

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA İLİNDEKİ RİSK GRUPLARINDA
BRUSELLOZİSİN SEROPREVALANSI VE TANIDA
KULLANILAN SEROLOJİK YÖNTEMLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

İbrahim Halil ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Fadile YILDIZ ZEYREK

**ŞANLIURFA
2008**

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA İLİNDEKİ RİSK GRUPLARINDA
BRUSELLOZİSİN SEROPREVALANSI VE TANIDA
KULLANILAN SEROLOJİK YÖNTEMLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

İbrahim Halil ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Fadile YILDIZ ZEYREK

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kurumu Başkanlığı tarafından 850 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA
2008**

TEŐEKKÜR

Tez çalıŐmalarımın gerçekleŐmesinde beni destekleyen, yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen, bilgi ve tecbesinden yararlandığım, titiz, disiplinli ve yenilikçi çalıŐmalarından dolayı yanında çalıŐmaktan onur duyduğum, hiçbir zaman özveri ve hoŐgörüsünü esirgemeyen değerli hocam, tez danıŐmanım sayın Doç. Dr. Fadile YILDIZ ZEYREK'e, yine yüksek lisans eğitimim ve tez çalıŐmalarım süresince bilgilerine baŐvurduğum, deneyimlerinden çok faydalandığım Anabilim Dalı BaŐkanımız sayın Prof. Dr. Sami TAŐŐI'ya ve eğitimimde katkısı olan Anabilim Dalı ğretim yesi sayın Doç. Dr. Mehmet BAYRAKTAR'a, her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen değerli arkadaŐım Dr. Adem DAğ'a ve tez çalıŐmam süresince laboratuvar çalışmalarında yardım ve desteklerini hissettiğim ve uyum içinde çalıŐtığım, her zaman yardım ve dostluklarını gördüğüm HR. Tıp. Fak. ArŐ. ve Uyg. Hast. Mikrobiyoloji Laboratuvarı personeline en içten teŐekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tanım.....	4
2.2. Tarihçe	4
2.3. <i>Brucella</i> Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri.....	5
2.4. Taksonomi.....	7
2.5. Rezervuarları.....	9
2.6. Patogenez	10
2.7. Dirençlilik.....	12
2.8. Antijenik Özellikler.....	13
2.9. Bulaş Yolları	17
2.10. Klinik Özellikleri.....	18
2.10.1. Asemptomatik enfeksiyon.....	18
2.10.2. Akut enfeksiyon.....	18
2.10.3 Subakut enfeksiyon.....	19
2.10.4. Kronik enfeksiyon.....	19
2.11. Komplikasyonlar.....	20
2.11.1. Osteoartiküler Enfeksiyonlar.....	20
2.11.2. Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları.....	20
2.11.3. Solunum Sistemi Enfeksiyonları.....	21
2.11.4. Gastrointestinal/ Hepatobilier Sistem Enfeksiyonları.....	21
2.11.5. Ürogenital Sistem Enfeksiyonları.....	21
2.11.6. Kardiyovasküler Sistem Enfeksiyonları.....	21
2.11.7. Hematolojik sistem.....	22
2.11.8. Cilt Enfeksiyonları	22
2.11.9. Oküler Enfeksiyonlar.....	22
2.12. Epidemiyoloji, Korunma ve Kontrol	22
2. 12. 1. Epidemiyoloji.....	22
2. 12. 2. Korunma ve kontrol	26
2.13. Brusellozun laboratuvar tanısı.....	27

2.13.1 Bakteriyolojik tanı.....	27
2.13.2 Sorolojik Tanı.....	29
2.13.3 Çabuk Aglütinasyon Testleri.....	30
2.13.4. Serum Aglütinasyon Testi (SAT).....	31
2.13.5. Rivanol veya Merkaptotonol (2-ME) Testleri.....	32
2.13.6. Coombs testi.....	32
2.13.7. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	33
2.13.8. Kompleman Fikasyon Testi (CFT).....	34
2.13.9. Radioimmunoassay (RIA).....	34
2.13.10. İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA).....	34
2.13.11. Presitan Antikor Testleri.....	34
2.13.12. Immuno Western blotting.....	35
2.14. Allerjik Tanı.....	33
2.15. Serolojik Çapraz Reaksiyonlar.....	35
2.16. Moleküler Tanı.....	36
2.16.1. Bruselloz tanısında PCR Yöntemi.....	36
2.17. Radyolojik İnceleme.....	36
2.18. Hayvan Deneyi.....	36
2.14. Bağışıklık.....	37
2.15. Antibiyotik Duyarlılık Ve Tedavi.....	37
2.16. Brusellozun Tedavisi.....	39
3. MATERYAL VE METOD	40
3.1. Antijenler	40
3.2. Serolojik Testlerin Uygulanması	41
3.2.1. Rose-Bengal Testi (RBT)	41
3.2.2 Wright Tüp Aglütinasyon Testi	42
3.2.3 Coombs Testi.....	43
3.2.4. ELISA.....	43
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
6. KAYNAKLAR.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil-1. Brusellozda seroloji	12
Şekil-2. Rose Bengal deneyi.....	42
Şekil-3. Tüp aglütinasyon deneyi.....	43

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo-I	<i>Brucella</i> türlerinin ayırt edici özellikleri7
Tablo-II.	Türkiye’de Brusellozisin Bulaş Yolları24
Tablo-III.	Bazı <i>Brucella</i> türlerinin konakçıları ve insanlarda görülme sıklığı25
Tablo-IV.	Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri ve test sonuçlarının dağılımı.....47
Tablo-V.	Meslek gruplarına göre seropozitifliğin dağılımı.....48
Tablo-VI.	Serolojik test sonuçlarının spesifite ve sensitivite açısından karşılaştırılması.....48
Tablo-VII.	Uygulanan testlerin sonuçları.....49

KISALTMA VE SİMGELER

- DNA: Deoksiribo Nükleik Asit
D.S.Ö: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Ig: Immunglobulin
Kdal: Kilo dalton
LPS: Lipopolisakkarit
NH: Nativ Hapten
OD: Optik Dansite
OMP: Outher Membran Protein
PBS: Fosfat Buffer Solusyon
PBS-T: Fosfat Buffer Solusyon-Tween 20
PPD: Pozitif Prediktif Değer
PG: Peptidogalikan
PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
NPD: Negatif Prediktif Değer
RB: Rose Bengal
rLPS: rough Lipopolisakkarit
STA: Serum Süp Aglütinasyon
sLPS: smooth Lipopolisakkarit
 μ L: Mikrolitre
pH: Asidite
°C: Santigrat derece

ÖZET

Şanlıurfa İlindeki Risk Gruplarında Brusellozisin Seroprevalansı Ve Tanıda Kullanılan Serolojik Yöntemlerin Karşılaştırılması

İbrahim Halil ŞAHİN

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Zoonotik bir hastalık olan bruselloz, 21. yüzyılda hâlâ Türkiye dahil dünyanın pek çok bölgesinde endemik olarak görülmektedir. Brusellozis gelişmekte olan birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de bir halk sağlığı problemi olarak önemini korumaktadır.

Bu çalışma, Şanlıurfa il merkezindeki brusellozis açısından risk grubunda bulunan bireylerin serumlarında *brucella* aglütininlerinin Rose Bengal testi, Serum Tüp aglütinasyon Testi ve ELISA testi ile taranması ve bu testlerin brusellozisin serolojik tanısındaki etkinliklerinin karşılaştırılması amacıyla, Haziran 2007-Ağustos 2008 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma grubu il merkezindeki mezbahada çalışan 47 kişi ve farklı semtlerde bulunan 22 veteriner hekim, 16 kasap ve 22 çiftçi olmak üzere toplam 107 kişiden; kontrol grubu ise brusellozis açısından risk grubunda olmayan 20 kişiden oluşturuldu. Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin tümü erkek idi.

Çalışmaya katılan kişilerden alınan serum örnekleri inaktive edildikten sonra örneklerin hepsine *brucella* lam aglütinasyon testi (Rose Bengal testi), Serum tüp aglütinasyon testi, Coombs testi ve ELISA testi uygulandı. Çalışmada elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizi için SPSS 15.0 Windows XP paket programı kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında Ki-Kare (χ^2) testi kullanıldı ve $p \leq 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışma grubundaki 107 kişinin ELISA testiyle 18(%18.82)'i, RB testiyle 19(%17.76)'u ve STA testiyle 14(%13.08)'ü seropozitif olarak bulundu. ELISA testi ile mezbahada çalışan 47 kişinin 9(%19.15)'unda, 16 kasabın 3(%18.75)'ünde, 22 veteriner hekimin 4(%18.18)'ünde, 22 çiftçinin 2(%9.09)'sinde pozitif sonuç bulunmuştur. Ayrıca kontrol grubundaki bireylerin tümünde ise negatif olarak bulunmuştur. ELISA testiyle Çalışma ve kontrol grupları arasında seropozitiflik oranı açısından elde edilen fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

Ayrıca serolojik testlerin etkinliklerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan bu çalışmada, ELISA testinin kullanılan diğer serolojik testlere göre duyarlılığı %100, özgüllüğü %98.88, pozitif prediktif değeri %94.44, negatif prediktif değeri ise %100 olarak bulundu.

Sonuç olarak; yaptığımız bu çalışma Şanlıurfa il merkezindeki risk gruplarında seropozitifliğin, mesleki açıdan risk gruplarında olmayan bireylere oranla daha yüksek olduğunu göstermesi ve risk grubunda olan bireylerde brusellozis seropozitifliğini gösteren ilk çalışma olması açısından önemlidir. Ayrıca brusellozisin tanısında kullanılan serolojik yöntemlerin karşılaştırılması sonucunda ELISA testinin diğer klasik testlere oranla; Ucuz maliyeti, kullanım kolaylığı ve yüksek duyarlılığı birlikte düşünüldüğünde ELISA testinin bruselloz tanısı için uygun bir tarama testi olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Brucella*, Bruselloz, Seroprevalans, ELISA, Şanlıurfa, Risk grubu

ABSTRACT

Seroprevalance of brucellosis among risk groups in Şanlıurfa and comparison of appleid serological tests

İbrahim Halil ŞAHİN

Microbiology, Master Thesis

Brusellozis is a zoonotic disease which is still seen in the 21st century endemically in a lot of countries all over the world including Turkey. Brucellosis has still public health priority in many developing countries.

This study was carried out in sera of persons who were at risk under brucellosis using Rose Bengal (RB), Serum tube agglutination (STA) and ELISA tests for detecting *brucella* agglutinins and comparing their efficiencies in Brucellosis serologic diagnosis between June 2007 and August 2008 in Sanliurfa center. The study group consists of 47 person working slaughter house workers in, 22 veterinares working various districts ,16 butchers and 22 farmers totally 107 person. The control group was composed of 20 people who were not at risk for brucellosis. Genders of both the study and the control groups were males.

Serum samples collected from study and control groups were inactivated and studied the for Rose Bengal test, serum tube agglutination test, Coombs test and ELISA test. All data obtained from study were analyzed statistically using SPSS 15.0 Windows XP packet. The chi-squared test was used for comparison of the groups and p-values of 0.05 were taken to indicate statistical significance.

Among 107 person in risk groups, 18 (18.82%) were found to be positive for ELISA tests, 19 (17.76 %) were positive for RB test and 14 (13.08%) were found positive for STA test. 9 (19.15%) of 47 working slaughter house workers, 3 (18.75) of 16 butchers 4 (18.18%) of 22 veterinares and 2 (9.09%) of 22 farmers were positive by ELISA tests. All of persons in control group were negative. Seropositivity rates using ELISA test were found statistically significant between risk group and control groups ($p < 0.01$).

Comparing of efficiency of serologic tests, sensitivity, positive predictive value and negative predictive value of ELISA test were found 100%, 94.44% and 100% respectively.

As a result, this study indicated that rate of seropositivity in risk groups were high as compared to control group. This is the first important study showed *brucella* seropositivity rates in risk group. Comparing serologic tests used in brucellosis diagnosis, ELISA test was more and has high sensitivity and easy to apply. This ELISA test produced suitable screen test for Brucellosis serodiagnosis.

Key words: *Brucella*, brucelloz, seroprevalance, ELISA, Şanlıurfa, Risk group

1. GİRİŞ

Bruselloz dünyada yaygın olarak görülen, özellikle evcil hayvanları etkileyerek abortus ve infertiliteye neden olan zoonotik bir hastalıktır. Bu mikroorganizmalar insanlara kontamine materyallerin doğrudan temasıyla veya enfekte hayvanlardan elde edilen gıdalardan geçerek, başlangıçta genel enfeksiyon ve sepsis ile seyreden, sonraları kronikleşerek çeşitli organlara yerleşme eğiliminde olan hastalıklara yol açar(1-10).

İlk kez 1860'da Marston tarafından tanımlanan bruselloz; ateş, terleme, kas ağrısı ve sırt ağrısı ile seyreden akut bir tablo olarak görülebildiği gibi, değişik süreç ve belirtilerle ortaya çıkan tablolar da oluşturabilir. Etken mikroorganizmaların genetik yapıları hakkında bilgiler uzun yıllar tam olarak açıklanamamasına karşın 1984 yılında sonra hız kazanmıştır. Bruselloz dünyada ve ülkemizde ekonomik kayıplara yol açan zoonozların en yaygını olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu nedenle bruselloz etkeninin izolasyonu ve identifikasyonu epidemiyolojik ve eradikasyon programlarında halen önemli bir yer tutmaktadır (1-3,11).

İnsanlarda bruselloz bulgu ve belirtilerinin çok değişken olması nedeniyle gözden kaçmakta, hastalık uzun süre seyretmekte, kişinin çalışma gücünü ve psikolojik yapısını bozmaktadır. Ayrıca besi hayvanlarında oluşturduğu düşük sonucu et ve süt kaybına yol açarak ekonomik kayba neden olmaktadır. Gerek ülke ekonomisi gerekse insan sağlığına verdiği zararlardan dolayı bruselloza önem verilmesi ve eradike edilmesi gerekmektedir.(2-5,8,11)

Brusellozun önlenmesi ve kontrol stratejisi, enfeksiyonun patogenezi ve epidemiyolojisine dayanmaktadır. Prevalans çalışmaları bir hastalıkla mücadele etmek için

gerekli bilgilerin edinilmesini sağlar ve bu çalışmalar hastalığın kontrolü ve önlenmesi açısından önemlidir, risk faktörlerini ve öncelikleri belirler. Bu nedenle çalışmadaki bruselloz prevalansı ve epidemiyolojik seropozitif veriler ile brusellozin tanısındaki testlerin etkinliklerinin belirlenmesinin önemi ortaya çıkmaktadır.

Günümüzde yoğun hayvan ve besin ticareti, hayvancılık ve besin üretimi yöntemlerinin hala geleneksel olmasının yanında hastalığın tanı ve tedavisindeki yetersizlikler problemi büyütülmektedir. Hastalığın nadiren akla gelmesi, hastalık belirtilerinin bir çok başka hastalıkla karışabilmesi ve laboratuvar yetersizlikleri hastalığın olduğundan daha az bilinmesi sonucunu doğurmaktadır. Hastalığın hızlı tanısı çok önemlidir. Brusellozda etken *brucella* bakterileridir. Bunların geç ve güç üremeleri, üreme için özel besiyeri gerektirmesi, hücre içi parazit olmaları, genellikle tanıdan önce alınan antibiyotik tedavisi tanı konmasını zorlaştıran başlıca etkenlerdir(1-10,11). Oysa yapılan saha araştırmaları bruselloz prevalansının çok daha fazla olduğunu, ülkemizde endemik bölgelerde prevalansın %0.3-26.7 arasında değiştiğini ortaya koymuştur(18,19,20,23,24).

Brucella antijenlerine karşı antikorların araştırıldığı Rose Bengal testi, standart tüp aglütinasyon testi, 2-merkaptöetanol testi, coombs testi, mikroaglütinasyon testi, kompleman fiksasyon testi, radioimmünassay, indirek floresan antikor testi, ELISA gibi serlojik testler ile immunblot testler ve PCR gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Rutin çalışmalarda sık kullanılan standart tüp aglütinasyon testi ile elde edilen sonuçlar akut, subakut veya kronik enfeksiyonun ayırt edilmesine olanak vermemektedir. Bu nedenle antikor subgruplarının belirlenmesine olanak sağlayan modifikasyonlar veya yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur.

Şanlıurfa ilindeki risk gruplarında brusellozisin seroprevalansı ile ilgili yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Araştırmamızda il merkezindeki brusellozis açısından risk

grubunda bulunan bireylerin serumlarında *brucella* aglütinlerinin Rose Bengal testi, Serum Tüp aglütinasyon Testi ve ELISA testi ile taranması ve bu testlerin brusellozisin serolojik tanısındaki etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TANIM

Bruselloz, evcil ve vahşi hayvanların hastalığı olup, aynı zamanda insanlara da bulaşabilen bir zoonozdur(4). Koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi evcil hayvanların genitoüriner sistemlerine yerleşerek genital organ, meme bezleri, plasenta enfeksiyonları, abortus ve infertiliteye neden olan bir enfeksiyon hastalığıdır. Etken insanlara bütünlüğü bozulmuş deri ve mukozalardan bulaşabildiği gibi, et, süt, dışkı, deri gibi infekte maddelerle solunum ve sindirim yolundan geçebilmektedir. Bu nedenle başlangıçta genel enfeksiyonlara, sonraları kronikleşerek çeşitli organlara yerleşme eğilimi gösteren bir enfeksiyon hastalığıdır. Sporadik olgular genellikle meslek hastalığı biçiminde görülürken, infekte maddelerden bulaş ise sağınlara neden olmaktadır(1-11).

