karşılaştırmalarda sonuçlarımıza yakın değerler elde edilmiştir (63). RB testi için %100'lük duyarlılık sonuçları bildiren çalışmalar da mevcuttur (64, 65). RB testi dakikalar içinde sonuç verirken, SAT testi için 24 saat gerekliliği hatta negatif sonuçlarda Coombs uygulanması zorunluluğu bu süreyi 48 saate çıkarabilmektedir. Ayrıca diğer önemli bir dezavantajı değerlendirilmenin subjektif oluşudur, yanlış sonuçlara zemin hazırlayabilir. Bu iki olumsuz özelliği ile EIA gibi hızlı ve objektif testlerde giderilmiştir.

Semptomlarının sürelerine göre sınıflandırılmış hasta grubunda EIA testleri tek tek ele alındığında, sadece kronik dönemde tek bir immünglobulin (IgG) başarılı şekilde ve SAT ile %100 uyumlu olarak kullanılabilceğini göstermiştir. Kronik dönemdeki hasta sayısının 10 tane olmasına rağmen, benzer sonucu, Mantecon ve arkadaşlarının çalışmasında alınmış, brucelloz öyküsü bulunan 22 hastada %100 IgG tespit edilmiştir (1). Sirmatel ve arkadaşları ise 92 kronik hasta grubunda IgG oranını %78.2 olarak bulmuştur.(66). Brusellozun endemik olduğu bölgelerde persistan IgG pozitiflikleri bu testin tek başına tanıda değerini azaltabilir. IgG akut ve subakut brusellozlardaki oranları (sırasıyla %76.2 ve %90) ile IgG'nin hastalık süresine paralel olarak değerlendirilebilecek bir test olduğunu ortaya koymaktadır. IgM, EIA test panelinde, bruselloz klinik tiplerle istatistiksel anlamlı ilişkili olan tek immünooglobulindi ( $P=0.01$ ). Akut bruselloz tanısında IgM'in kullanılabilceğini gösterildi. Bu sonuç EIA ile yapılan birçok çalışmada da ortaya konulmuştur. De Klerk, akut brusellozun serolojik tanısında IgM'i "en duyarlı test" olarak bildirmiştir (67). Marradon ve arkadaşları, başlangıç seviyesindeki brusellozda yüksek seviyede spesifik IgM olduğunu ve IgG ve IgA'dan daha hızlı bir düşüş gösterdiğini ortaya koymuşlardı (68). Arıza'nın gösterdiği bu hızlı düşüş, sonuçlarımızda da görülmektedir; akut, subakut ve kronik dönemdeki pozitif IgM sayıları sırasıyla 32, 16 ve 3'dür. Akut brusellozlu hastaların tamamında pozitiflik söz konusu olmadığından tek başına negatif sonuçları ile akut brusellozun ekarte edilmesi mümkün değildir. IgG ve IgA akut ve subakut dönemlerde tanı koydurucu bir özellikte değildir. Ancak diğer testlerle birlikte ele alınmalı, özellikle akut dönemde IgM negatif olduğu olgularda mutlaka test edilmelidir. IgM ilk haftadan sonra tespit edilmekte ve birkaç hafta sonra IgG ve IgA ortaya çıkmaktadır (69). Bu spesifik immünooglobülinlerin belli dönemlerde keskin sınırla ayırmak mümkün değildir. Aslında bruselloz gibi kronikleşen bir hastalık için bu ayırım değeri de tartışmalıdır.

Hastaların 3'ünde EIA testleri hepsi negatifti. EIA testlerinin performansı bir çok çalışmada farklılıklar göstermektedir. Memish ve arkadaşları, SAT testi için duyarlılığı %95.6, EIA IgG için %45.6, IgM için %79 tespit etmiştir

(69). Sisirak EIA IgM duyarlılığı için %64.8, IgG için %56.1 gibi oldukça düşük sonuçlar bildirmiştir (64). Ülkemizden Sırmatel ve arkadaşları SAT için %83.7, EIA IgM için %61.9, IgG için %49.5 duyarlılık bildirmiştir (66). Ancak EIA testleri için yüksek duyarlılık ortaya koyan çalışmalarda mevcuttur. Örneğin Araj ve arkadaşları EIA IgG ve IgM için %91 ve %100 duyarlılık bildirmişlerdir. (70). Çiftçi ve arkadaşları kan kültürüyle karşılaştırdıkları serolojik testlerde, RB, SAT, EIA IgG, IGA ve IgM için duyarlılık sonuçlarını sırasıyla, %100, %94.3, %97.1, %94.1, %71.4 hesaplamışlardır (71). Sonuçlarımız EIA testlerinin özellikle akut ve subakut dönemlerde birlikte değerlendirilmesi gerektiğini, tek bir spesifik immünoglobulinin ile yapılacak değerlendirmenin yanlış negatifiklere neden olabileceğini göstermiştir.

Ticari EIA testleri için antijenler çeşitli şekillerde (*B. abortus* yada *B. melitensis*'in tüm hücre formundan veya proteinlerin, lipopolisakkaritlerin, hücrelerin sonik özütlerinden) elde edilebilmektedir. Kullanılan bu çeşitlilik ve standardizasyon eksikliği EIA'lerin performansını etkiliyor olabilir.

Anti Brucella immünoglobülinlerinin SAT titrelerine göre yapılan karşılaştırmalarında, istatistiksel olarak bir bağıntı tespit edilememekle birlikte, en yüksek titre olan 1/1280'de hemen hemen tüm EIA testlerinin tamamına yakını pozitif (sadece bir IgG negatif bulundu). IgA ise SAT testindeki titre artışına paralel olarak artıyor gibiydi ve bu anlamda P değeri anlamlılık sınırına yakındı ( $P=0.07$ ). 1/1280 titredeki hastalarda yüksek antijenik uyarıya karşı gelişmiş olduğundan bu titrede ve bir alt titrede daha yüksek spesifik antikörlerin tespiti doğaldır. IgM ve IgG için ilk iki titredeki uyumsuzluk ise antijenik uyarının etkisinin de bağlı olarak, IgM'in IgG'ye dönüşümü gecikiyor olabilir. Böyle bir gecikmenin mümkün olabileceğini White vurgulamıştır (72). IgA'nın kısa turnover süresi, onun daha uzun süre tespit edilmesini ve enfeksiyonun başlamasından sonraki haftalarda daha istikrarlı olarak tespit edilmesini sağladığından, titrelerde daha uyumlu sonuç vermiş olabilir. Bu özelliğinden dolayı IgA bir çok enfeksiyon için persistanlığın göstergesi olarak kullanılmaktadır.

2-ME, IgM'in disülfid bağlarını kırarak aglütinin aktivitesi kaybına neden olmakta ve IgG ve IgM'in birbirinden ayrılmasını sağlamaktadır. SAT testi gibi



toplam antikor aktivitesinin ortaya konulduğu bir serumda, SAT testi ile karşılaştırılarak, 2-ME testinde titre düşüşünü ortaya konulması IgM varlığını ortaya koymaktadır. Bu düşüş toplam 55 (%59.8) hastada görüldü. IgM sonuçlarıyla karşılaştırıldığında uyumluluk %84.8 olarak bulundu. Bu sonuç 2-ME testinin IgM varlığını ortaya çıkarmada kullanılabilir olduğunu göstermektedir. Buchanan, negatif 2-ME testinin kronik bruselloz için “kuvvetli kanıt” olduğunu söylemiştir (73). Zeytinoğlu ve arkadaşları flow assay ile 50 serumda yaptıkları çalışmada IgM ile 2-ME arasındaki uyumu, benzer şekilde %88 olarak hesaplamışlardır (74).