2.2. TARİHÇE

Eski çağlardan beri bilinen bruselloz ten ilk olarak Hippocrates m.ö. 5.yy'da söz etmiş ve *brucella* enfeksiyonları için günümüze değin Ondulan ateşi, Akdeniz ateşi ve malta humması gibi değişik isimler kullanılmıştır. 18 ve 19. yy'da malta'daki İngiliz askerleri arasında önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olmuş ve ilk olarak hastalığın klinik bulguları ve seyri tanımlanır hale gelmiştir. 1859'da marston tarafından ilk kez "*Mediterranean gastric remitten fever*" adıyla tanımlanmıştır. 1886 yılında Sir David Bruce, malta ateşinden ölen bir olgunun dalağında *Micrococcus melitensis*'i hastalık etkeni olarak izole etmiştir(4). 1918 yılında keşfeden kişinin ismine atfen "*Brucella melitensis*" olarak adlandırılmıştır. Organizma tür ismi hastalığın ilk defa malta adasında görülmesinden dolayı Romen dilinde malta anlamına gelen "*melita*" kelimesinden almıştır.(10). Zammit, 1905'te Malta'da bruselloz rezervuarının keçiler olduğunu ortaya koymuş ve o dönemde askeri personelin, pastörize edilmemiş keçi sütünü tüketmesi engellenerek hastalık insidansında dramatik azalma sağlanmıştır.(12). 1895'te Danimarkalı veteriner hekim Bernard Bang sığırlarda abortus etkeni olarak *Bacillus*(daha sonra *brucella* ismini almıştır) *abortus*'u tanımlamıştır. 1914 yılında Traum, abortus yapan domuzlarda *Brucella suis*'i izole etmiştir. 1918 yılında Alice Evans bu üç organizmanın aynı cinsten olduğunu ifade etmiş ve bu genusa "*Brucella*" adını vermiştir. 1897 yılında Wright, bruselloz tanısı için ilk kez serum aglütinasyon testini uygulamıştır. 1968'te Carmichael köpeklerden *Brucella canis*'i izole

etmiş, 1953'te koyunlarda *Brucella ovis* izole edilmiştir. *Brucella ovis* koçlarda epididimit ve orşit yapmakta, dişi hayvanlarda abortusa ve doğan kuzuların ölümüne neden olmaktadır. 1957'de ratlardan *B.neotomae* izole edilmiştir. *Brucella ovis* ve *Brucella neotomoe* insanlar için patojen değildir(10). *B.suis*'in dördüncü biovarı olarak bilinen *B.rengifer* Rne geyiği brusellozu etkenidir. Ve Eskimolarda hastalık yaptığı saptanmıştır. Son zamanlarda deniz memelilerinden *B.maris* olarak izole edilen farklı *brucella* suşlarının izolasyonu bu genusun ekolojik alanını ve bir zoonoz olarak potansiyel kapsadığı alanı genişletmiştir. *Brucella* enfeksiyonu ülkemizde I. Dünya savaşı döneminden beri bilinmektedir. Türkiye'de ilk bruselloz olgusu 1915 yılında Kuleli Askeri Hastanesinde bir erde, Hüsamettin Kural ve Mahmut S. Akalın tarafından saptanmıştır. Sığırlarda ise 1931'de Zühtü Berke, koyun ve keçilerde de 1943'de Golem ve 1944'te de Köylüoğlu ve Aktan tarafından saptanmıştır(13).

2.3. *Brucella* Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri.

Brucella türleri Gram negatif kokobasil görünümde, 0.5-0.7 µm eninde, 0.6-1.5 µm boyunda çok kısa zincirler veya küçük kümeler oluşturabilen mikroorganizmalardır. Flajellaları yoktur, hareketsizdirler. Aerop mikroorganizmalar olup terminal elektron yakalayıcı olarak oksijen veya nitratı kullanan ve sitokroma dayalı elektron transport sistemi bulunmaktadır. Kemorganotropik olan bu bakteriler, üreme ortamlarında aminoasitler, thiamine, nicotinamide ve magnezyum iyonları gibi zenginleştiricilere gereksinim duyarlar. Bazı suşlar için nitrojen kaynağı olarak amonyum tuzları içeren besiyerlerinin kullanımı üremeyi indükleyebilir. Besiyerine serum, gliserin . glukoz veya kan eklenmesi üremeyi artırır. Fakat hemin(X faktör) veya NAD[Nikotin-Amid Adenin Dinükleotid(V faktör)] gibi destekleyicilere gereksinim duymazlar. *Brucella* bakterileri kanlı agara ve çikolata agarda zayıf ürerken Mac Conkey agar, Eosine Methylene Blue (EMB) agar veya diğer enterik besiyerlerinde üremezler.(8,9,10,11,13,16).

Bütün *brucella* türleri aerobiktir. Ve üremelri için oksijene gereksinim duyarlar. *B.abortus* ilk izolasyonlarında mikroaerofilik olup üremek için %10'luk CO₂'li ortama gereksinim duyar. Optimum üreme ısıları 37 °C' dir. 20 °C-40 °C arasındaki sıcaklıklarda da üreme olabilir. pH:6.8-7'de ürerler. İnkübasyondan 2-3 gün sonra kolonileri görülebilir ancak 4-5 gün sonra 2-3 mm büyüklüğüne ulaşır. Kolonileri hemolizsizdir. Şeffaf besiyerlerinde çok açık bal sarısı, şeffa, konveks, düzgün kenarlı, S tipi, parlak, küçük, şebnem tanesine benzeyen koloniler oluştururlar. Pigment oluşturmazlar. *B.melitensis* ve bazı *b. abortus* suşları

zamanlı esmer-kahverengi bir renk alırlar. S tipi olmayan koloniler de oluşturabilirler. *B. canis* ve *b. ovis* R tipi koloniler yaparlar. İnsanlar da dahil olmak üzere çeşitli organizmalarda intrasellüler olarak yerleşen patojen mikroorganizmalardır.(38,40,42,43,45,47,48).

Karbohidratlardan asit oluşturular. Genelde metabolizmaları oksidatifdir. Oksidaz ve katalaz rekasiyonları pozitifdir. Nitratları nitrite indirgerler. Sütte hafif alkalireaksiyon yaparlar. Jelatini eritmez ve triptofandan indol halkası oluşturmazlar. Nitritten gaz oluştururlar. Voges-preskaur testi negatiftir(38,40,42,43,45,47,48).

Organik kükürtlü bileşikleri parçalamaları sonucunda *B.melitensis*,*B.abortus* ve *B.suis* H₂S oluşturur. *B.suis* en uzun süre (3-5 gün) ve en fazla miktarda, *B.abortus* orta süre (2 gün) ve miktarda, *B.melitensis* ise en az süre (1 gün) ve miktarda kükürtlü hidrojen yapar (40).

Brucella türleri üremeleri için CO₂ gereksinimleri, üreaz aktiviteleri ve H₂S üretimi, bazik fuksin ve thionin ve thionin mavisi boylarına duyarlılıkları türlere göre değişir. Boya duyarlılıkları biyovarlarnın ayırımında kullanılır. Besiyerlerine belli konsantrasyonlarda konunla thionin, bazik fuksin, kristal viyole ve pironin gibi maddelere karşısında *B.melitensis* inhibisyona uğramadan ürer. *B. abortus* yalnız thionin tarafından inhibe olur. *B. suis* ise thionin dışındaki bazik fuksin, kristal viyole, pironin tarafından inhibe edildiği halde thioninden etkilenmiyerek üremesinin sürdürür. Ayrıca inozitol, mannoz, ramnoz ve trehaloz gibi karbohidratları fermente etme bakımından da türeler arasında ayrılıklar görölmektedir(40).

B.abortus ve *B. suis* biyokimyasal ve srolojik farklılıklarına göre biyovarlara ayrılırken *B.melitensis* serolojik özelliklerine göre biyovarlara ayrılır. *B. melitensis* bazik fuksin, thionin, ve thionin mavisi boylarına dirençlidir. *B. melitensis*, *B. suis* ve *B. abortus* yoğun inokülümelerde üreaz pozitifken, *B.suis* 5 dakika içerisinde üreaz aktivitesi gösterir. Ayrıca cins spesifik monoklonal antikor kullanılarak uygulanan koaglutinasyon yöntemleri ile *b. melitensis*, *b. abortus* ve *b. suis*'e ait A ve M antijenleri saptanabilir (38,40,42,43,48).

Ayrıca bu etkenlerin tipilendirilmesinde bakteriyofajlara duyarlılıkları da önemli bir kriterdir.tiplendirmede Weybridge (Wb), Tbilisi (Tb), Berkeley (Bk₂), Firenze (Fi) fajlarından yararlanılır.(48)

Günümüzde *Brucella* türleri ticari kit sistemleri ile identifiye edilememektedir. *Brucella* türlerini; Nonenterik API 20NE sistemi *Moraxella phenylpyruvica*, MicroScan Negative COMBO Tip 5 sistemi(Dade-MicroScan, West Sacramento,CA) *Moraxella* olarak,

Haemophilus-Neisseria İdentifikasyon(HNID) paneli (Dade-MicroScan) ise *Haemophilus influenzae* biotip IV olarak tiplendirmiştir. Bir vakada Nonenterik API 20NE sistemi ile *B. melitensis* identifikasyonu yapan bir teknisyenin bruselloz olduğu bildirilmiştir (11).

Tür	Biovar	CO ₂	H ₂ S	Üreaz	Boyalarda Üreme					Aglütinasyon			Tb fajı erime		Konak
					Thionin			Fuksin		Anti A	Anti M	Anti R	RTD	10.000xRTD	
					a	b	c	b	c						
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	D	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	Koyun
	2	-	-	D	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	Keçi
	3	-	-	D	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	İnsan
<i>B. abortus</i>	1	+,-	+	1-2 h	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	Sığır
	2	+	+	1-2 h	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	
	3	+,-	+	1-2 h	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	4	+,-	+	1-2 h	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	İnsan
	5	-	-	1-2 h	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
	6	-	-+	1-2 h	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	7	-	-+	1-2 h	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
	8	+	-	1-2 h	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
	9	-,+	+	1-2 h	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
<i>B. suis</i>	1	-	++	0-30 dk	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	Domuz
	2	-	-	0-30 dk	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	Domuz
	3	-	-	0-30 dk	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	Domuz, İnsan
	4	-	-	0-30 dk	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Ren geyikleri
	5	-	-	0-30 dk	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	Kemiriciler
<i>B. neotomae</i>	1	-	+	0-30 dk	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	Neotoma lepida
<i>B. ovis</i>	1	+	-	0	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	Koç
<i>B. canis</i>	1	-	-	0-30 dk	+	+	+	-	±	-	-	+	-	-	Köpek, insan

a: 1/20.000 b :1/50.000 c:1/100.000 A: Mono spesifik abortus serumu, M: Mono spesifik melitensis serumu R: anti R *Brucella* serumu, Tb :Tbilisi , RTD : Rutin test dilüsyonu –Boya deneyleri, Trypticase Soy Agar veya Tryptose Agar’ da yapılmıştır.

Tablo-1. *Brucella* türlerinin ayırt edici özellikleri (9).

2.4. Taksonomi

Yıllar boyunca *Brucella* türlerinin taksonomisi tam olarak belirlenememiştir. 1985 yılında Verger ve ark. DNA-DNA hibridizasyon tekniğini kullanarak 51 *Brucella* suşunu tiplendirmişler ve bütün izolatların birbirleriyle %96±4 homolojiye sahip olduklarını saptamışlardır. Bu araştırmacılar bütün *Brucellae* ailesinin tek bir türününolduğunu (*B. melitensis*) bildirmişlerdir. Daha önce adlandırılan türleri ise *B. melitensis*'in biyovarları şeklinde isimlendirmişlerdir(*B. melitensis* biovar *melitensis*, *B. melitensis* biovar *abortus*

gibi). *Brucella* suşlarıyla yapılan Multilokus Enzim Elektroforetik Analiz çalışmaları da monospesifik cins kavramını desteklemiştir. *Brucella* türlerinin biyokimyasal ve serolojik özelliklerinin, virulanslarının ve rezervuarlarının farklı olması nedeniyle bu tanımlama tam olarak kabul görmemiştir. Ayrıca her türe özgü OMP gen bölgeleri bulunmaktadır. Restriksiyon endonükleaz enzimleriyle yapılan moleküler çalışmalar sonucunda türler *B.melitensis*, *B.abortus*, *B. canis*, *B.suis* olarak birbirinden ayrılmıştır. Fakat bu yöntem türler arası biyovaryoları birbirinden ayıramamıştır. Geleneksel yöntemlerden biri olan tiyoinin ve fuksin boyalarına dirençten sorumlu, 36 kDa OMP proteinini kodlayan omp2 porin geni *Brucella* türlerinin ayırımında kullanılan gen bölgesidir (43, 48).

Diğer bakterilerden farklı olarak *B. suis* biovar 3 dışında bütün *Brucella* türlerinin, genomlarında iki kromozom bulunmaktadır. *B. melitensis* 16 M suşunun bütün genom analizi yapılmış kromozomlardan birinde 1.177.787 baz çifti değerinde ise 2,117,144 baz çifti olmak üzere, toplam 3.294.935 baz çifti olduğu bulunmuştur. Her bir kromozom bakterinin replikasyonu ve hayatsal faaliyetleriyle ilgili fonksiyonlara sahiptir(43, 48).

Brucella türlerinde plazmidler, transformasyon ve konjugasyon görülmez. DNA-RNA hibridizasyon ve 16S rRNA dizi analizi çalışmaları *Brucella* türlerinin *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bartonella*, *Ochrobactrum* ve *Phylobacterium* türleriyle filogenetik olarak ilişkili olduğunu göstermiştir (43, 48).

Brucella türlerine en yakın tür *Ochrobactrum anthropi* hibridizasyon grup 2 (yeni adı *Ochrobactrum intermedium*)'dur. *Brucella* türlerine spesifik primerlerle yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'na dayalı yöntemlerde yanlış pozitifliklere yol açarlar. *Brucella* türleri günümüzde *Proteobacteria* aleminde, *Rhodospirilli* sınıfında, *Rhizobiales* takımında, *Brucellaceae* ailesinde yer almaktadır(43).

2005 yılında "International Committee on Systematics of Prokaryotes- Subcommittee on the Taxonomy of *Brucella*" altkomitesi 6 *Brucella* türü tanımlamıştır ve bu tür isimleri kesin olarak geçerlilik kazanmıştır. Bu komiteye göre *Brucella* (Meyer&Shaw 1920) cinsine ait türler şu şekilde yayınlanmıştır (46);

- *Brucella melitensis* (Hughes 1893, Meyer&Shaw 1920),
- *Brucella abortus* (Schmidt 1901) Meyer&Shaw 1920),
- *Brucella suis* (Huddleson 1929),
- *Brucella ovis* (Buddle 1956),
- *Brucella neotomae* (Stoenner and Lackman 1957),

- *Brucella canis* (Carmichael and Bruner 1968)

Ayrıca, 2001 yılında Cloeckaert ve arkadaşları tarafından isimlendirilmiş *Brucella cetaceae* and '*Brucella pinnipediae*' türleri de komite tarafından alınan kararla ilerleyen zamanlarda resmi olarak *Brucella* cinsine ait tür listesine ekleneceği bildirilmiştir (46).

2.5. Rezervuarları:

Zoonotik bir enfeksiyon olan brusellozun rezervuarı evcil hayvanlardır. *Brucella* cinsine ait her bir tür patojendir. *Brucella* bakterilerinin memeli hayvanların yanında böceklerde ve kenelerde de enfeksiyon yaparlar. Ayrıca sürüngenler ve amfibiler deneysel olarak *Brucella* bakterileri ile enfekte edilebilmiştir (42,43).

B. abortus, ineklerde görülebildiği gibi atlarda, bizonlarda, bufalolarda ve Tibet sığırlarında görülmüştür. *B. abortus* sığırlarda patojeniktir fakat koyunları, keçileri, köpekleri, bizonları, bufaloları atları ve insanları da enfekte eder. *B. abortus*'un 7 biyovarı vardır (42,43,48)

B. melitensis, koyunları ve keçileri enfekte edebildiği gibi develeri, sığırları ve alpakaları da enfekte etmektedir. *B. melitensis* 3 biyovara ayrılır (42,43,48).

B. suis genelde domuzlarda enfeksiyon oluşturur. *B. suis* 'in 5 biyovarı vardır. *B. suis* biyovar 1, 2, 3 domuzlar için patojendir. *B. suis* biovar 4, Arktik bölgelerde ren geyiği ve karibularda, Biyovar 5 ise kemirgenlerde enfeksiyon yapar. Brezilya ve Kolombiya' da *B. suis* biovar 1'in sığırlarda da enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir (42,43,48).

B. canis, insanlarda enfeksiyon yapabildiği gibi köpeklerde de yavru atmaya neden olabilmektedir. Bakteri ayrıca tilkilerden ve kurtlardan da izole edilmiştir *B. canis* tek bir biyovara sahiptir İnsanlarda nadiren enfeksiyon oluşturur ve enfeksiyonların çoğu laboratuvar kaynaklıdır (42,43,48).