Bazı enfeksiyonlarda olduğu gibi brusellozda da IgM uzun süre serumda pozitiliğini devam ettirebilmektedir (75). Enfeksiyonun ilerleyen zamanlarında serolojik testlerle, enfeksiyonun şimdiki yada geçirilmiş olduğuna karar vermek mümkün olmamaktadır. Antikorların afinitesinin olgunlaşması temeline dayanan IgG avidite testi ile düşük aviditeli antikorlar, yüksek aviditeli antikorlardan ayırt edilerek, IgG'nin olgunlaşma süresi (düşük aviditeden yüksek aviditeye değişim süresi bilindiğinden) tahmin edilmektedir (5). Aİ bu değişim eşiğini oluşturduğundan, değişim süresiyle birlikte Aİ değerinin bilinmesi gerekmektedir. Rubella, sitomegalovirüs, toksoplazma gibi mikroorganizmalar için bu iki değer de ortaya konulmuş olmasına rağmen, Brucella için görüş birliğine varılmış değerler mevcut değildir. Biz de, bazı çalışmalarda kullanılan değerleri aldık ve uyguladık; Aİ olarak %40, değişim süresi olarak 6 ay (5). Elde ettiğimiz Aİ değerleri ile yüksek aviditeye sahip hastalar, bize istatistiksel olarak tatmin edici bir 6 aylık hastalık süreçleri ortaya koyamadı. Böyle bir istatistiksel anlamlığı avidite değişim süresini artırarak elde etme denemeleri de başarısızdı. Ancak Aİ eşiğini beşer puan artırarak yaptığımız analizlerde, Aİ %50 olarak aldığımızda, ki-kare testinde  $P=0.035$  olarak, anlamlılık sınırına en yakın değere ulaştık. Aİ'yi %55 çıkardığımızda ise yenide  $P$  değeri artmaya başladı ( $P=0.050$ ). Sadece bu çalışmamıza göre, avidite olgunlaşma süresi 6 ay, Aİ'nin ise %50 kabul edilmesinin daha uygun olabileceği kanaatine ulaştık. Bu durumda belki, Aİ %45-50 arası da gri zon olarak uygun olabilir. Avidite çalışmasında testi etkileyen diğer parametlerin de kontrollü olarak değiştirilmesi ve böyle bir

testin en uygun olarak kriterlerinin belirlenmesi gerekir. Testteki diğer iki değiştirilebilir parametre, üre konsantrasyonu ve üre uygulama süresidir. Daha önceki çalışmalara göre üre konsantrasyonun 8M, süreyi ise 5 dakika uyguladık. Bu konsantrasyonlar ve süreler uygulanacak avidite testine göre değişiklikler gösterebilmektedir. Ancak henüz Brucelloz için standardize edilmiş değerler mevcut değildir. Bazı çalışmalarda Brucella IgG avidite testi için başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Kutlu ve arkadaşları, 118 hastada yaptıkları çalışmada, Aİ %40, olgunlaşma süresini ise 6 ay almışlar ve aralarında istatistiksel uyum bulmuşlardır. Gutierrez ve arkadaşları olgunlaşma süresini 6 ay alarak, IgG avidite testinin duyarlılığını %70.5, özgüllüğünü %97.7 bulmuşlardır (5, 23). Mantegon ve arkadaşları ise Brucella IgG aviditesini, bruselloz öyküsü olan grupta anlamlı derecede yüksek bulmuş ve brucella için IgG avidite testinin şimdiki ve geçmiş enfeksiyonu ayırabileceğini belirtmiştir (1).

IgG avidite çalışmaları prospektif olarak yapılması daha uygundur. Belirli sürelerde serolojik testlerin yapılması ve hastalığın klinik olarak takip edilmesi gerektiğinden, hasta ile çalışma ekibi arasında çok iyi bir uyum gerekmektedir. Laboratuvarda yukarıda sözü edilen tüm parametrelerin kontrollü olarak değiştirilmesiyle en uygun Aİ ve avidite dönüşümün belirlenmesi gereklidir. Böyle bir prospektif avidite çalışması, amacımızın ve imkanlarımızın dışında kalmıştır.

## VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak brusellozun laboratuvar tanısında -geniş bir perspektiften bakıldığında- mükemmel bir test mevcut değildir. RB testi çok uygun bir tarama testi olarak önemi korumaktadır. SAT testi, ucuzluğu, kolaylığı ve yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü ile özellikle brusellozun endemik olduğu bölgelerde hala en geçerli test olduğunu düşünüyoruz. EIA yöntemine göre süre dezavantajı mutlak bir değerlendirmeyle doğru gibi görünse de, çok yoğun hasta sirkülasyonunun olmadığı laboratuvarlarda, hastaların biriktirilerek çalışıldığı EIA testlerine göre daha kullanışlı olabilmektedir. Elbette deneyimli personelin varlığı önem arz etmektedir.

EIA ile spesifik üç antikorun taranarak, bruselloz tanısında EIA'nın başarılı olarak kullanılması imkan vermektedir. Özellikle akut dönemde IgM'in ortaya konulması laboratuvarın bu klinik tipi onaylaması olarak değerlendirmek mümkündür. Aynı şekilde IgG'nin kronik dönemdeki varlığı da aynı değere sahip olabilir. Bu iki antikorun ayırımında 2-ME testi, yeterli sonuçlar üretebilen, ucuz ve pratik bir testtir.

IgG avidite testinin geliştirilmesi ve standardize edilmesi halinde, bruselloz kliniğine önemli katkı sağlayabilir, bunun için prospektif araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## VII. ÖZET

Bu çalışmamızın amacı, ön tanısı konmuş farklı klinik formlardaki (akut, subakut, kronik) bruselloz hastalarında, rutin olarak kullanılan serolojik testleri (Rose Bengal [RB], standart alütinasyon testi [SAT], enzim immüno assay [EIA] için IgM, IgA, IgG), 2-merkaptotanol [2-ME]) karşılaştırmak ve IgG avidite testini uygulayarak sonuçlarını değerlendirmektir. SAT testi  $\geq$  1/160 titre olan 92 hasta çalışmaya alındı ve yukarıdaki tüm testler uygulandı. EIA-IgG pozitif olan 78 hastada ise IgG avidite testi yapıldı. RB testi 88 (%95.7) hastada pozitif bulundu. EIA-IgM ile akut bruselloz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. 2-ME testinde, 55 (%59.8) hastada, SAT testine göre titre düşüşü tespit edildi ve IgM arasındaki uyum %84.8 olarak hesaplandı. IgG Avidite testinde kullanılan %40 avidite indeksi (AI) ile avidite olgulaşma süresi (6 ay) arasında istatistiksel fark bulunamadı, ancak AI %50 alındığında istatistiksel anlamlılık sınırına yakın bir değer elde edildi ( $P=0.035$ ). Çalışmamız sonucunda brusellozun serolojik tanısında RB ve SAT testlerinin uygun ve güvenilir testler olduğu, IgM'in akut brusellozun bir göstergesi olabileceği, IgG'yi tespit etmede EIA kadar 2-ME'inde kullanılabileceği ve IgG avidite testinin standardize edilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

## VIII.ABSTRACT

### THE EVALUATION OF SEROLOGICAL TESTS FOR DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS

The aim of this study was to compare the serological tests (Rose Bengal [RB], the standard agglutination test [SAT], the enzyme immuno assay [EIA] for IgM, IgA, IgG), 2-mercaptoethanol [2-ME]) which are used routinely for the patients who had pre-diagnosis in different clinical forms of brucellosis (acute, subacute, chronic) and apply IgG avidity test and evaluate its results. Ninety two patients with SAT titers  $\geq 1/160$  enrolled and applied all tests mentioned before. IgG avidity test was performed for 78 patients in whom EIA-IgG was positive. RB test was positive for 88 (95,7 %) patients. It was found a statistically significant association between EIA-IgM and acute brucellosis. The reduction in titre in the 2-ME compared with SAT was found for 55 (59.8%) patients and the agreement with IgM was calculated as 84.8%. It was not found a statistically difference between 40% avidity index (AI) used in IgG avidity test and avidity maturation period (6 months), however, when AI was taken as 50%, It was obtained a value ( $P=0.035$ ) which was close to statistically significance threshold. It was concluded that RB and SAT tests are suitable and reliable in the serological diagnosis of brucellosis and, IgM can be an indicator of acute brucellosis and, 2-ME can be used as EIA in diagnosing IgG and IgG avidity test needs to be standardized.