B. melitensis, *B. abortus* ve *B. suis* insanlar için patojendir ve *B. melitensis* en virulan suştur. Koyunlardan izole edilen *B. ovis*, kemirgenlerden izole edilen *B. neotomae* ve deniz memelilerinden izole edilen *B. cetaceae* ve *B. pinnipediae* türleri insanlar için patojenik değildir (42,43).

1997 yılında İskoçya'da çeşitli deniz memelilerinden ve bir yunustan bir *Brucella* türü izole edilmiştir. Daha sonra foklardan ve susamurlarından da aynı suş izole edilmiştir. *B. maris* olarak adlandırılan bu türün 2 biyovarı vardır. Düşük yapmış şişe burunlu yunusların

fetuslarından izole edilen tür *B. delphini* olarak adlandırılmıştır (43).

Moleküler yöntemlerle yapılan tiplendirme çalışmaları sonucunda balinalardan, foklardan ve yunuslardan izole edilen *Brucella* türünün diğer *Brucella* türlerinden dış membran proteinleri (OMPs) ve LPS yapılar açısından farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. *Brucella* cinsine özgü IS711 gen bölgesi deniz memelilerinden izole edilen *Brucella* türlerinde de ortaktır fakat kromozomdaki lokalizasyonu diğer türlerden farklıdır. Omp genlerinden sekanslama yapılmış ve deniz memelilerinden izole edilen suşların genomik açıdan birbirinden çok farklı olduğu görülmüştür. Dış membran proteinini kodlayan omp2 gen bölgesinde görülen polimorfizmlere dayanılarak deniz memelilerizi izolatları "*B. pinnipediae* ve *B. cetaceae*" olarak 2 yeni tür altında toplanmıştır. Yapılan çalışmalarda sığırlar deniz memelilerinden izole edilen türlerle enfekte edilmiş, bu türlerin de sığırlarda enfeksiyon oluşturduğu bulunmuştur. Bu konu ile ilgili filogenetik çalışmalar halen devam etmektedir (43).

2.6. Patogenez

Brucella bakterileri fakültatif hücre içi mikroorganizmalardır. Fagositler içinde dahi uzun sürelerle canlılıklarını koruyabilirler. İnsan enfeksiyonuna yol açan türler arasında en virülan olanı ve ağır hastalık tablolarından sorumlu olanı, *B. melitensis'* dir. *B. abortus* ise en az virülansa sahiptir. Vücuda giren bakteriler öncelikle PMNL' Ierce fagosite edilir. Diğer türlerin aksine, *B. melitensis*, PMNL içindeki bakteri öldürücü mekanizmalara direnç gösterir. Bu olayda, bakterinin içerdiği adenin ve guanozin monofosfat etkinliği ile PMNL'nin degranülasyonunun önlenmesinin önem taşıdığı sanılmaktadır Ayrıca, normal insan serumunun *B. abortus'*a karşı gösterilmiş olan bakterisidal aktivitelerinin de *B. melitensis'*e etkili olmadığı belirlenmiştir. Bu iki mekanizma, *B. melitensis'* in sahip olduğu yüksek virülans yeteneğini açıklamaktadır. Bakteri çeşitli yollardan alınıp organizmaya girdikten sonra; fagosite edilen, ancak

PMNL' ler tarafından öldürülemediği olan bakteriler hızla bölgesel lenf bezlerine ilerler ve üredikten sonra lenf yolu ile genel dolaşıma karışır (bakterinin oral yoldan alımında ; mide asidinin yetersizliği veya herhangi bir ilaçla ya da diyetle nötralize edilmiş olması, bakterinin geçişini kolaylaştırır). Gelişen bakteriyemi sonucunda tüm vücuda yayılan bakterinin daha çok RES organlarına yerleşme eğilimi vardır. Özellikle dalak, karaciğer, kemik iliği ve lenf bezleri olmak üzere, organ fagositlerince tutulduktan sonra bu hücreler içinde öldürülemediği

olan bakteriler hücre içinde üremelerini sürdürürler (Intracellular Bacterial Pathogens, 1994). Bakterilerin fagositik hücreler içinde yaşamasında etkili olduğu ileri sürülen mekanizmalar şunlardır (49):

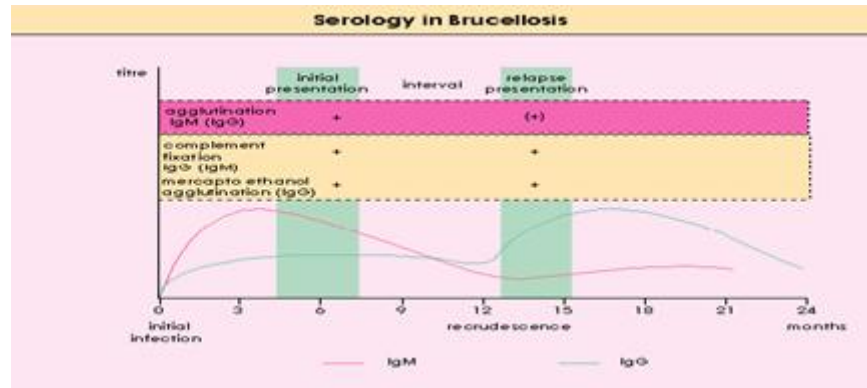
1. Bakteriler, fagolizozom füzyonunu engeller ve fagosite edilmelerine rağmen lizozomal enzimler ile ortadan kaldırılamazlar.
2. Bakteriler lizozomal enzimlere dirençlidir.
3. Bakteriler adenin ve 5'-guanozin monofosfat üreterek nötrofillerin H₂O₂ oluşturmasını önlerler ve bu şekilde oksidatif mekanizmalara direnç gösterirler.
4. Bakteriler, sahip oldukları süperoksit dismutaz(SOD) enzimi sayesinde reaktif oksijen metabolitlerini uzaklaştırarak oksidatif yıkıma karşı koyarlar. Konak hücre içinde kalıcı parazitlik bir bakıma etkenin kendi saldırganlığına dayanabilmesi anlamına gelmektedir. Bu nedenle hücre içi bakterilerin self- toksisitesi düşük olmaktadır. Hücre içinde yaşama, koruyucu immun cevabın niteliklerini belirgin şekilde etkiler. Hücre içi bakteri infeksiyonlarında, humoral immunitenin yeri oldukça sınırlıdır; buna karşılık T lenfositlerinin belirlediği hücre sel immun yanıt konağın korunmasında önem taşır. T hücrelerinin başlıca görevi, infekte makrofajlarda, etkin antibakteriyel fonksiyonları aktive etmektir. Ancak çoğunlukla, beklenen bu olay gerçekleşemez ve hücre içi bakteriler bu hücrelerde yaşamaya devam ederler (49).

Bakterilerin böbreklere yerleşmeleri sonucunda sürekli olarak idrarla atılım görülür. Yerleştiği RES organlarını büyütür. Bunun nedeni; büyük, tek nükleuslu hücrelerde progressif proliferasyondur. Hücre içerisinde üremekte olan bakteri, aynı zamanda antikor tehdidinden ve kullanılan antimikrobiyal ajanlardan uzun süre korunmuş olur. Bu nedenle tedavinin uzun sürmesi gerekmektedir. Mikroorganizmaya karşı immünitenin gelişmesi ve makrofajların aktive olması ile mikroorganizmalar öldürülmeye başlar ve bakterinin sahip olduğu hücre duvar yapısı (LPS = endotoksin) kana dökülür. Organizmanın bu endotoksine yanıtı ile de hastalıkta görülen birçok belirti ortaya çıkar. Aktive makrofajlar ile persistan mikroorganizmalar arasında devam eden savaşında, karakteristik doku yanıtı olarak granümatöz reaksiyonlar ortaya çıkar; Doku ve organlarda granülomlar oluşur. Savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılamayan bakteriler, granülom oluşumu ile sınırlandırılmaya çalışılır.

Özellikle dalak, karaciğer ve kemik iliğinde; epiteloid hücreler, plazma hücreleri ve

mononükleer hücreler ile çevrili granülomlar, brucellosisin karakteristik histopatolojik görünümünü oluşturur. Hastalıkta, immün-kompleks hastalıklarında olduğu gibi, bazı otoantikörlerin görülme sıklığının normal popülasyondan fazla olduğu ve bazı klinik belirtilerin (vaskülit, eritema, nodosum, çeşitli deri döküntüleri) bu mekanizma ile açıklanmasının mümkünolabileceği öne sürülmektedir. Bazı hastalarda antinükleer antikor(ANA) veya romatoid faktör (RF) pozitifliği saptanmıştır(51,52,53).

Hastalığın akut döneminde, ilk haftada spesifik IgM yanıtı gelişir ve 3. ayda maksimum düzeye ulaşarak tedavi edilmiş olgularda dahi uzun süre kanda varlığını korur. IgG sınıfı antikörler ise başlangıçtan sonraki 3. haftada belirir ve maksimum düzeylerine 2.ayda ulaşır. Ancak, hastalığın iyileşmesi ile hızla kandan kaybolurlar ve ancak reaktivasyon ile tekrar belirirler; dolayısıyla bir reaktivasyon markeri olarak kabul edilebilir. Hastalığa karşı gelişen hümmoral bağışık yanıt, etkenin eradikasyonu için yeterli olamamaktadır. Bunun için hüresel immünitinin gelişmiş olması koşuldur. Brucellosisli hastalarda serum IFN- Gamma düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Makrofaj aktive edici ve koruyucu bir sitokin olan IFN-Gamma'nın yapımına karşın makrofaj aktive edici fonksiyonunda bir defektin söz konusu olduğu düşünülmektedir (54). Hastalığın 7-10. günlerinden itibaren duyarlı lenfositlerden salınmaya başlanan lenfokinler makrofajları uyarmakta, hücre içi mikroorganizma öldürme işlemi hızlanmakta ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılığın da gelişimi ile organ granülomları meydana gelmektedir.



Şekil-1. Brusellozda seroloji

2.7. Dirençlilik :

Brucella türleri 60°C'de ısıtmakla 10 dakikada, %1'lik fenol eriğiğinde ise 15 dakikada ölürler. Pastörizasyon esnasında çabuk ölmelerinin epidemiyolojik değeri vardır. Süt içinde 17 gün yaşadığı, tereyağında 142 gün canlı kaldığı, tuzlanmış domuz etinde 3 hafta, çeşme

suyunda 8°C'de 57 gün, 25 °C'de ise 10 gün canlılığını koruduğu, insan idrarında en az 7 gün, hayvan dışkısında açıkta 100 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay canlı kaldığı bildirilmiştir. Normal mide asidi mikroorganizmayı öldürmeye yeterlidir. Hayvanların barındığı ahır tozlarında 6 hafta, suda 10 hafta canlılığını sürdürebilir. Toprakta 10 haftadan, gübrede 2 yıldan, 4-8 °C'de saklanan keçi peynirinde ise 6 aydan daha uzun süre yaşadığı gösterilmiştir. Düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, enfekte çiğ süttten yapılmış dondurmada 30 gün, çiğ süttten yapılmış tuzsuz krema yağında buzdolabında 142 gün, % 10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün yaşayabilir. Tereyağında 4 ayda, oda ısısındaki peynirde 2 ayda ölmektedir. Tulum ve kaşar peyniri uzun süre bekletildiği için, yoğurt ise asiditesi fazla olduğundan hastalığı bulaştırmazlar. Güneş ışığında 1-12 saatte, 60 C'de 10 dakikada, 100 °C'de hemen ölürlür. Çeşme suyunda 4-8 C'de birkaç ay, 0 C'de 2.5 yıl, dondurulmuş dokularda birkaç yıl, nemli toprakta 60 gün ve 20 C'de % 40 nemli ortamda 144 gün canlı kalabilirler. İdrarda 30 gün, atık fütuslarda en az 75 gün ve uterus akıntılarında 200 günden fazla canlı kalabilir. Çiğ süttten yapılan tuzsuz krema yağında buzdolabında 142 gün, %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, %17 tuz içerende ise 1 ay canlı kalır. Etlerin normal dinlendirilmesi süresince oluşan pH değişikliği (asitlik) ette bulunabilecek *Brucella* mikroorganizmalarını öldürmeye yeterlidir(3, 8, 9,18).

2.8. Antijenik Özellikler

Ultrasonikasyon, dondurup çözme ve diğer fiziksel yöntemler gibi çeşitli yöntemler kullanılarak *brucella* antijenleri parçalanırsa konvansiyonel immün elektroforezde hiper immün serumlara karşı 20 eriyebilir antijen elde edilebilir. Dimensiyonel immün elektroforez kullanılırsa homolog antiserumlar ile 30'dan fazla presipite olan antijen ortaya konabilir. Çeşitli suşlarla yapılan karşılaştırma çalışmaları, birçok antijenin tüm suşlarda ortak olarak bulunduğunu, sadece somatik lipopolisakkarit (LPS) antijenlerinin kapsüllü ve kapsülsüz suşlar arasında önemli farklılıklar gösterdiğini, dış membran proteinlerinin (OMP) ise, farklı türlerde değişik yapılarda olduğunu ortaya koymuştur(22,25).

Brucella'ların başlıca duvar antijeni, endotoksik lipopolisakkarittir. Şimdiye kadar tanımlanan major antijenler arasında smooth ve rough lipopolisakkarit kompleksleri(sLPS ve

rLPS), iki tane ilgili polisakkarit: nativ hapten (NH) ve B polisakkariti (poli B) ve en az 20 civarında protein veya glikoprotein antijeni yer almaktadır. LPS antijenler hücre yüzeyine yerleşmiş olup birtakım tanısal testler ile ilişkilidirler(22).

2.8.1 Yüzey antijenleri

Brucella'larda hücre zarları diğer gram negatiflerde olduğu gibi stoplazmik membran, periplazmik aralık ve dış membrandan oluşan üç tabaka halinde bulunur. Dış membran ilişkili sert peptidoglikan tabaka ve fosfolipitler, LPS ve proteinleri içeren bir yapıdır.

sLPS ve ilişkili proteinler: Smooth *brucella* LPS'leri sıcak fenol su metodu ile fazında ekstrakte edilerek ayrıştırılabilir. sLPS yapısal ve serolojik olarak farklı üç bölgeyi kapsayan kompleks moleküllerdir. Lipit A, core oligosakkariti ve O polisakkaritinden (OPS oluşur(22). OPS zinciri, perozaminin bir homopolimeridir. A ve M olarak tanımlanan iki epitop içerir. Farklı epitoplar oluşturan bu iki değişik konfigürasyon A ve M antijenlerini oluşturur. A ve M antijeni, ilk kez 1932 'de Wilson ve Miles tarafından tanımlanmış olup , A antijeni *B .suis* ve *B.abortus*'ta, M antijeni de *B.melitensis*'te fazla miktarda saptanmıştır .A/M oranı *B.melitensis*'te 1/20 iken, *B.abortus*'ta 20/1 olarak tespit edilmiştir (13). bu antijenler aglütinasyon reaksiyonlarında sorumludur ve bunların miktarları S tipi *brucella* suşları arasında farklılık gösterir.bu epitoplar OPS'den yoksun R tipi suşlarda yoktur. Lipopolisakkaritin yapısı S tipi suşlar ve diğer gram negatif bakteriler arasında çapraz reaksiyona yol açar. Aglütinin absorpsiyon ve jel difüzyon tekniği uygulanarak *brucella* türlerini birbirinden ayırt etmek olanaklıdır. *Brucella* 'larda somatik A ve M antijenleri ile bir yüzeyel L zarf antijeni bulunduğu ortaya konmuştur. Daha çok *B. abortus* kökenlerinde bulunan L antijeni, yeni ayrılan bakterilerde var olup, onların immün serumlarla aglütinasyonuna engel olmakta ancak 100c'de yarım saat ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadır . bu özelliği ile Salmonella'lardaki Vi antijenine benzerlik gösterir(7).

Smooth *B.abortus* ve tahminen A antijeninin dominant olduğu diğer türlerin suşlarının LPS kompozisyonunun yaklaşık 1/3'ü Lipid A komponentinden meydana gelmiştir. Bu yapı D-glukozamin, fosfat, miristik asit, palmitik asit, stearik asit , 3-hidroksidekoneik asit ve 3-hidroksiheksodekoneik asitten oluşmuştur. Diğer birçok gram negatif bakterinin lipid A fraksiyonunda β-hidroksimiristik asit yoktur. Lipid A 2-keto 3-deoksioktanat yolu ile mannoz, glukoz ve 2-amino-2,6 dideoksiglukoz (kinovozamin) içeren O zincirinin iç bölgesine

bağlanır. A determinantı α -1,2 bağı 4,6 dideoksi-4-formamido-D-mannopiranoz (N-formil D-perozamin)'in bir lineer homopolimerinden oluşmuştur. N-formil D-perozamin homopolimerinin *B.abortus* O zincirinin serolojik spesifitesinin ayırımında ve *Yersinia enterocolitica* O:9, *Vibrio cholera* ve diğer bakterilerle çapraz reaksiyonların görülmesinden sorumlu yapı olduğu ileri sürülmüştür. *B. melitensis* M antijeni dominant suşlarında LPS'nin yapısı ayrıntılı olarak açıklık kazanmamıştır. Temel yapısı *B.abortus* LPS'ine benzer, fakat M determinantında , farklı olarak 5.glukoz parçası 1,2 karbon atomları yerine 1,3 karbon atomları ile bağlanmaktadır. sLPS, nativ hapten (NH), asitle muamele edilmiş hapten (AH) ve poli B hapten ile ilişkilidir. Nativ hapten smooth suşların fenol-su, dietiler-su trikloroasetik asit ve otoklav ekstraktları içinde bulunur. AH, sLPS'nin asetik asit hidrolizasyonu sonucu meydana gelir. Poli B. *Brucella melitensis* B115 suşundan trikloroasetik asit yoluyla ekstrakte edilmiştir. Poli B, AH ve NH antijenik olarak ilişkilidir. NH ve poli B'nin fonksiyonu bilinmemesine rağmen LPS O zincirin prekürsörü oldukları düşünülmektedir. AH ve NH'nin D-perozamin içerip içermediği henüz açıklığa kavuşmamıştır. Fakat bunlar sLPS ile çapraz reaksiyona giren antikoları stimüle ettiği bilinen bakterilerin çoğuna karşı hazırlanmış antiserumlarla reaksiyon verirler. Poli B D-perozamin içermez (22,26)

- rLPS: r-LPS'nin kaba naliz smooth LPS'nin lipid kompozisyonuna benzer. rLPS, sLPS'den kinovozamin içermemesi ile ayrılır sLPS'nin aksine sıcak fenol-su yönteminde su fazında bulunmamaktadır.