## IX. KAYNAKLAR

1. Mantecon MA, Gutierrez MP, Zarzosa MP, Lago LP, Colmenero JD, Vizcaino N, Bratos MA, Almaraz A, Cubero A, Munoz MF, Torres AR, Orduna A. Influence of brucellosis history on serological diagnosis and evolution of patients with acute brucellosis. *J. Infect.* 2008 ;57:397-403.
2. Roushan MRH, Amiri MJS, Laly A, Mostafazadeh A, Bijani A. Follow up standart agglutination and 2-mercaptoethanol tests in 175 clinically cured cases of human brucellosis. *Int. Infect. dis.* 2010;14:250-3
3. Gomez MC, Nieto JA, Rosa C, Geijo P, Escibano MA, Munoz A, Lopez C. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clin. Vaccine Immunol.* 2008;15:1031-3
4. Alışkan H, Kültür ve serolojik yöntemlerin insan brusellozu tanısındaki değeri *Mikrobiyol. Bül.* 2008;42:185-95
5. Kutlu SS, Çelikbaş A, Ergönül Ö, Kutlu M, Aksaray S, Güvener E, Dokuzoğuz B. Brusellozin serolojik tanısında immünoglobulin G avidite testinin değeri. *Mikrobiyal. Bül.* 2003;37:261-7
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Çalışma Yıllığı. <http://www.saglik.gov.tr/extras/istatistikler/temel2002/temel-2002.pdf>, 2004
7. Bruce D. Note on the discovery of a microorganism in Malta Fever. *Practitioner* 1887;36:161–70.
8. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis LN, Christou, Tsianos E. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2006;6:91–9.

9. Greenfield RA, Drevets DA, Machado LJ, Voskuhl GW, Cornea P, Bronze MS. Bacterial pathogens as biological weapons and agents of bioterrorism. *Am J Med Sci* 2002;323:299–315.
10. Madkour MM Anđ Ö,(ed) Bruselloz Nobel Tıp Kitapevleri 2008: 15-17
11. Onul B: Bruselloz: İnfeksiyon Hastalıkları, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1980:.715–725
12. Arda, M: Türkiye’de hayvan brusellozunun durumu ve bruselloz mücadele projesi. 1.Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, Bilgehan Basımevi, İzmir, 1987:. 166–177,
13. Sümerkan B: Brucella türleri. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 2. Cilt Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, (Editörler), Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2002.:1647-1652
14. Aydın N.Brusella İnfeksiyonları, Özel Mikrobiyoloji, Bakteriyel infeksiyöz Hastalıklar, A.Ü.Vet. Fak. Yayınları No.386, Ankara: A.Ü.Basımevi, 1982:225-254.
15. Mutlu G, 9mir T, Cengiz T, Ustaçelebi, Tümbay E, Mete Ö. Temel ve klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. Ankara:571-577.
16. Verger JM, Grimont F, Grimont PA, Grayon M. Brucella, a monospesific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. *Int J Syst Bacteriol* 1985; 35 : 292-5
17. Whatmore AM. Current understanding of the genetic diversity of Brucella, an expanding genus of zoonotic pathogens. *Infect Genet Evol* 2009;9:1168–84.
18. Yılmaz S, Karaman Z. 1971-81 yıllarını kapsayan süre içerisinde sığır ve koyunlarda yapılan brusella jerm izolasyonları, *Etlık Vet. Mik. Enst. Derg* 1981; 1.2.3:29-33.
19. Bilgehan H. Brucella. 2000.Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri nfeksiyonları 10.baskı.Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, İzmir. 199-214

**20.** Sümerkan B. Brucella Türleri. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Cilt 2, Etkenlere göre infeksiyonlar, Nobel tıp kitapçevleri. 2002,.1647-1652.

**21.** Chu MC, Weyant RS: Francisella and Brucella. Eds: Murray Patrick R. Manual of clinical microbiology. ASM pres. Washington DC. 2003. 8th edition.: 789-808.

**22.** DrancourtM,BrouquiP,RaoultD. Afipia clevelandensis antibodies andcross- reactivity with Brucella spp. and Yersinia enterocolitica O:9. ClinDiagLab Immunol 1997;4:748–52

**23.** Corbel MJ. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis 1997;3:213–21.

**24.** Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. Lancet Infect Dis 2007;7:775–86.

**25.** Young EJ. Brucella species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles andpractice of infectious disaeses. 5th ed. Churchill Livingstone. 2000: 2386-23

**26.** Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F: Specific antibodies profile in human brucellosis. Clin Infect Dis, 14: 131-140, 1992.

**27.** Pellicer T, Ariza J, Foz A, Pallares R, Gudiol F: Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. J Infect Dis, 157(5):918-924, 1988.

**28.** Moyer NP and Holcomb LA: Brucella. Manual of Clinical Microbiyology. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, (Eds.), p:549–555, ASM Press, Washington, 1995.

**29.** Dilmener M: Brusellozun klinik prezentasyonları. Klimik Derg, 3(1):23-25, 1990.

**30.** Hall WH: Brucellosis. Bacterial Infections of Humans. Evans AS, Brachman PS, (Eds). Second edition, p:133–151, Plenum Pub Corp, New York and London, 1991.

**31.** Sözen TH. Bruselloz. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Cilt 1, Sistemlere göre infeksiyonlar, Nobel tıp kitapçevleri 2002. s: 636-642..



- 32.** Gürler N: Brusellozda bakteriyolojik tanı yöntemleri. Klimik Derg, 3(1): 21–22, 1990.
- 33.** Ariza J, Corredoira J, Pallares R, Viladrich PF, Rufi G, Pujol M, Gudiol F: Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. Clin Infect Dis, 1995, 20: 1241-1249,
- 34.** De Rautlin de la Roy YM, Grignon B, Grollier G, Coindreau MF, Becq- Giraudon B: Rifampicin resistance in a strain of Brucella melitensis after treatment with doxycycline and rifampicin. J Antimicrob Chemother, 1986, 18: 648–649,.
- 35.** Ablin J, Mevorach D, Eliakim R. Brucellosis and the gastrointestinal tract. J. Clin Gastroenterol 1997; 24 (1):25-9
- 36.** Yüce. A, Çavuş SA. Türkiye’de bruselloz :Genel Bakış. Klimik Dergisi • Cilt 19, Sayı:3 • 2006, s:87-97
- 37.** Eduardo G, Carlos C: Brucella. In: Sherwood L, Gorbach MD, John G. Barlett MD, Neil R.Blackow MD. Infectious Diseases Second Edition, Philadelphia: Wb Saunders Company, 1998:1837-1845
- 38.** Yagupsky P. Detection of Brucellae in blood cultures. J Clin Microbiol 1999;37:3437–42.
- 39.** Araj GF. Human brucellosis: a classical infectious disease with persistent diagnostic challenges. Clin Lab Sci 1999;12:207–12
- 40.** Araj GF, Brown GM, Haj MM, Madhavan NV. Assessment of brucellosis card test in screening patients for brucellosis. Epidemiol Infect 1988;100:389–98.
- 41.** Araj GF, Awar GN. The value of ELISA vs negative Coombs findings in the sero- diagnosis of human brucellosis. Serodiag Immunother Infect Dis 1997;8:169– 72.
- 42.** Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. J Hyg (London) 1986;97:457–69.
- 43.** Orduna A, Almaraz A, Prado A, et al. Evaluation of an immunocapture- agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. J Clin Microbiol 2000, 38: 4000-5