- Dış membran proteinleri(OMP) : *Brucella*'larda OMP'ler Zwittergent veya sodyum dodesil sülfat ile lizozim kullanmadan (eğer bakteri ekstraksiyon öncesi inaktive edilmemişse) veya lizozimle (eğer hücreler formalin veya ısı ile inaktive edilmişse) ekstrakte edilebilir. *B.abortus* suşlarında moleküler ağırlıkları 36-38 kdal ve 25-27 kdal olan 2 major protein grubu vardır. 36-38 kdal olan porin proteini olarak tanımlanmış, 25-27 kdal olan diğer grup *E.coli*'nin Omp A ve Omp F proteinine benzerlik gösterir. Molekül ağırlığı 43 kdal olan major protein sodyum dodesil sülfat- çözünür protein bandı bazı çalışanlar tarafından bulunmuştur. Ayrıca 3 minor protein bandı da tespit edilmiştir(88-94 kdal , 31 kdal,15 kdal). Diğer bir çalışmada moleküler ağırlıkları 94 kdal (Grup 1), 43 kdal (grup 2) ve ortalama 30 kdal (grup 3) olan major komponentler olarak ekstrakte edilmiştir. *B.melitensis* , *B.canis*, *B. ovis* her iki major OMP grubunu(36-38 kdal ve 25-27 kdal) içermekte, ancak 25-27 kdal'luk proteinlerinin, 36-38 kdal proteinlere olan oranı *B.abortus*'unkinden daha fazla olduğu

gösterilmiştir. *B.melitensis* ile yapılan çalışmalarda 36-38 kdal'lık zonun üzerinde ek bir band ve 31 kdal'dan başka bir band tespit edilmiştir. 31 kdal bandı b.abortus için minör band olurken b.melitensis'te major band olarak tespit edilmiştir.(22,26)

- Peptidoglikan : Peptidoglikan yapısı diğer gram negatif bakterilerinkine benzer. *Brucella* peptidoglikanında (PG) 2 fraksiyonda mevcuttur : hücre duvarının fenol çözünmez fraksiyonu ve hücre duvarının sodyum dedosil sülfat çözünmez fraksiyonu. peptidoglikan adjuvan aktivitesi ile immünolojik yanıtı sağlayabilmektedir (22).

2.8.2 Core Antijenleri

Brucella hücre ekstraktlarının immünoelektroforetik analizi en az 20 tane çoğunluğu intrasellüler kaynaklı protein antijenleri, sLPS (veya rLPS) ve NH içeren bazı eksternal antijenleri olduğu gösterilmiş ve bunlar yüksek titredeki antiserumlarla presipite edilmiştir. Çöktürülmüş ekstraktlar infekte konakçının serumu ile immünopresipitasyonda test edildiğinde tanımlanmış protein antijenlerinin sayısı daha az bulunmuştur (22,27). Cor antijenlerinin çoğu henüz tam olarak karakterize edilmemiştir. Bununla birlikte A₂ antijeni gel elektroforezinde ısıya dayanıklı, yüksek molekül ağırlıklı bir glikoprotein olarak tanımlanmıştır. A₂ antijenine karşı oluşan antikorlar enfekte keçi ve sığırlarda bulunmuştur (28).

Brucellin-INRA adı verilen *B.melitensis* B115 salin ekstraktları geç tip aşırı duyarlılığı tespit için en iyi tanımlanmış intra dermal allerjen preparatlarıdır ve deri testlerinde kullanılmaktadır. Çoğunluğu intrasellüler olan *brucella* protein antijenleri ile *Serratia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Pasturella*, *Bordetella*, *haemophilus* genuslarının proteinleri arasındaki antijenik yakınlığın immünoelektroforez aracılığı ile incelenmesi sonucu ortak protein antijenlerinin olmadığını ortaya koymuştur. *Brucella* protein antijenlerine karşı oluşan antikorlar, immünopresipitasyon testleri ile *brucella* sLPS'lerinkine çapraz reaksiyon gösteren Yesinyozis, salmonellozis, tularemi gibi enfeksiyonlar ile brusellozun serolojik olarak ayırıcı tanısında yararlı olabilir (22).

Brucella'ların antijenik yapılarında S-R değişikliğine bağlı ayrılıklar bulunur. R kolonilerin bakterileri akriflavinin sudaki 1/1000'lik eriyiği ile cam üzerinde kümelenme özelliği gösterir. Ayrıca S-R koloni değişikliği en iyi gliserol dextroz agarda 4 gün üretildikten sonra üzerlerine önce amonyumoksalata-kristal viole boyası damlatılıp, üstten oblik aydınlatma ile kolonilerin incelenmesi ile anlaşılır. Bu durumda S koloniler açık sarı

renkte R koloniler kırmızı renkte ve granüllü görülür. Antijen hazırlanması sırasında S tip koloni seçimi önemlidir (7,21).

2.9. Bulaş Yolları

Bruselloz; sindirim yolu ile, bütünlüğü bozulmuş deri veya mukoz membranlardan direk temas ile ve inhalasyon yolu ile bulaşır. Mikroorganizma ile çalışan laboratuvar personeli, enfekte süt ürünleri, etler ve hayvan atıkları ile temasta olan kişiler, enfekte gıdaları tüketen kişiler risk grubunu oluşturur (42,43).

Hayvanlar arasında bulaş sindirim yoluyla, deri yoluyla ve mukoz membranlar yoluyla gerçekleşir. Mikroorganizma lenf nodlarına yerleşir ve bakteriyemi başlar. Bazı hayvanlarda (sığırlarda *B. abortus*) bakteri uterusu ve meme bezlerine yerleşir ve çoğalır. Bakteri gebe hayvanların koryonik membranlarında üremesi durumunda yavru atma olayı gerçekleşir. Bakteri zamanla süt, vajinal akıntı ve idrara da geçer (43).

İnsandan insana bulaş görülmemiştir. Fakat hayvandan insana ve hayvandan hayvana bulaş görülmektedir. İnsandan insana bulaş ancak enfekte donörlerden kan transfüzyonu veya kemik iliği transplantasyonu yapılması sonucunda görülür. Neonatal enfeksiyon transplasental yolla veya enfekte anneden bebeğe geçebilir. Türkiye'den bildirilen bir vaka raporunda brusellozlu bir annenin 3 aylık bebeğine anne sütü ile enfeksiyon bulaştırdığı bildirilmiştir. Ayrıca insandan insana cinsel yolla ile bulaşın da nadiren olabileceği bildirilmekte olup, bu konu halen tartışmalıdır (42,43,68).

Günümüzde gelişmiş ülkelerde Bruselloz en çok pastörize olmamış süt ürünlerinin tüketilmesiyle veya brusellozun endemik olduğu bölgelere seyahat sonucu bulaşmaktadır. Enfekte hayvanların steril vücut sıvıları veya organları ile temas halinde olan meslek gruplarında görülmektedir. Yoğurt, sütün kaynatılması ile yapıldığından ve mayalama işlemi sırasında asidik ortam oluştuğundan bulaş içi kaynak oluşturmaz. Yine kaynamış sütle hazırlanan kaşar ve tulum peyniri ile de hastalık oluşmaz. Enfekte hayvanın etinin, özellikle dalak, karaciğer gibi organlarının yeterince pişirilmeden yenmesi ile de enfeksiyon alınabilir. Canlı brusella aşılı ile kaza inokülasyonları veteriner hekimlerde bulaşa neden olabilir. Ayrıca, brusella bakterisi ile enfekte kan ve sıvıların veya canlı brusella aşısının kazayla konjunktivaya sıçraması sonucu konjunktiva yoluyla da bulaşabilir. Laboratuvar çalışanlarında bakterilerin kültür işlemleri sırasında inhalasyonu veya deri bütünlüğünün bozulduğu yerlerden direkt temas ile bulaş olabilir. Nadir olarak kan transfüzyonu, kemik iliği

transplantasyonu ile ve plasentadan geçiş olabilir(38,40,42,43, 81, 86).

İnhalasyonla bulaş nedeniyle *Brucella* bakterileri potansiyel biyoterörizm ajanı olarak ilan edilmişlerdir. 1940'lı yıllarda Amerika Birleşik Devletleri ve bazı ülkelerde *B. suis* bakterileriyle biyolojik silah üretimi yapılmıştır (43).

2.10. Klinik Özellikleri

Bruselloz sistemik bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalık birçok organı tuttuğundan değişik klinik formlarda görülebilir. Klinik belirti ve bulgular çok çeşitlidir. Ateş, gece terlemesi ve eklem tutulumu olana kişilerde ilk akla gelmesi gereken hastalıklardandır (44). Hastalığın inkübasyon süresi 2-3 hafta olmakla beraber mikroorganizmanın virülansına, giriş yoluna ve mikroorganizma sayısına göre bir hafta ile birkaç ay arasında değişiklik gösterebilir. *B. melitensis* ve *B. Suis* ile oluşan enfeksiyona kıyaslanırsa, *B.abortus* ve özellikle *B.canis* ile oluşan enfeksiyonlarda klinik tablo daha yumuşak olup ciddi komplikasyonlara çok daha seyrek olarak rastlanmaktadır. *B.melitensis* ile olan enfeksiyonlarda kronikleşme oranı daha yüksektir ve aile içi enfeksiyon diğer türlere göre daha sık görülmektedir. Halen dünyanın birçok yerinde, nedeni bilinmeyen ateşin ayırıcı tanısında önde gelen hastalıklardan biridir (23,33).

Hastalığın birbirinden farklı 4 klinik tablosu bilinmektedir (12,18).

- Asemptomatik Enfeksiyon (Ambulan Tip)
- Akut Enfeksiyon
- Subakut Enfeksiyon(Ondülan tip)
- Kronik Enfeksiyon

2.10.1. Asemptomatik enfeksiyon; ancak yapılan serolojik taramalarla ortaya çıkarılabilen ve belli başlı bir hastalık tablosu ve yakınmaya yol açmayan durumdur. Bu enfeksiyon türü daha çok hayvanlarla sık temasta bulunan yüksek risk gruplarında belirlenir. Kişi bakteriyi taşır ve ancak immünitesi baskılandığında belirgin enfeksiyon tablosu gelişir (12,18).

2.10.2. Akut enfeksiyon; hastalığın tipik ve klasik formudur. Genellikle öğleden sonraları kendini gösteren huzursuzluk hissi, kırgınlık, güçsüzlük, iştahsızlık, baş ağrısı, artralji, miyalji gibi genel enfeksiyon belirtileri ile sinsi olarak başlar. Akşam saatlerinde

üşüme ve titreme ile ateş yükselmeye başlar, her gün birkaç diziyem artarak 8-10 günde 39-40°C'ye ulaşır. Birkaç saat süren ateş, sabaha doğru bol terleme ile normale iner. Eğer tanı konmamış ve tedaviye başlanmamışsa ateş tekrar her gün kademe kademe olmak üzere düşer ve 2. haftanın sonunda normale iner. Hastada geçici bir iyilik hali başlamakla birlikte, 8-10 gün sonra aynı ateşli dönem tekrar başlar (ondülan ateş). Pratikte ondülan ateşe sık rastlanmamaktadır. Brusellozda ateş genellikle remittan veya intermittan olarak seyreder. Hastalık böylece arka arkaya ateşli-ateşsiz dönemler halinde aylarca sürebilir, hasta kilo kaybeder. Hastalarda bu ateş periyodlarının bulunması dışında, ikinci en sık yakınmalar, gezici eklem ve kas ağrılarıdır. Bazı olgularda diz, dirsek, ayak bileği ve el parmakları gibi eklemlerde geçici şişlikler görülebilir. Olguların %60'ında tek eklem tutulumu söz konusudur. Hastalığa eşlik eden en sık tutulum, sakroiliak eklemdir. Eklem tutulumu olanlarda, uygun tedavi yapılmasına rağmen relaps ve reenfeksiyonlar sıklıkla problem yaratmaktadır. Orşit, bazı olgularda tek başlangıç bulgusu olabildiği gibi, sıklıkla bir refakat bulgusu da olabilmektedir. Bazı nadir olgularda ise hasta tipik bir menenjit tablosuyla hekime gelebilir. Bruselloz tüm sistemleri içine alan klinik belirtilere sahiptir. Hastalar pek çok yakınma ile başvurur, ancak sıklıkla ateş dışında objektif bulgu yoktur. Hastaların fizik muayenesinde solukluk, halsizlik ve ateş yüksekliği dışında; 1/2 olguda splenomegali, 2/3 olguda hepatomegali saptanır. Önceleri yumuşak vehafif ağrılıyken, tedavisiz olgularda zamanla sert kıvam alırlar. Olguların 1/5'inde servikal ve inguinal bölge başta olmak üzere lenfadenopati (LAP) saptanabilir (12,18).

2.10.3 Subakut enfeksiyon; hekimler için önemli tanısal yanılgılara yol açan, hafif ateş, halsizlik ve iştahsızlık gibi yakınmalarla kolaylıkla grip olduğu sanılan bir klinik tablodur. Birkaç tekrar sonrasında asemptomatik hale geçebildiği gibi, akut hastalığa da dönüşebilir (12,18).

2.10.4. Kronik enfeksiyon; en az 1 yıldır semptomların sürdüğü olgularda söz konusudur. Bu olguların büyük çoğunluğunu, hastalığın başlangıcında uygun protokollerle tedavi edilmiş veya kemik, eklem, karaciğer ve dalakta fokal süperatif tutulumu olan hastalar oluşturmaktadır. Daha çok 40 yaş üstü popülasyonda görülmüştür. Olguların 1/5'inde hiçbir akut enfeksiyon anamnezi ve aktif enfeksiyon kanıtı olmaksızın, psikiyatrik veya romatolojik hastalıkları anımsatan, sıklıkla karışıklık ve hatalı tanılara yol açan belirti-

bulgular saptanabilir. Hastalarda kronik yorgunluk, depresyon ve eklem ağrıları bazen tek yakınma olabilir. Olguların bir kısmında siklik episklerit ve üveit gibi göz patolojileri gelişebilmektedir. Bu tanının konulduğu hastaların çoğunluğu günümüzde Kronik Yorgunluk Sendromu ya da Kronik Lyme Hastalığı tanılarını alan hasta grubunu oluşturmaktadır (12,18)).

2.11. Komplikasyonlar:

2.11.1. Osteoartiküler Enfeksiyonlar: Kemik ve eklemleri tutan artrit, bursit, sakroileit, spondilit ve osteomyelit, artralji, artrit, spondilit, tenosinovit, Bruselloz enfeksiyonlarında en sık görülen komplikasyonlardır. Pediyatrik hastalarda akut brusellozda artrit ve sakroileit görülürken, kronik brusellozda ve brusellozdan başka hastalıklara sahip bireylerde daha çok spondiloidit, vertebral osteomyelit, osteit ve paravertebral abseler görülür (43,45,81).

Başta *B. melitensis* enfeksiyonları olmak üzere brusellozda, olguların % 20-85'inde osteoartiküler tutulum belirlenmiştir. Ateşle beraber en önemli ikinci bulgu kas ve eklem ağrılarıdır. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ateş ve terleme azalırken, hareket sistemi bulguları ön plana çıkar. Hastalığın geç dönemlerinde, yakınmaların nonspesifik olması nedeniyle tanı koymak güçleşir. Hastaların bir kısmı nörotik oldukları düşünülerek psikiyatri kliniklerine dahi gönderilebilirler. Kas ağrıları bazen erken dönemde çıkar ve tek bulgu olabilir. Eklem bulguları hastalığın 3. ve 4. haftasında en sıktır (43,45,81).

2.11.2. Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları: Bruselloz olgularının %5'i nörobrusellozdur. Hastaların bir kısmında kas ve eklem ağrılarının yanısıra baş ağrısı da bulunur. Meningoensefalit, menenjit, meningomyelit, miyelit, parezi, parestezi, depresyon, kronik yorgunluk sendromu, psikoz ve nadiren de Guillain-Barré sendromu gelişimi başlıca nörolojik komplikasyonlardır. Meningoensefalite rağmen olguların sadece 1/3'ünde ense sertliği belirlenebilir. BOS tetkikinde lenfositik pleositoz, artmış protein ve normal veya hafif azalmış glukoz değerleri belirlenir. Nörobruselloz tanısında, BOS kültürü %75 negatiftir, fakat kan kültüründe izolasyon şansı daha yüksektir. BOS'da *Brucella* IgG, IgM ve IgA antikorlarının ELISA ile araştırılması oldukça değerlidir. Kronik bruselloz olgularında, hastanın yatkınlığı da varsa psikoz

gelişebilir (38,40, 43, 45, 81).