- 44.** Araj GF, Dhar R, Lastimoza JL, Haj M. Indirect fluorescent antibody test versus enzyme linked immunosorbent assay and agglutination tests in the serodiagnosis of patient with brucellosis. *Serodiag Immunother Infect Dis* 1990;4: 1–8.
- 45.** Aktaş O. Brusellozda Mikrobiyolojik Tanı. 2003. *Ankem Derg* 17 (No.3): s: 336-339
- 46.** Sippel JE, El-Marsy NA, Farid Z. Diagnosis of human brucellosis with ELISA. 1982. *Lancet*. 3; 2(8288):19-21.
- 47.** George F. Araj, Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;
- 48.** Smits HL, Abdoel TH, Solera J, Clavijo E, Dial R. Immunochromatographic Brucella-specific immunoglobulin M and G lateral flow assay for rapid serodiagnosis of human brucellosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:1141–6.
- 49.** Kattar MM, Zallou PA, Araj GF, Samaha-Kfoury J, Shbaklo H, Kanj SK, et al. 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* 2007;59:23–
- 50.** Yaylı G. Brusellozun Laboratuvar Tanısında Sorunlar. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı*. 2003;.11.:211-213.
- 51.** Ariza J, Bosch J, Gudiol F, et al. Relevance of in vitro antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* to relapse rate in human brucellosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 958-60.
- 52.** Akova M, Uzun Ö, Akalın HE, et al. Quinolones in treatment of human brucellosis: comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1993;37(9):1831-34.
- 53.** Gotuzzo E, Cellillo C. *Brucella*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Diseases*. 2nd Edition. W.B. Saunders Co., Philadelphia 1992; 1513-1521.
- 54.** Hall HW: *Modern Chemotherapy for Brucellosis in Humans*. *Rev. Infect. Dis*. 1990; 12: 1060.

- 55.** Taşova Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, İnal S. Bruselloz: 238 erişkin olgunun klinik, laboratuvar ve tedavi özelliklerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12: 307-12.
- 56.** Ariza J, Gudiol F, Pallares R, et. al. Treatment of human brucellosis with doxycycline plus rifampin or doxycycline plus streptomycin. *Ann Intern Med*, 1992; 117: 25-30.
- 57.** Özsüt H.: Bruselloz tedavisi. *Klimik Derg.* 1990; 3(1): 26-29.85-Solera J, Espniosa A, Geijo P, et al. Treatment of human brucellosis with netilmicin and doxycycline. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 441-5
- 58.** Lang R, Dagan R, Potamsan I, et al. Failure of ceftriaxone in the treatment of acute brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 506.
- 59.** Hall WH, Manion RE. Comparison of the Coombs test with other methods for *Brucella* agglutinins in human serum. *J Clin Invest* 1953;32(1):96-106.
- 60.** Reddin JL, Anderson RK, Jenness R, Spink WW. Significance of 7s and macroglobulin *Brucella* agglutinins in human brucellosis. *N Engl J Med.* 1965;17:272:1263-8.
- 61.** Hedman K, Rousseau SA. Measurement of avidity of specific IgG for verification of recent primary rubella. *J Med Virol.* 1989 Apr;27(4):288-92.
- 62.** Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E, Brucellosis. *N Engl J Med.* 2005;2:2325-36.
- 63.** Mesa JDR, Gonzales JS, Reguera JM, Martin L, Palmero SL, Colmenero JD. Rose bengal test : diagnostic yield and us for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas . *Clin Microbiol Infect.* 2005;11:221-5
- 64.** Sisirak M, Hukic M, Evaluation and importance of selected microbiological methods in the diagnosis of human brucellosis *Bosn J Basic Med Sci.* 2009; 9(3):198-203
- 65.** Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, Yılmaz M, Kurt C, Ongoren S, Tanrıverdi M, Ozturk R. The sensitivity and specificity of *Brucella* agglutination tests. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003;46:241-3

- 66.** Sirmatel F, Türker M, Bozkurt Aİ. Brusellozin serolojik tanısında kullanılan yöntemlerin değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bül 2002;36:161-7
- 67.** Klerk ED, Anderson R. Comparative evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay in the laboratory diagnosis of brucellosis. J. Clin. Microbiol. 1985;21:381-6.
- 68.** Marrodan T, Poliakova RN, Rubio M, Ariza J, Clavijo, Smits HL, Diaz R. Evaluation of three methods to measure anti-Brucella Ig M antibodies and interference of Ig A in the interpretation of mercaptan-based tests. J Med. Microbiol. 2001;50: 663-6.
- 69.** Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the Brucella standard agglutination test with the ELISA Ig G and Ig M in patients with Brucella bacteremia. Diagn. Microbiol. Infect . Dis. 2002;44:129-32
- 70.** Araj GF, Kattar MM, Fattouh LG, Bajakian KO, Kobeissi SA. Evaluation of the PANBIO Brucella immunoglobulin G (Ig G) and Ig M enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human brucellosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. .2005;12:1334-5
- 71.** Çiftçi C, Öztürk F, Öztekin A, Karaoğlan H, Saba R, Gültekin M, Mamıkoğlu L. Brusellozun laboratuvar tanısında kullanılan serolojik testlerin karşılaştırılması. Mikrobiyol. Bül. 2005;39:291-9
- 72.** White RG. Immunoglobulin profiles of the chronic antibody response :discussion in relation to brucellosis infections. 1978; 54:595-602.
- 73.** Buchanan TM, Faber LC. 2-Mercaptoethanol Brucella agglutination test : Usefulness for predicting recovery from brucellosis. J. Clin. Microbiol. 1980; 11: 691-3
- 74.** Zeytinoğlu A, Turhan A, Altuğlu İ, Bilgiç A, Abdoel TH, Smits HL. Comparison of Brucella immunoglobulin M and G flow assays with serum agglutination and 2-mercaptoethanol tests in the diagnosis of brucellosis. Clin. Chem. Lab. Med. 2006;44:180-184
- 75.** Andersson A, Vetter V, Kreutzer L, Bauer G. 1994. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr virus serology. J. Med. Virol. 43, 238–42

## X. EK

### HASTA FORMU

"Bruselloz tanısında serolojik testlerin değerlendirilmesi" çalışması

Dr. Sibel EL

ADI SOYADI

MESLEK:

TARİH:

YAŞ:

CİNSİYET:  Erkek  Kadın

TANI:

**Süreye göre tanı**

Semptomların başlamasından sonra, devam eden süreye göre;

Akut bruselloz: ≤ 2 ay

Subakut bruselloz: 2-12 ay

Kronik bruselloz: > 12 ay

Relaps: tedaviden sonra hastalığın tekrarlması

Akut bruselloz

Subakut bruselloz

Kronik bruselloz

Bruselloz relaps

.....

**Fokal/organ tutulumuna göre tanı (var ise):**  .....

**HASTALIK SÜRESİ:** ... /ay

**KLİNİK SEMPTOM VE BULGULAR:**

Yüksek ateş (>38°C)  Terleme  Baş ağrısı  Halsizlik  Eklem ağrısı

İştahsızlık  Kilo kaybı  Miyalji  Artralji  Abdominal ağrı

Öksürük  Lenfadenopati  Hepatomegali  Splenomegali  Artrit

.....  .....  .....  .....

**RADYOLOJİK TANI:**

.....  .....

**MİKROBİYOLOJİK TANI**

Rose Bengal testi:  (+)  (-)

Write testi:  1/t. ... usyonda (+)  (-)

Kültür:  (+)  (-)

.....

**LABORATUVAR BULGULARI:**

RP  IgM  IgG  IgA  C<sub>3</sub>  C<sub>4</sub>

Yüksek eritrosit sedimentasyon hızı

Lökopeni  Anemi  Trombositopeni  .....

.....  .....  .....

**TEMAS ÖYKÜSÜ:**

Mesleki  Hayvanlarla  Süt ve süt ürünleriyle  .....

**İMMÜN SİSTEMİ BOZAN HASTALIKLAR:**

Diyabet  Malignensi  Nötropeni  .....  .....