2.11.3. Solunum Sistemi Enfeksiyonları: İnhalasyon yoluyla enfeksiyonun alındığı vakalarda; bronşit, bronkopnömoni, akciğerde soliter veya multipl nodül, akciğer apsesi, hiler lenfadenopati ve plevral effüzyon meydana gelebilir (38,40, 43, 45, 81).

2.11.4. Gastrointestinal/ Hepatobilier Sistem Enfeksiyonları: Akut sistemik Brusellozlu hastaların %75'inde görülür. 2/3'ünde karaciğer tutulumu belirlenebilir. Bulantı, kusma, karın ağrısı, diyare veya konstipasyon gibi belirtiler görülebilir. Dalak ve karaciğer büyüklüğü genellikle birlikte bulunur. Uzun süren enfeksiyonlarda kolit, eneterokolit, spontan bakteriyel peritonit, pankreatit, kolesistit, hepatosplenik abseler, splenik infarktlar görülebilir. Özellikle *B. abortus* enfeksiyonlarında hücresel bağışık yanıt mekanizmalarının aktivasyonu sonucunda granüloamatöz hepatit gelişimine rastlanmaktadır. *B. melitensis*'de granüloamatöz hepatit görülmekle birlikte, granülomsuz diffüz hepatit de belirlenebilir; periportal mesafelerde mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra akımının bozulması ve sarılık gelişimi sözkonusu olabilir. Karaciğer fonksiyon testleri yükselebilir (38,40, 43, 45, 81).

2.11.5. Ürogenital Sistem Enfeksiyonları: Erkeklerde en sık rastlanan bulgu % 10 olguda gelişen ve çoklukla tek taraflı olan epididimo-orşittir. Uygun şekilde tedavi edildiğinde sekelsiz olarak iyileşir. Nadir olgularda da akut interstisyel nefrit veya piyelonefrit, prostatit, sistit ve renal apse görülebilir. Bruselloz hayvanlarda plasentanın koryoallantoik membranlarını enfekte ederek yavru atılımına neden olurken insanlarda abortus görülmemektedir. Fakat mikroorganizmanın nadiren brusellozlu kadınların plaseenta dokularında ve amniyotik sıvılarında zole edildiği bildirilmiştir.1998 yılında bir vakada insandan insana cinsel yolla bulaş olduğu bildirilmiştir (38,40, 43, 45, 81).

2.11.6. Kardiyovasküler Sistem Enfeksiyonları: Brusellozda nadir (<%2) görülen, ancak en sık ölüm nedeni olan komplikasyon endokardittir. Çoklukla tanısı gecikmiş, 3 aydan eski olgularda görülür. Aort kapağı en sık etkilenir, mitral kapak tutulumu ikinci sıklıkta görülür. Ekokardiyografide vejetasyonlar ve emboli gelişimi gözlenmektedir. Ölüm nedeni, progresif konjestif kalp yetmezliğidir. Tek başına antibiyotik ile tedavinin başarı şansı zayıf olup, kapak replasmanı gerektirir. Ayrıca; aortit, miyokardit ve perikardit de görülebilen

komplasyonlardır (38,40, 43, 45, 81).

2.11.7. Hematolojik sistem: Bruselloz, primer olarak lenforetiküler yapıları, organları tutan bir hastalıktır. Hastalıkta dalak tutulumu gözlenebilir. Splenomegali, karaciğer ve dalak abseleri görülebilmektedir. *B. melitensis* olgularında diğer türlere göre daha fazla sıklıkta anemi, lökopeni, trombositopeni ve kemik iliğinin granümatöz tutulumu sonucunda pansitopeni görülebilmektedir. Hipoprotrombinemi ve DIC gelişimi de gösterilmiştir. Lokalize veya generalize lenfadenopati görülebilir (38,40, 43, 45, 81).

2.11.8. Cilt Enfeksiyonları :Olguların %5'inde nonspesifik cilt lezyonları; eritema nodozum, papül ve morbiliform, skarlatiniform, ekzematiform tarzda döküntüler görülebilir. Bazen düşük yapan hayvanların plasentasını çıkarmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının önkollarında bruselloza bağlı dermatit görülebilir (38,40, 43, 45, 81).

2.11.9. Oküler Enfeksiyonlar: Çok nadir görülen belirtilerdir. Üveit, optik nörit, endoftalmi, lakrimal bezlerin enfeksiyonu görülebilir (45, 81).

2.12. Epidemiyoloji, Korunma ve Kontrol

2. 12. 1. Epidemiyoloji

Brucellosis aslında bir hayvan enfeksiyonudur. Tüm hayvan türlerinde ana semptom düşük yada fetüsün prematüre atılımıdır. Hayvanlarda organizmanın en sık giriş kapısı gastrointestinal yoldur; domuzlarda cinsel yol da önemli görünmektedir (87). Hayvanlardan insanlara bulaşarak edinilen bu hastalık,tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, her yıl 500.000 civarında yeni olgu bildirilmektedir (88). A.B.D' de brucellosis son derecede nadirdir. Daha çok meslek hastalığı şeklinde olmak üzere yılda 100 olgu bildirilmektedir (52). Hastalığın endemisitesi farklı bölgelerde nüfusun sosyal ve kültürel özelliklerine ve yerel *Brucella* eradikasyon programlarının yoğunluğuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. İnsan ve hayvanlarda yaygın olarak görüldüğü yerler; Rusya, Akdeniz ülkeleri, Arap Yarımadası, Asya'nın güneyi(Hindistan), Meksika, Orta ve Güney Amerika'nın bazı bölgeleri olup, Japonya, Uruguay ile bazı Doğu ve Kuzey Avrupa, Kanada, Avustralya ve Yeni

Zelanda' da yıllar süren yoğun çabalar sonucunda brucellosis hayvanlar arasında büyük ölçüde eradike edilmiştir (89,90,91). Avrupa birliğinde koyun, keçi ve sığır brucellosisin eradikasyonununun 1997 yılında Avrupa komisyonunun hayvan hastalıklarının kontrolü için ayırdığı toplam bütçesinin yarısından fazlasına mal olacağı bildirilmektedir(89,90,91). Hastalığın kontrolünde hayvanların aşılması çok önemlidir. Çoğu gelişmiş ülkede hastalık, meslek hastalığı olma özelliği ile sınırlanmıştır. Bu ülkelerde çiftçi, veterinerler ve hayvan bakıcıları arasında görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde, beslenme alışkanlığının farklılıkları nedeniyle toplumun değişik kesimlerinde görülür. Hastalığın insanlara bulaşmasında üç önemli yol bilinmektedir (52).

1. İnfekte hayvan dokuları, kanı veya lenfasının, bütünlüğü bozulmuş deri veya konjunktivaya direkt teması,
2. Kontamine et veya süt-süt ürünlerinin sindirim yolu ile alınması,
3. İnfeksiyöz aerosollerin inhalasyonu.

İnfekte hayvan organ ve yapıları ile temas, hayvan kesicileri, kasaplar ve veterinerler arasında görülen en sık bulaş yoludur. Pastörize süt kullanımının yaygınlaştırılmadığı, çiğ süttten yapılmış peynir yeme alışkanlığına sahip ülkelerde ve özellikle de kırsal bölgelerde en önemli bulaş yolu oral yoldur. Aerosol yolu ise, laboratuvar çalışanlarında görülmektedir.

Ayrıca hayvan aşlarının hazırlanması işinde çalışanlarda da kaza sonucu, perkütan inokulasyon yoluyla bulaşmalar tanımlanmıştır. Hastalık her yaşta ve her iki cinste eşit oranda görülmekle birlikte, meslek hastalığı özelliğinin önemli olduğu ülkelerde 20-60 yaşlardaki erkeklerde daha sık olarak görülmektedir.

Brucella enfeksiyonu insanlara çeşitli yollardan bulaşmakla birlikte, ülkemizde en çok bulaş çiğ süttten yapılan peynir ve krema yağlarla olur. Kırsal kesimde sütler pastörize edilmemektedir. Sıcak yaz günleri hayvanlardan sağılan sütlere, hiçbir ısıtma muamelesi uygulanmadan peynir mayası ilave edilir veya santrifüj esasına dayanan yağ makinelerinden krema yağlar elde edilir. Hastalığın yoğurt ile bulaşması söz konusu değildir, çünkü yoğurt yapılırken süt mutlaka kaynatılır ve ilave edilen maya (yoğurt) sütü asidifiye eder. Sütün mutlaka pastörize edilerek tüketildiği yerlerde, direkt temas ile bulaşma oral yoldan daha ön plandadır. Brucellosis nedeni ile düşük yapmış sığırın plasentası uterusu yapışiktır. Plasentayı çıkarmak için veteriner veya hayvan bakıcısının eli ile müdahale etmesi sırasında direkt temas ile bulaşma meydana gelebilir. İnfekte hayvanın etinin, özellikle dalak, karaciğer gibi retiküloendotelial sistem (RES) organlarının yeterince pişirilmeden yenmesi ile de enfeksiyon

alınabilir (92). Laboratuvar ortamında direkt inokülasyon ya da inhalasyon yoluyla bulaş bildirilmiştir(92, 52.88).

Ülkemizde brusellosis için temel bulaş kaynağı pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimidir. Değişik serilerde bildirilen brusellosis olgularında enfeksiyon kaynakları Tablo-II' de gösterilmiştir.

	Taşova*	Koşar**	Ulusoy***	Gür****	Buzğan*****	Demirdağ*****
Bulaş Yolu	Adana (%)	Isparta (%)	İzmir (%)	Diyarbakır (%)	Van (%)	Elazığ (%)
Çiğ süt ve süt ürünü kullanımı	53	30	31	72	29,4	76,7
Hayvancılık , mesleksi temas	31	90	28	47	24,5	
Laboratuvar teması		1		6		
Bilinmeyen	16	13	40	36		

* Taşova Y. ve ark., 1998; ** Koşar A. ve ark., 2001; *** Ulusoy S. ve ark., 1995; **** Gür A. ve ark. *****Buzğan T. ve ark., 2002; *****Demirdağ K. ve ark., 2001

Tablo-II. Türkiye’de Brusellozisin Bulaş Yolları (45).

Brucella bakterisi, hayvanlarda eritritol ve progesteronun, tam olarak açıklanamamış bir mekanizma ile, stimülasyonu sonucu büyük oranda plasentada üremektedir. Dolayısıyla gebelik, özellikle de ilk trimestr, hayvanda duyarlılığı artırmaktadır. Bu nedenle de hayvanlarda sıklıkla abortuslara yol açmaktadır. İnsanlarda plasenta yapısında eritritol bulunmaz. *B. abortus* enfeksiyonu geçirmekte olan veya asemptomatik taşıyıcı gebelerde düşük ve erken doğumların normal gebe popülasyonuna göre fazla bulunmasına karşın brusellosisin insanlarda düşüğe neden olmadığı kabul edilmektedir (12).

Hayvan brusellosisi daha çok evcil hayvanlarda görülmektedir. Üç klasik tür olan *B.melitensis*, *B.abortus* ve *B. suis*'in tercih ettiği primer konakçıları varsa da diğer konakçı türlerinde de hastalık oluşturabilir. *B. ovis*, *B. canis* ve *B. neotomae*' nin infekte ettiği konakçı türleri primer konakçılarından daha dardır (2,118). İnsanlar üç klasik türle infekte olurlarsa da dünya genelinde olguların çoğundan en *B. melitensis* sorumludur(Tablo-III).

Tür	Konakçı	Diğer Konakçı	İnsanlarda Görülme Sıklığı
B.melitensis	Koyun , keçi	Sığır	+++++ (Olgunların % 70'i)
B.abortus	Sığır , manda	At	+++ (Olgunların % 25'i)
B.suis	Domuz , kurt	Sığır	++ (Olgunların % 5'i)

Tablo-III. Bazı *Brucella* türlerinin konakçıları ve insanlarda görülme sıklığı (88)

B. abortus' un sebep olduğu ve Bang ya da sığırların yavru atma hastalığı olarak bilinen sığır brucellosisi dünyanın pek çok ülkesinde yaygın bir şekilde görülür. Güney Avrupa ve Batı Asya'daki bazı ülkeler gibi sığırların koyun ve keçilerle yakın olarak tutuldukları yerlerde infeksiyon *B. melitensis* tarafından da oluşturulabilir. *B. suis* nadiren sığırlarda infeksiyon oluşturur (93).

Malta Humması olarak bilinen koyun ve keçi brucellosisi Akdeniz ülkeleri ve Arap Yarımadası başta olmak üzere Orta ve Batı Avrupa ülkeleri, Latin Amerika ülkeleri, Batı ve Orta Asya ülkelerinde görülmektedir. Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda'nın *B. melitensis* infeksiyonu yönünden ari olduğu kabul edilmektedir (93,94).

Her yıl binlerce insan hastalığa yakalanmakta ve hastalık insanlarda fizik yetersizliğe ve işgücü kaybına neden olmaktadır. Brucellosis bir yandan da hastalığın esas kaynağını oluşturan evcil hayvanlarda süt verimini azaltırken, hayvan düşükleri ile ekonomik kayba yol açmaktadır. Ergin ve gebe dişi hayvanlar brucellosise daha duyarlıdır. İnfeksiyon etkeninin gebe hayvanlarda uterusu ve erkeklerde testise yerleşme eğilimi daha fazladır. Gebe hayvanlarda kotiledonlarda yerleşen bakterinin meydana getirdiği infeksiyon, yavrunun yeterli beslenmesini engeller ve anne karnında ölmesine, annenin düşük yapmasına neden olur. *Brucella* bakterisinin hayvan sütüne karışması hayvanda oluşturduğu mastit veya genital akıntıdan karışma şeklindedir.

Bazı gelişmiş ülkelerde brucellosis hayvanlar arasında tamamen eradike edilmiş olmakla birlikte, ülkemizde hayvanlar arasında oldukça yaygın bir hastalıktır. Özellikle Konya, Diyarbakır ve Şanlıurfa yörelerinde yaygındır. Kırsal kesimlerde daha çok *B.melitensis* infeksiyonu görülürken, büyük şehirlerde daha çok *B. abortus* infeksiyonuna rastlanır. Ülkemizde *B. suis'* e ait infeksiyon bildirilmemiştir(12).

2. 12. 2. Korunma ve kontrol

İnsan brucellosisinin kontrolü, hastalığın evcil hayvanlar arasında eliminasyonu ile sağlanabilir. Hastalığın kontrolünde dikkat edilecek konular aşağıda özetlenmiştir(94).

2. 12. 2. 1. Koruyucu önlemler :

1. Halk çiğ ya da pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketilmemesi konusunda eğitilmelidir.
2. Çiftçiler, mezbaha çalışanları, et işleme tesislerinde çalışanlar, kasaplar hastalığın bulaşma yolları konusunda eğitilmeli; potansiyel infekte hayvanların ölüleri ve çıkartıları ile temas edilmemeli ve bunlar uygun şekilde uzaklaştırılmalı, tesislerde düzenli havalandırma yapılmalıdır.
3. Avcılar, yaban domuzları ile temas sırasında koruyucu önlemlerin alınması (eldiven, giysi gibi) ve bu hayvanların leşlerinin gömülmesi konusunda eğitilmelidir.
4. Çiftlik hayvanları arasında serolojik testler ile, inek sütünde ELISA ya da ring test ile hastalığın araştırılması, infekte hayvanların ayrılması ve/veya öldürülmesi gereklidir. Domuzlar arasında infeksiyon var ise genellikle hayvanın öldürülmesi gerekir. İnfeksiyon prevalansının yüksek olduğu bölgelerde, genç keçi ve koyunların *B. melitensis* canlı attenüe Rev-1 suşu ile, sığırların ise *B. abortus* 19 suşu ile aşılama önem taşır, ancak bu aşılama programının birkaç yıl boyunca sürdürülmesi gereklidir. Domuzlar için henüz bir aşı geliştirilememiştir.
5. Etkinliği klinik çalışmalar ile desteklenmemesine karşın, 19 suşu ya da Rev-1 suşu aşılarla aksidental olarak temas eden bireylere doksisisiklin 100 mg PO günde iki kez ile kombine olarak rifampin 600-900 mg günde tek doz 21 gün süreyle verilmelidir; konjunktival inokülasyonlar için profilaksi 4- 6 hafta sürdürülmelidir.
6. Koyun, keçi ve ineklerden elde edilen süt ve mandıra ürünleri pastörize edilmelidir. Pastörizasyon olanağı yoksa kaynatma da etkilidir.
7. Hayvanların düşük materyali; plasenta, fetüs ve genital akıntılar ile temas ederken dikkat edilmeli ve gerekli önlemler alınmalıdır. Kontamine alanlar dezenfekte edilmelidir.

2. 12. 2. 2. Hasta ve Temas Ettiği Yakın Çevresinin Kontrolü :

1. Hastalık ülke içi bildirimi zorunlu bir hastalıktır; yerel sağlık müdürlüğüne bildirim yapılmalıdır.
2. Dış ortama drene olan lezyonlar mevcutsa gerekli önlemler alınmalıdır.
3. Pürülan akıntılar dezenfekte edilmelidir.
4. Karantina gerekli değildir.
5. Temas edenlere aşı gerekmez.
6. Temas ve infeksiyon kaynakları araştırılmalıdır; infekte evcil keçi, domuz ve sığırlar ile inek ve keçilerden elde edilen çiğ süt ya da mandıra ürünleri önem taşımaktadır. Şüpheli hayvanlar test edilmeli ve test sonucu pozitif çıkanlar uzaklaştırılmalıdır.
7. Spesifik tedavi uygulanmalıdır.

2.12. 2.3. Epidemik Önlemler: İnfeksiyonun yayılmasında en önemli araç olan infekte hayvanlardan elde edilen çiğ süt ya da süt ürünleri, özellikle peynir gibi maddeler araştırılmalıdır. Suçlanan şüpheli ürünler toplanmalı; üretimi durdurulmalı ve pastörizasyondan emin olmadan dağıtımını önlenmelidir.

2.12.2.4. Uluslararası Önlemler: Uluslararası ticaret ve taşımacılıkta evcil hayvanlar ve hayvansal ürünlerin kontrolü gereklidir

2.13.TANI

Brucellozis tanısı, klinik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilmesine dayanır. rutin laboratuvar tetkiklerinde ; lökosit sayısı normal olmakla birlikte , bazen lökopeni bazen de $10.000/mm^3$ 'ün üzerinde lökositoz saptanabilir .lökosit formülünde hafif bir lenfomonositoz bulunabilir Anemi, lökopeni, trombositopeni sıktır. Eritrosit sedimentasyon hızı değişken olup tanısal değeri düşüktür (4,12,22,23).

2.13.1 Bakteriyolojik tan

Brucellozda kesin tanı, etkenin kan , kemik iliği veya diğer dokulardan izole edilmesi ile konur. sıklıkla kan ve kemik iliği kültürleri yapılmaktadır. Görülen komplikasyonlar ,

klirik seyir ve hastanın durumuna göre idrar, eklem mayi ,beyin omurilik sıvısı, lenf bezi ponsiyonu ile alınan sıvı, apse materyali, diğer vücut sıvıları ve dokuları da kültür için kullanılabilir. Kullanılan metoda ve inkübasyon peryoduna bağlı olarak üreme oranları değişir. kültür için sıvı, katı ve seçici besiyerleri kullanılır. sıvı besiyerleri daha çok kan ve beyin omurilik sıvısı gibi materyallerin ekiminde kullanılır. Seçici besiyerleri ise özellikle kontamine örneklerden bakteri izolasyonunda kullanılmaktadır. İlerine basitrasın, polimiksin B, sikloheksimid ve etil viyole gibi maddeler eklenerek diğer bakterilerin üremesi engellenmektedir . İlk izolasyonlarda bakteriler yavaş rediklerinden 30 gün bekletilmeden kültürler olumsuz diye atılmamalıdır. Ekimler ift yapılarak birisi %5-10 CO₂'ile ortamda , diğeri normal atmosfer koşullarında üretilmelidir. 2-3 günde bir sıvı ortamlardan katı ortamlara pasajlar yapılarak , 37 °C 'de bekletilip koloni oluşup oluşmadığı izlenmelidir. Bu pasajlarda 2-3 hafta bekletilerek incelenmelidir Castaneda bifazik tekniği en çok kullanılan yöntem olup 120 ml'lik dört köşe ilaç şişelerinde kullanılacak besiyerinin agarlı katı şekli yatık olarak, ayrıca 20-30 ml aynı besiyerinin sıvı şeklini bulunduracak şekilde hazırlanırlar. Ekim sıvı kısma yapılır. 2-3 günde bir eğmek sureti ile katı besiyeri yüzeyine bulaştırılıp yine dik durumda 37 °C' de bekletilerek koloni oluşması izlenir (96,97).

Kullanılan metod ve inkübasyon süresinin uzunluğuna bağlı olarak kanda izolasyon oranı % 15-70 arasında değişir . Kan kültürü *B.melitensis* için iyi bir duyarlılığa sahip iken , *B.abortus* ve *B.suis* için duyarlılığı düşüktür . İnraseller bir patojen oldukları için, kemik iliği kültürleri, kan kültürüne göre daha yüksek sonuç verir ve brusellozda kemik iliğinde *brucella* ssp'nin inoklumu kandan yüksektir Gotuzzo ve arkadaşları (58). Kemik iliği kültürlerinde %92, kan kültürlerinde %70 oranında üreme saptamıştır. Kemik iliği kültürlerinde üreme zamanı (4.32 gün) kan kültürlerindeki (6.65 gün) göre daha kısa bulunmuştur. Daha önce antibiyotik kullananlarda izolasyon oranı dşmştr. Antibiyotik alanlarda izolasyonlar kan kültüründe %50, kemik iliği kültüründe %90 olup, antibiyotik almayanlarda ise kan kültüründe %75, kemik iliğinde %92.5 olarak bulunmuştur . Kandan izolasyonlar hastalığın subakut ve kronik formlarında düşerken kemik iliği kültüründe yalnız kronik formda dşmştr. Kemik iliği kültürleri invasiv bir yöntem olduğu için tanısı güç olan hastalarda kullanılır(4,33,57,58)

Brucella izolasyonunda geleneksel kültür yönteminde 30-35 gün olan inkübasyon süresi otomatize kan kültürü sistemlerinde çok kısalımmıştır. Çoğu klinik laboratuar bugün hızlı izolasyon metodlarını (BACTEC, Du pont, Isolator vb.) kullanmaktadır. *Brucella* izolasyon

süresi lizis santrifigasyon yöntemi ve düşük konsantrasyonda bakteri saptayabilen diğer sistemlerle kısaltılabilir .

Lizis santrifigasyon yöntemi; Kan kültürlerinde üremenin arttırılması için santrifüj aşamasında organizmaların konsantrasyonu sağlanır, ardından kan hücrelerinin osmotik lizisi yapılır. Ekim, agar besiyerine veya kan kültür şişesine yapılır. 1991’de Colman; *brucella* spp. kültürü için lizis ile konsantrasyonun basit, pahalı olmayan ve güvenilir, nispeten çabuk sonuçlanan bir yöntem olduğunu göstermiştir (59,60).

Yagupsky, BACTEC NR 660 sisteminde, inkübasyon süresini 7 gün ile sınırlandığında, kesin tanı olguların %78.8 yakalarken, süreyi 21 güne uzattığında, örneklerin tümünde üreme olduğunu belirtmiştir Hemolin difazik besiyeri BACTEC ve VITAL sistemlerin karşılaştırıldığı araştırmada da inkübasyon süresi 5 gün tutulduğunda, bruselloz olguların, %52.9, %82.4 ve %11.8’i saptanırken bu süre 2 gün daha uzatıldığında oranların %76.5, %94.1 ve %47.1’e yükseldiği gösterilmiştir. Mikroorganizma izole edildikten sonra çoğu klinik laboratuvar biyokimyasal reaksiyonlara dayalı hızlı identifikasyon sistemlerini kullanmaktadır. Ancak bazı identifikasyon kitlerinde *Brucella* panelinin olmadığı unutulmamalıdır. Bu nedenle çoğu zaman *Morexella* veya *Haemophilus* türleri olarak yanlış tanımlanabilmektedirler(4,9,31,61,62,63).

2.13.2 Sorolojik Tanı

Brusellozun tanısında altın standart etkenin izolasyon ve identifikasyonu olmasına rağmen , etken izolasyonunun uzun süre alması ve özellikle kronik olgularda sıklıkla olumsuz sonuçlar vermesi nedeni ile serolojik testler daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Serolojik testlerin özellikle endemik bölgelerdeki olgularda özgüllüğünün düşük olmasına rağmen , duyarlılığı %65-95 dolaylarında (31,41).

Serolojik testler, her hastanın özgül antikor durumunu göstermektedir.

Yaygın olarak şu dört test kullanılmaktadır :

- Standart tüp aglütinasyon testi (SAT)
- 2- Merkaptöetanol tüp aglütinasyon testi (2-ME testi)
- Coombs antihuman globulin testi
- Kompleman fiksasyon testi(KFT)

Genellikle ilk pozitifleşen serum aglütinasyon testidir. Nadiren coombs antiglobulin ve kompleman fikasyon testi , aglütinasyon testinden önce pozitifleşebilir. Akut brusellozlu hastaların çoğunda bu dört testin tümü pozitifdir. Nadir olarak bakteriyolojik olarak doğrulanmış enfeksiyonu olan hastalarda bile tüm serolojik testler negatif kalabilir (22). Çapraz reaksiyon nedeni ile hata nadir olup, kronik enfeksiyon, reenfeksiyon ve endemik bölgelerdeki popülasyonun bir kısmında serolojik tanı zor olabilir(64).

2.13.3 Çabuk Aglütinasyon Testleri

a. Lam Aglütinasyon Testi : Cam üzerinde serumla yapılan hızlı aglütinasyon testidir . Bakterinin istenilen konsantrasyonu ile muamele edilen seri dilüsyonu yapılmış serumla karşılaştırılınca, tüp dilüsyon metodundaki ile karşılaştırılabilecek bir aglütinasyon reaksiyonu verir . Hayvan brusellozunun epidemiyolojik olarak taranması amacıyla kullanılır . bu testin özgüllük ve duyarlılığı tüp dilüsyon metoduna benzer olsa da, çevresel koşullardan etkilenmesi nedeni ile tercih edilmemektedir (16,41,55,65).

b. Kart Test : Esas olarak hayvan serumunu test etmek için hazırlanmış, tamponlanmış, boyanmış bakteri süspansiyonunun kullanıldığı bir aglütinasyon testidir . Kısa sürede değerlendirilebilen bu testte pozitif serolojik sonuçların daima sat ile doğrulanması gereklidir (14,41,55,65).

c. Rose Bengal Testi : *Brucella abortus* S99 suşundan hazırlanan ve özel teknikle Rose –Bengal boyası ile boyanan , tamponlu tuzlu sudaki yoğun *brucella* antijeni kullanılarak yapılan , tek sulandırılmalı bir lam aglütinasyon testidir. Lam üzerine 0.03 ml antijen ve üzerine aynı miktar hasta serumu damlatılıp 4 dakika süre ile karıştırılıp aglütinasyon olup, olmadığı değerlendirilir. Antijen süspansiyonunda kullanılan tamponun pH'sı 3.65 civarında olup , bu asitlik derecesi, serumdaki IgM aktivitesini engelleyerek IgG'lerin reaksiyona katılmasına yardımcı olduğu gibi nonspesifik aglütininlerinde etkinliğine engel olur. Ekonomik olmasının yanı sıra kısa sürede çok sayıda serumla hızlı sonuç vermesi, bu testin özellikle tarama testi olarak sık kullanılmasına neden olmaktadır. Bu test pozitif sonuç verirse SAT ile doğrulanmalıdır (7,14,21,33,66,67).

d. Spot Test: Tam kan kullanılarak yapılan bir aglütinasyon testidir. Özellikle kitle taramalarında yararlı bir testtir. Parmak ucundan alınan bir damla kan üzerine, özel olarak

hazırlanmış yoğun *brucella* bakteri süspansiyonundan bir damla damlatılır ve karıştırılır. Olumlu vakalarda aglütinasyon görülür (7,21).

e. **Mikroaglütinasyon Test:** Safranin O gibi çeşitli boyalarla boyanan *brucella* antijeninin kullanıldığı daha kısa inkübasyon zamanı ve daha az antijen gerektiren bir testtir . Ülkemizde yapılan bir çalışmada , mikro ve makro titrasyon ELISA plaklarında yapılan *brucella* mikroaglütinasyon testi , klasik Wright Aglütinasyon Testi ile karşılaştırılmış ve mikroaglütinasyon yöntemi daha kolay, daha ekonomik olması nedeni ile özellikle çok sayıda serumla çalışan laboratuvarlar yada taramalarda kullanılmak üzere, klasik Wright tüp aglütinasyon testine alternatif olmuştur (41,68).

2.13.4. Serum Aglütinasyon Testi (SAT) (Standart Tüp Aglütinasyon Testi (STA)-(Wright Aglütinasyon Testi): Serolojik testler arasında en basit ve en yaygın kullanılanıdır. SAT, bir dizi tüpte fizyolojik tuzlu su ile seri dilüsyonları yapılan hasta serumuna eşit miktarlarda standart *brucella* aglütinasyon antijeni ilave edilerek uygulanır ve 37 °C 'de 48 saat inkübasyondan sonra değerlendirilir *Brucella* bakterileri hızla antijenik yapı değişiklikleri gösterdikleri için, antijenler iyi aglütine olan suşların S tipi kolonilerinden hazırlanmalıdır . SAT 'de kullanılan antijen *B.melitensis* ve *B.suis* gibi S tipi *brucella* türleri ile reaksiyona giren *B.abortus* 1119 'dan hazırlanır. *Brucella canis* smooth O-polisakaritlerinden yoksun rough bir tür olduğu için bu tür ile ilgili bir enfeksiyondan şüphelendiğinde *B.canis* veya *B.ovis*'den hazırlanan antijenler kullanılmalıdır (4,7,9,14,21,41).

SAT, bakterinin yüzeyinde veya yüzeyine yakın bulunan antijenlerle (özellikle sLPS) reaksiyonuna giren aglütine edici antikorların total miktarını ölçer. Immünglobulinlerin IgM, IgA ve IgG izotipleri bu yöntemle saptanabilir, ancak IgM antikorlarında en etkili aglütinasyon görülür. bu nedenle SAT, akut bruselloz olgularının serolojik tanısında, kroniklere oranla daha duyarlı bulunmuştur (41).

Brusellozda olguların çoğunda titre $\geq 1/160$ olmakla beraber tek bir titre daima tanı koydurucu değildir. SAT'da 1/160 veya üzerindeki sulandırımelerde aglütinasyon görülmesi veya titrede 3 hafta içinde 4 kat artış olmasıyla tanı koyulabilmektedir. Tüm tütreler öykü, epidemiyolojik özellikler ve klinik bulgular eşliğinde değerlendirilmelidir (4,9,39,69).

Normal olarak bazı kimselerin serumlarında 1/80-1/100 titresinde *brucella* ahlütininleri bulunabileceğinden, hasta serumları 56°C'de 30 dakika inaktive edilirse bu

aglutininlerin etkisi önlenir. Üç haftalık bir hastalık süresinden sonra, hastaların %97 'sinden fazlasında enfeksiyon serolojik olarak saptanabilir. Uygun antibiyotik tedavisine karşın olguların %5-7 'sinde anlamlı SAT titrasyonları iki yıla kadar yüksek kalabilmektedir . Subklinik enfeksiyonu olan bireylerde anlamlı SAT titrasyonları görülebilir(7,21,70).

2.13.5. Rivanol veya Merkaptotonol (2-ME) Testleri: Klasik SAT'de saptanan immünglobulinlerin hangi sınıftan olduğu belirlenemez. Brusellozun akut döneminde önce IgM sonra IgG tabiatındaki aglutininler sentezlenir , kronik dönemde IgG antikorlarının yapımı devam eder. Ancak birçok olguda IgM antikorları, düşük titrelerde ve bazen anlamlı varlıklarını sürdürebilir. Böyle olgularda olumlu bulunan bir aglutinasyon sonucunun IgM antikorlarından mı yoksa hastalığın kronik olarak devam etmesinden mi olduğunun ayırt edilmesi gerekir. Önemli olan hastalığın aktif olarak sürdüğünü belirleyen IgG antikorlarının varlığını saptamaktır. Bunun için 2-Merkaptotonol ya da rivanol kullanılır. Her ikisi de IgM 'deki disülfid bağlarını kırarak ve antikorları depolimerize ederek bunların aglutinasyon etkilerini yok ederler. Bu işlemi takiben saptanacak pozitiflik IgG'lere bağlı olacaktır. Bu amaçla serum sulandırıcı eriyiği veya serumun kendisi 0.05 M 2-ME ile muamele edilir. Bu ayırım IgG antikorlarının, IgM antikorlarına göre aktif enfeksiyonu daha iyi bir göstergesi olması açısından önemlidir (4,9,14,21).

2.13.6. Coombs testi: Hastalığın erken ve geç dönemlerinde , yüksek antikor titrelili serumlarda daha sık olmak üzere prozon olayı ve diğer bloke edici fenomenler nedeni ile yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir. Prozon olayı, blokan antikorlara bağlı gelişebileceği gibi, ortamda eşit miktarlarda antijen ve antikor bulunmamasına bağlı olarak da ortaya çıkabilir. Özellikle serum yüksek titrede antikor içerdiği zaman aglutinasyon düşük serum dilüsyonlarında maskelenebilir. Bu duruma antikor fazlalığı zonu veya prozon adı verilir. Ancak serum örnekleri rutin olarak $\geq 1:320$ titrasyonda seyretildiği sürece, prozon olayının fazla önemi kalmamaktadır. Pratik uygulamada prozon olayının engellenmesi için serum dilüsyonlarında fizyolojik tuzlu su yerine %5 NaCl ile hazırlanan tuzlu su kullanılabilir. Kronik lokalize bruselloz'da, prozon fenomenine bağlı olarak, SAT titrasyon vermeyebilir ya da düşük olabilir. Söz konusu prozon etkisi IgG yada IgA blokan antikorlarıyla ilişkili görülmektedir. Olay antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglutinasyon reaksiyonu oluşturmasını engelleyen mekanizmanın var olmasından doğmaktadır. Bunların ortaya

çıkarılmasının önemli tanı değeri vardır. Aglütinasyon blokajının ortaya çıkarılmasında kullanılan en iyi test Coombs (antiglobulin) testidir. Blokan antikorlar IgA ve IgG yapısındadır. Bruselloz'lu sığırlarda yapılan bir çalışmada blokan antikorların smooth LPS'lere yönlendiği, IgG₁ ve IgG₂ yapısında olduğu bulunmuştur .

Coombs testinde, SAT'da aglütinasyon görülmeyen tüpler, tuzlu su ile üç defa yıkayıp yeniden süspansiyon yapıldıktan sonra, her tüpe bir damla Coombs serumu (antihuman globulin) damlatılır

37 °C 24 saat bekletildikten sonra değerlendirilir. Böylece blokan antikorların etkisi Coombs testi ile ortadan kaldırılabilir. Bu testin özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önemi vardır (7,9,12,14,21,22,33,41,70,71).

2.13.7. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): ELISA, oluşturulan antijen-antikor kompleksine, enzim ile işaretli antigammaglobulin bağlanarak ve enzimin etkilediği substratın eklenmesi ile renk oluşumuna dayanan bir testtir . Antijen veya antikor belirlenmesi için uygulanan duyarlı bir yöntemdir. Bu testte enzimle işaretli monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Bu nedenle, tek serum örneğinde IgG ve IgM sınıfı antikorlar araştırılarak, hastalık evresi belirlenebilmektedir(72).

ELISA kompleks bir teknik olmasına rağmen bu teknikte birçok değişken kontrol edilmelidir . Katı faz olarak çoğunlukla mikrotitrasyon plakları kullanılmaktadır. polistren mikrotitrasyon çukurcuklarından başka, plastik boncuklar da solid materyal olarak kullanılabilir. ELISA 'da kullanılan enzimler kinetiklerle ve konjuge edilme dereceleri açısından iyi tanımlanmış enzimlerdir. Bunlar peroksidaz, alkalin fosfat, beta-galaktozidaz gibi substratları renkli ürünlere çevirebilme yeteneğinde olan enzimlerdir. Bu renkli ürünler standart spektrofotometrede okutulabilir. Beta-galaktozidaz kullanılmışsa florimetrede okunmalıdır. Substratlar genellikle alkalin fosfat için nitrofenil fosfat, peroksidaz için ortofenilendiamindir (21,72). Bugüne kadar, brusellozun serolojik tanısında ELISA yöntemi birçok araştırmada kullanılmış ve bu yöntemin çok duyarlı bir yöntem olduğu saptanmıştır. Antijeni kaplamak için, katı faz olarak genellikle 96 çukurlu polistren mikrofiltrasyon plaklarından yararlanılmıştır. Antijen olarak *brucella*'nın tüm hücreleri, smooth LPS, sitoplazmik proteinleri,nativ haptin polisakkariti ve dış membran proteinleri kullanılmıştır (27,41,73,74,75,76).

Brusellozda ELISA yöntemi ile ilk çalışma 1976 yılında Carlsson ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. *B.abortus* lipopolisakkarit antijeni ile yapılan bu çalışmada ELISA 'nın tüp aglütinasyonuna göre 10 ile 100 kat daha duyarlı olduğu görülmüştür.1980 yılında Magee, bruselloz tanısında ELISA'yı kullanarak IgM'i akut dönemde, IgG'yi ise akut dönemde daha yüksek olmak üzere kronik enfeksiyonda da yüksek bulunmuştur. Brusellozda ELISA ile yapılan çalışmalar daha sonraki yıllarda da devam etmiş ve *brucella* IgG, IgM, IgA antikorlarının hızlı ve duyarlı bir şekilde saptanabileceği bildirilmiştir. Bu test brusellozun klinik seyir ve takibinde kullanılabilir.(31,41,77,78).

2.13.8. Kompleman Fikasyon Testi (CFT): Antijen olarak *brucella* bakteri süspansiyonu kullanılarak mikro veya makro teknik ile yapılabilir. Bu testte rol oynayan antikorlar IgG ve IgM tipi antikorlardır. IgG₂'lerin komplemanı fikse edici özellikleri yoktur. Enfekte hayvanlarda IgG'ler aktif görev yaparken, IgM'ler daha fazla oranda komplemanı fikse etme yeteneği gösterirler. IgM'ler 60 °C'de inaktivasyon prosedürü olduğundan CFT 'nin IgG₁'i IgM 'den daha etkili olarak ölçtüğü bildirmektedir. Blokan antikorlarda devreye girdiğinden coombs testi kadar duyarlı bir testtir (7,14,22,41).

2.13.9. Radioimmunoassay (RIA): İmmunglobulin gruplarını ayrı ayrı saptayabilmesi sayesinde akut ve kronik olguların birbirinden ayırt edilmesi mümkün olmaktadır . çok duyarlı bir testtir (41,79).

2.13.10. İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA): Özel bir lam üzerine tespit edilen *brucella* antijeni üzerine, hasta serumu eklenip inkübasyon ve yıkama işlemleri uygulanmaktadır. Antijen –antikor birleşmesini göstermek için, floresan madde ile işaretlenmiş insan anti-globulin serumu kullanılmaktadır. Duyarlı ve özgül bir testtir (21,41).

2.13.11. Presitan Antikor Testleri: Radial (pasif) diffüzyon ve immünoelektroforetik teknikler üzerinde çalışılmıştır.IgM ve IgG antikorlarını ayırmak veya aktif ve kronik enfeksiyonu birbirinden ayırt etmek için kullanılan diğer aglütinasyon tekniklerine göre herhangi bir üstünlüğü gösterilmemiştir (41,80,82).

2.13.12. Immuno Western blot : Mikroorganizma protein antijenleri saf olarak elde edildikten sonra poliakrilamid jel elektroforezinde molekül ağırlıklarına göre ayrılır. Elektrotransferle nitrosellüloz kağıtlarına aktarılır ve havada kurutulur. Kağıt şeritlerin monoklonal veya poliklonal antikorlarla birleşmesi sağlanır . Kağıt şeritler yıkandıktan sonra , üzerilerine antikorlara karşı hayvanlarda hazırlanmış ve 32 P veya biotin ile işaretli özgül anti-Ig(anti-IgG, anti-IgM) antikorları konur. Radyoizotopla işaretli antikor kullanılırsa sonuç otoradyografiye göre, biotin ile işaretli antikor kullanılırsa avidin- peroksidaz enzimi ve 4-kloro-1-naftol substratı eklenerek renk değişikliğine göre değerlendirilir . Bu teknik hastalığın değişik fazlarında mikroorganizmanın farklı proteinlerine karşı oluşan antikor cevabının gösterilebilmesi ile prediktif olduğu kadar, prognostik özelliğe de sahip bir methodur. Seçilmiş sitoplazmik proteinlere karşı Western blot yöntemi, aktif enfeksiyonun geçirilmiş veya subklinik enfeksiyondan ayırımında, kullanılan diğer serolojik testlere destek sağlayabilmektedir(21,27,29,72,83).

2.14. Allerjik Tanı : Bakterilerden elde edilen ve saflaştırılmış nükleoprotein kompleksinden oluşna *Brucellergen* kullanılır. İntradermal enjeksiyondan sonra 24 saat içerisinde kızarıklık, ödem ve endürasyon şeklinde oluşan reaksiyon pozitif kabul edilerek, bu kişilerin *Brucella*'lara karşı duyarlı oldukları anlaşılır. Hastaların bir çoğunda bu test pozitif ise de negatif olması bruselloz tanısını uzaklaştırmaz. Deri testi negatif olduktan sonra da pozitif kalabilir. Epidemiyolojik çalışmalarda tarama testi olarak kullanılabilir(7,12,22,85).

2.15. Serolojik Çapraz Reaksiyonlar: Smooth brucella türleri ile E.coli O:116 ve O:157, kaufman –White Salmonella grup N (O:30), *Pseudomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae* ve *Yersinia enterocolitica* O:9 arasında görülmektedir . Bu çapraz reaksiyonlar s-LPS'nin karbonhidrat komponentini ilgilendirmekte ve O zincirinin üzerine de ortak olarak bulunan 4,6 -dideoksi -4aminomannopiranozil rezidülerine bağlanmaktadır (22,29).

2.16. Moleküler Tanı:

2.16.1. Bruselloz tanısında PCR Yöntemi :

Klinik materyalden mikroorganizmanın kültür ile izolasyonu günümüzde hala altın standart olarak nitelendirilmektedir. Fakat bu işlem yaklaşık 2 hafta almaktadır. Ayrıca brusellozun bakteriyolojik olarak tanısı deneyimli ekipman gerektirmekte, laboratuvar bulaş riski yüksek olması nedeniyle gereken güvenlik önlemleri mutlaka alınmalıdır. Bu dezavantajlar brusellozun laboratuvar tanısında moleküler yöntemlere başvurulması gereksinimini ortaya çıkarmıştır. Brusellozun hızlı tanısında gelecek vaad eden bir yöntem olan PZR hızlı, kolay, spesifik ve düşük maliyetli bir yöntemdir. 1987 yılında ilk kez Mullis ve Faloona tarafından keşfedilen PZR yöntemi *Brucella* tanısında büyük ilerlemeler kaydedilmesine yol açmıştır (32).

1987 yılından bu yana *Brucella*'nın PZR'a dayalı tanısında birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden ilki *Brucella* cinsine ait bütün türlerde korunan genetik bir lokusu (BCSP13 veya 16S rRNA genleri) saptayan yöntem olmuştur. Bu yöntem ile *Brucella* cins bazında saptanabilmekte tür veya biyovar ayrımı yapılamamaktadır (32) .

Brucella türlerini ve biyovarlarının ayrımını yapabilen PZR yöntemleri de geliştirilmiştir. Bu yöntemler tür bazında tiplendirmenin yapılmasının önemli olduğu epidemiyolojik çalışmalarda oldukça yararlı yöntemlerdir (32).

Kültürde üretilen bakterilere PZR işlemi uygulanması gerçekleştirilebilmektedir fakat doku, kan, semen, süt gibi materyallerden PZR ile direkt olarak nükleik asit saptaması oldukça güç olmaktadır. Laboratuvarlar bu konularda kendi protokollerini geliştirmektedir (32).

2.17. Radyolojik İnceleme

Kemik yerleşimleri için gereklidir. Basit radyografi, kemik sintigrafisi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans yöntemi ile yapılır (50).

2.18. Hayvan Deneyi

Doğrudan hastadan alınan 5-10 ml miktarda kan kobayların peritonu içine enjekte edilerek yapılır. *Brucella* varsa 2-4 hafta da ateş ve septisemi belirtileri ile hastalanır. Gebe

hayvanlar yavrularını düşürürler. Öldürülen hayvanların büyümüş lenf gangliyonları, kan ve dalaklarından yapılan preparatlarda *brucella* bakterilerini görmek ve kültür yöntemleri ile üretmek mümkündür. Zor ve zaman alıcı deney olup artık kullanılmamaktadır.

2.14. BAĞIŞIKLIK

Hastalıktan sonra kısmi bir bağışıklık oluşur. Kazanılan bu bağışıklık nispidir. Çünkü relapslar sık görülür ve bağışıklık kanda antikorların bulunması ile sağlanmaz. Mevcut bilgiler etkili bağışıklığın, hücresel tipte bağışıklık olduğunu düşündürmektedir. Çünkü *brucella* enfeksiyonu geçirmiş tipte bir hipersensitivite oluşturmaktadır (1). Aşı çalışmaları devam etmektedir. İnsanlara yönelik etkili bir aşı henüz pratiğe girmemiştir.

2.15. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK VE TEDAVİ

2.15.1 Antibiyotik duyarlılığı

İn-vitro testlerin sonuçlarına bakıldığında *brucella* bakterilerinde tedavide kullanılan ilaçların çoğuna direnç görülmemektedir. Hatta relaps sonrası izole edilen bakterilerde bile, tedavide kullanılan ilaçlarla tekrar test edildiğinde de yine direnç görülmemektedir. Relapsın yada tedavide başarısızlığın sorumlusu olarak bakterilerin hücre içi patojen olmaları düşünülmektedir. Bakteriler fagosite edildikleri makrofaj vb. hücrelerde canlılıklarını sürdürmekte, tedavi amacıyla kullanılan ilaçlar bu bölgeye ulaşmamakta veya ulaşabilseler de bakterileri bazı nedenlerle inhibe edememektedir. Böylece antibiyotikler uzun süreli verilmediğinde fagosite edildikleri hücrelerde gizlenen bakteriler bir şekilde açığa çıkıp relaps yada tedaviye yanıtızsızlığa neden olmaktadır. *Brucella*'ların fakültatif hücre içi parazit olmaları nedeniyle tedavide hücre içine girebilen antibiyotik kullanmak gerekir ve bu antibiyotiklere rağmen hastalığın uzun sürmesine ve belli oranlarda relapslara yol açar. Günümüzde en etkili tedavi protokolleri içerisinde doksisisiklinin, rifampisin yada streptomisin ile kombinasyonu yer alır. Bu ilaçların toksik ve yan etkileri özellikle gebelerde ve çocuklarda problem olabilmektedir. Ek olarak uzun süreli oral doksisisiklin ve kas içi verilen streptomisin hasta uyumunda sorunların açığa çıkmasına neden olmaktadır. Yinede tam anlamıyla relapslar önlenememektedir. Yeni fluorokinolonlar ağızdan alındığında iyi biyoayarlanım gösteren, yüksek doku konsantrasyonlarına ulaşan, hücre içine çok iyi ve fazla miktarda penetre

olabilen ilaçlardır. Bu tip ilaçlar *brucella* gibi hücre içi yerleşimli mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yeni tedavi protokollerinde yer almaktadır.

Günümüzde dünyanın bir çok yerinde uygulanmakta olan rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile ilgili yöntemler hızlı üreyen, besin gereksinimi karmaşık olmayan bakterilere göre standardize edilmiştir. Bugün dünyada birçok ülkede kabul görmüş olan NCCLS standartları içerisinde *S.pneumoniae*, *H.influenzae* ve *N.gonorrhoeae* gibi güç üreyen bakterilerin duyarlılık testleri standardize edilmiştir. ancak diğer güç üreyen *Helicobacter*, *Campylobacter* ve *Brucella* gibi bakteriler için henüz tam anlamıyla oturmuş standart yöntemler geliştirilmediğinden klinik mikrobiyoloji laboratuvarında bu bakterilere rutin duyarlılık testleri önerilmemektedir. Bununla birlikte yeni ilaçların keşfedilmesi ve keşfedilen bu ilaçların yukarıda sayılan nedenlerle bruselloz tedavisine aday ilaçlar olması, mevcut ilaçların durumlarının araştırılacak olması rutin dışında araştırma amaçlı olarak *brucella* bakterileri için de duyarlılık testlerinin yapılmasını gerektirmektedir. Ancak yapılan testlerin sonuçlarının nasıl yorumlanacağı açık değildir. Bu bakteriler için direnç yada duyarlılık sınır değerleri tam olarak belirlenmemiştir.

Brucella bakterileri poimiksin B, basitrasin, sikloheksimid, nalidiksik asit, nistanin ve vankomisin gibi antibiyotik ve antifungal ajanlara dirençli bakterilerdir. *Brucella* bakterilerini flora içeren kültürlerden izole etmek amacıyla hazırlanan selektif besiyerlerine bu ilaçlar eklenir. Buna karşılık tetrasiklinler, aminoglikozitler, ko-trimaksazol, fluorokinolonlar, azitromisin ve diğer makrolidler ve birçok beta-laktam antibiyotik *brucella* izolatlarına in-vitro etkili ilaçlardır. Ancak bu mikroorganizmaların intrasellüler yaşamaları nedeniyle brusellozun tedavisi için in-vitro etki gerekli ancak yeterli olmayan bir koşuldur.

Brucella bakterileri hücre içi patojenler olduğundan doku yada hücre kültüründe yapılmadığı sürece herhangi bir duyarlılık testinin klinik etkiyi öngörmesi mümkün olmamaktadır. Hatta hayvan deneyleri bile bu konuda yetersiz kalabilmektedir. In-vitro çalışmalara bakıldığında konvansiyonel antibiyotiklere de , yeni antibiyotiklerin bir bölümüne de direnç yoktur. Ancak, sorun hangi antibiyotiğin seçilmesinden çok hangi dozlarda ne kadar süreyle verileceğidir (60).

2.16.2 Brusellozun Tedavisi

Brucella'lar bir çok antibiyotiğe in-vitro duyarlıdır ancak tedavide başarı, ilaçları kombinasyonlar halinde kullanmaya ve tedavi süresini uzun tutmaya bağlıdır. Kombinasyonlarda yer alan ilaçlardan biri hücre içine iyi penetre olabilen bir ilaç olmalıdır. Karaciğer ve dalak apseleri varlığında antimikrobik tedavi ile birlikte apselerin perkütan drenajı hatta splenektomi gerekebilir. Nörobrusellozlu hastalar hastaneye yatırılmalı ve bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans gibi yöntemlerle izlenmelidir. Tedavi süresi hastadan hastaya değişebilir. Hasta iyileşme ve BOS glukoz seviyesi normale dönene kadar tedavi sürdürülebilir. Brusellozis tedavisinde günümüze dek kullanılan tedavi protokolleri aşağıdaki gibi özetlenebilir:

1. Tetrasiklin-streptomisin kombinasyonu: Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün önerdiği ilk rejimdir. Tetrasiklin günde 4 eşit dozda toplam 2 gram, streptomisin günlük tek injeksiyon biçiminde 1 gram kullanılmıştır. Tetrasiklin 3 hafta, streptomisin 2 hafta süreyle kullanımı sonucunda %26'ya varan oranda relaps bildirilmiştir. Tetrasiklin kullanım süresinin 6 haftaya çıkartılması relaps oranını % 8.5'e düşürmüştür.
2. Tek başına ko-trimaksazol kullanımı: Bu tedavi rejiminde çok yüksek relaps oranları görülmesi nedeniyle pek fazla önerilmemektedir.
3. Tek başına rifampisin kullanımı: Rifampisin hücre içerisine çok iyi penetre olup, yüksek anti-*brucella* aktivitesi göstermekle birlikte, tedavi sırasında relaps gelişimi nedeniyle kullanımı önerilmemektedir.
4. Tek başına doksisisiklin kullanımı: 1970'li yılların başında denenmiş ve %30'a varan relaps nedeniyle kullanımı terk edilmiştir.
5. Doksisisiklin-rifampisin veya doksisisiklin-streptomisin kombinasyonu: Dünya Sağlık Örgütü'nün en son önerdiği tedavi rejimidir. Streptomisin 2 hafta süreyle, diğerleri ise 6 hafta süreyle uygulanmaktadır. Son yıllarda streptomisin yerine netilmisin veya gentamisin kullanımının da etkili olduğunu gösterir çalışmalar yayınlanmıştır.
6. Rifampisin ve ko-trimoksazol kombinasyonu: Bu kombinasyonun etkili olduğuna dair az sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte, genellikle önerilen bir tedavi protokolü değildir(19,61-63).

3. MATERYAL VE METOD

Bu tez çalışması haziran 2007-Ağustos 2008 tarihleri arasında Şanlıurfa il merkezinde yapıldı. Çalışma grubu il merkezindeki mezbahada çalışan 47 kişi ve farklı semtlerde bulunan 22 veteriner hekim, 16 kasap ve 22 çiftçiden; kontrol grubu ise brusellozis açısından risk grubunda olmayan 20 kişiden oluşturuldu. Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin tümü erkek idi.

Çalışma randomize olarak belirlenmiş iş yerlerine gidilerek yapıldı. Çalışmaya katılmayı kabul eden kişilere yaş, kilo, öğrenim durumu, meslek gibi tanımlayıcı bilgiler ve brusellozisle ilgili olabilecek yakınmaları ile ilgili sorular içeren anket formu her bir denekle yüz yüze görüşülerek uygulandı.

Her bireyden anket uygulaması ile beraber 5-10 ml venöz kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri Harran Üniversitesi Araştırma ve uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirildi. 1500 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar plastik ependorf tüplere aktararak testler uygulanıncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi. Daha sonra bu serumların tümüne *brucella* lam aglütinasyon testi(Rose Bengal testi), Serum tüp aglütinasyon testi, Coombs testi ve ELISA testi uygulandı.

VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Veriler bilgisayarda excel tablosuna işlenerek grafikler çizildi, SPSS 15.0 istatistik programı ile değerlendirildi. İstatistiksel analizde Ki-kare testi kullanıldı.

3.1. ANTİJENLER

3.1.1. Rose Bengal Antijeni

Rose Bengal Testinde antijen olarak Rose-Bengal boyası ile boyanan *Brucella*

abortus Bakterilerinin tamponlu tuzlu sudaki standart süspansiyonunu içeren (Seromed Biyolojik Ürünler San. Tic. Ltd. Şti. Türkiye) ticari antijen kullanıldı. Piyasadan temin edildi. Her şişe 100 testlikti.

3.1.2. Wright Antijeni

Wright Aglütinasyon Testinde uluslararası standart *Anti-brucella abortus* serumu ile standardize *B. abortus* ve *B. melitensis*'in teşhisinde ticari antijen (Seromed Biyolojik Ürünler San. Tic. Ltd. Şti. Türkiye) kullanıldı. Her şişe 200 ml'yd.

3.2. SEROLOJİK TESTLERİN UYGULANMASI

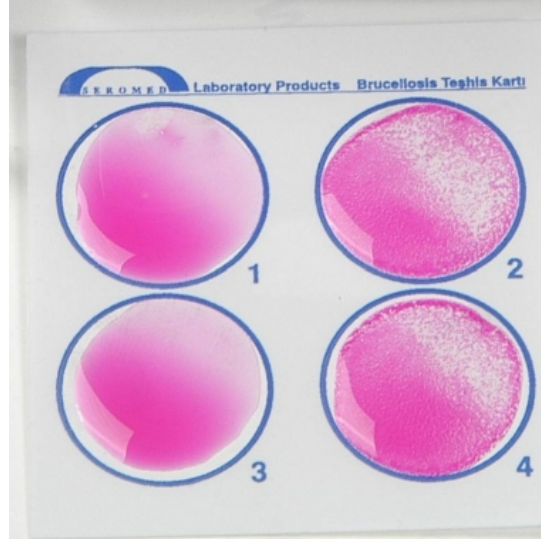
3.2.1. Rose-Bengal Testi (RBT)

Ön Hazırlık ;

- a) Antijen kullanılmadan önce oda ısısında 15 dakika tutuldu.
- b) Temiz ve üzerinde altı adet 2 cm. çapında çukur ve yuvarlak çalışma kutucuğu olan plastik plaklar temin edildi. Bu plaklar çalışılan serum örneğindeki numaralara göre numaralandırıldı.
- c) Otomatik pipet ve yeteri kadar pipet ucu temin edildi.

Testin Uygulanışı ;

- a) Plak üzerine 0.03 ml hasta serumu damlatıldı.
- b) Üzerine 0.03 ml Rose-Bengal antijeni eklendi.
- c) Plastik kürdan ile karıştırıldı. 3 dakika beklendi.
- d) Sonuçta iri tanecikli aglütinasyon oluşumu pozitif, homojen görünüm negatif olarak değerlendirildi (Resim 3.1).



Negatif reaksiyon pozitif reaksiyon

Şekil-2 Rose Bengal deneyi

3.2.2 Wright Tüp Aglütinasyon Testi (WAT)

Ön Hazırlık ;

- Antijen kullanılmadan önce oda ısısında 15 dakika tutuldu.
- Serum dilusyonu için altışar adet temiz tüp ve birer adet kontrol tüpü (14 x 100 ml) hazırlandı.
- Otomatik pipet ve yeteri kadar pipet ucu temin edildi.
- Fizyolojik tuzlu su (% 0.9)

Testin Uygulanışı ;

- Her serum için 6 adet serolojik tüp ve 1 adet kontrol tüpü ile çalışıldı.
- İlk tüpe 0.8 ml, diğerlerine 0.5 ml fizyolojik tuzlu su konuldu.
- İlk tüpe 0.2 ml hasta serumu eklendi. Karıştırıldı. Birinci tüpten 0.5 ml ikinci tüpe ve 2. tüpten 0.5 ml 3. tüpe aktarıldı. Altıncı tüpe kadar işleme devam edildi, 6. tüpten 0.5 ml dışarı atıldı.
- Tüplerde serum dilusyonları; 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/ 160 oldu.
- Tüm tüplere 7. kontrol tüpü dahil 0.5 ml standart *brucella* antijeni ilave edildi. Sonuçta serum dilusyonları 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/ 160, 1/320 oldu.
- Tüpler iki el arasında karıştırıldı, 37 Santigrat derecede 18-20 saat inkübe edildi. En son aglütinasyon görülen tüpün titresi pozitif kabul edildi. Pozitiflik en son tüpte ise üst dilusyonları çalışıldı (Şekil 3)



(1/80 pozitif reaksiyon)

Şekil-3. Tüp aglütinasyon deneyi

3.2.3 Coombs Testi

Gerekli malzemeler.

- 5-50 µl ayarlanabilir mikropipet
- 50 µl 8 kanatlı mikropipet
- etüv

testin uygulanması:

- 1-pleyt tablasına her serum için 8 adet (A-H arası) kuyucuk yerleştirildi.
- 2- ilk kuyucuğa(A) 95 µl diğerlerine 50 µl CMAT(Coombs'lu mikroaglütinasyon test) dilüenti konuldu.
- 3- ilk kuyucuğa 5 µl hasta serumu konuldu.
- 4- ilk kuyucuktan başlamak üzere 3-4 kere mikropipetle alıp vererek karıştırıldıktan sonra 50 µl B kuyucuğuna aktarıldı, aynı işlem sırasıyla H kuyucuğuna kadar devam edildi ve buradan 50 µl dışarı atıldı.
- 5- bütün kuyucuklara 50 µl antijen konuldu.
- 6- pleyt tablası dairesel hareketle iyice karıştırıldıktan sonra özel kutusunda ıslak pamuk ile beraber 37°C'de etüve konuldu ve 7- 24 saat sonra sonuçlar değerlendirildi.

3.2.4. ELISA

Harran üniversitesi araştırma uygulama hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilen ve T.C Refik saydam Hıfzısıhha merkezi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilip biotiplendirilen B.melitensis suşu kullanıldı..Köken 2cc beyin kalp buyyonu ile sulandırılarak, tripticase soya buyyona alındı ve 48 saat 37 °C'de etüvde inkübe edildikten sonra tripticase soya agara ekim yapıp etüvde 37 °C'de 48 saat inkübe

edilerek inkübasyon sonunda üreyen kolonilerin; *brucella* bakterisi olduğu doğrulandıktan sonra , S tipi olanları ayırt edildi. Bunun için lam üzerine %0,02'lik akriflavinden (1/1000) dilüsyonda) bir damla damlatıldı ve incelenecek koloniden alınan bir miktar bu damla içerisinde süspansiyon edildi. Spontan aglütinasyon göstermeyen koloniler S kolonisi olarak değerlendirildi. Birkaç S kolonisi , tripticase soya agar içeren cam tüplere ekilerek 48 saat 37 °C'de inkübe edildi. Süre sonunda 10 cc %0.9'luk steril serum fizyolojik (SF) steril şartlarda tüplere dökülerek hafifçe çalkalandı. Bu bakteri süspansiyonu filtre kağıtlarından geçirilerek cam kaplara süzüldü. Ve +4 °C'de 24 saat bırakıldı.bir gün sonra , üst sıvı bir pipetle alınarakatıldı. Ve dipte toplanan hücreler +4 °C'de soğutulmuş aseton ile 1500 dev/dak santrifüjlenerek 3 kez yıkandı. Daha sonra vakumlu desikatörde aseton uçurularak hücrelere kurutulup canlılık kontrolü için tripticase soya buyyona ve tripticase agara ekim yapıldı.mikroorganizmaların inaktif oldukları saptandıktan sonra kuru bakteri formları cam homojenizatörde 0.5 cc distile su ile homojenize edilip , spektrofometrede 590 nm dalga boyunda distile su absorpsiyonuna göre yoğunluk tayini yapıldı. Süspansiyon ultrasonik parçalayıcı ile 15 dakika 60 khz'de sonike edildi.

ELISA

Konjugatlar

Peroksidaz işaretli anti-human IgG(Anti-human IgG γ chain spesifik-peroxidasekonjugat,sigma Immunnochemicalis), konjugeleri kullanılmıştır.

Substrat:

3,3-5,5-tetramethylbenzidin içeren ticari solusyon kullanıldı.

ELISA plakları:

Çalışmada 96 çukurlu,düz tabanlı (Corning Incorporated COSTAR® 3590 certified surface chemistry polystrene) ELISA plakları kullanıldı.

ELISA okuyucusu:

Sonuçların değerlendirilmesinde Bio-tek Instruments,inc. ELx808 ultra mikroplate okuyucu kullanılmıştır.

Antijen titrasyonu: Antijen coating buffer'de (1/10 oranında dilüe edilmiş karbonat buffer+PBS) 1/50'den başlayarak soldan sağa doğru 100 μ l konarak +4 'de nemli ortamda bir gece bekletildi. İnkübasyondan sonra, mikroplate PBS+Tween 20 karışımı

ile 3 kez yıkandı ve soldan sağa ilk çukurlara bilinen pozitif serumlardan (SAT ;1280) 200 µl diğer çukurlara Casein+PBS (1/10) 100 µl konarak serumun seri dilüsyonları yapılarak 37 °C'de 45 dakika inkübasyondan sonra, benzer tarzda yıkama işlemleri tekrarlandı. Titresi 1/3000 olarak bilinen Anti-human IgG konjugattan bütün çukurlara 100 µl dağıtıldı. Son yıkamayı takiben tetramethylbenzidine içeren substrattan 100 µl dağıtılarak 30 dakika karanlık ortamda oda ısısında bekletilmiş ve çukurlardaki renk değişimi ELISA okuyucusu ile değerlendirilmiştir. Aynı işlemler, bilinen negatif serumlarla tekrarlanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde Bio-tek Instruments ,inc.E1x808 ultra mikropate Reader kullanılmış, çalışmaya alınan serumlardaki antikor düzeylerinin optik dansite (OD) değerleri 450 nm dalga boyunda okunmuştur. Uygun antijen titrasyonu 1/200 olarak belirlenmiştir.

Konjugat titrasyonu: Antijen coating buffer'de (1/10 oranında dilüe edilmiş karbonat buffer) 1/100 oranında sulandırılan antijenle kaplanan mikropate 37 °C'de 2 saat inkübasyonun ardından PBS-T ile 3 kez yıkandı. Mikropate soldan sağa 6 bölüme ayrıldı ve ilk çukurlara bilinen pozitif ve negatif serumlardan 200 µl, diğer çukurlara ise casein+PBS(1/10) solusyonundan 100 µl konuldu ve serumların yukarıdan aşağıya doğru dilüsyonları yapılarak 37 C'de 45 dakika inkübasyonu takiben yıkama işlemi tekrarlandı. Kanjugatın tüplerde, PBS-T içerisinde 1/1000'den başlayarak 2 katlı dilüsyonları yapıldı. Ve bu dilüsyonlardan 100 µl yukardan aşağıya doğru tüm çukurlara konuldu. 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Son yıkamayı tetramethylbenzidine içeren subsrattan 100 µl tüm çukurlara dağıtılarak 30 dakika karanlık ortamda oda ısısında bekletildi. Ve çukurlardaki renk değişimi ELISA okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda okutularak değerlendirildi. Uygun konjugat titrasyonu IgG için 1/3000 olarak saptanmıştır.

ELISA'nın uygulanması: Birinci aşamada, tüm çukurlara 100 µl PBS içerisinde 1/100 oranında sulandırılmış antijen konuldu ve 37 C'de nemli ortamda 3 saat inkübasyondan sonra PBS-T ile 3 kez yıkandı. Test edilecek serumlar 1/100 oranında Casein+PBS(1/10) solusyonu içerisinde sulandırılarak, tüm çukurlara 100 µl dağıtıldı. 37 C'de 45 dakika inkübasyondan sonra PBS-T ile 3 kez yıkandı. PBS-T içerisinde 1/3000 oranında sulandırılmış Anti-human IgG konjugatından tüm çukurlara dağıtılarak, tekrar 37 C'de nemli ortamda inkübasyona bırakıldı. Son yıkamayı takiben

TMB substrattan tüm çukurlara 100 µl dağıtılarak 30 dakika karanlık ortamda oda ısısında bekletildi. Ve ukurlardaki renk değişimi ELISA okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda okutularak değerlendirildi. Ve negatif eşiğin üstünde kalan en son sulandırmaya kadar reaksiyon pozitif olarak kabul edildi. Her deneme için bir adet pozitif ve bir adet negatif serum kontrolü kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya risk grubunda bulunan 107 ve risk grubunda olmayan 20 kişi olmak üzere toplam 127 kişi alınmıştır. Çalışma grubundaki kişilerin 47(%43.73)'si mezbaha çalışanı, 16(%14.95)'sı kasap, 22(%20.56)'si veteriner hekim ve 22(%20.56)'si çiftçi idi. Kontrol grubundaki kişilerin tümü memur idi ayrıca çalışmaya alınan bireylerin tümü erkek idi. Çalışma grubundaki kişilerin yaşları 18-66 yıl (ortalama 33±10.05) idi. Kontrol grubunun yaşları 27-55 yıl (38±9.26) idi (Tablo-IV).

Tablo-IV. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri ve test sonuçlarının dağılımı.

	Hasta	Kontrol	p
Yaş (yıl)			
Min-max	18-66	27-55	P>0.05
mean±SD	33±10.05	38±9.26	
Meslek			
Mezbaha	47(%43.73)	0	
Kasap	16(%14.95)	0	
Veteriner	22(%20.56)	0	
Çiftçi	22(%20.56)	0	
Diğer*		20((18.6)	
RB			
Poz	19(%17.76)	1	P<0.01
Neg	88(%82.24)	19	
STA			
Poz	14(%13.08)	1	P<0.01
Neg	93(%86.92)	19	
ELISA			
Poz	18(%16.82)	0	P<0.01
Neg	87(%83.18)	20	

Tablo IV'te de görüldüğü gibi çalışma grubundaki 107 kişinin ELISA testiyle 18(%18.82)'i, RB testiyle 19(%17.76) ve STA testiyle 14(%13.08)'ü seropozitif olarak bulundu. Çalışma

grubundaki bireylerden mezbahada çalışan 47 kişinin 9(%19.15)'u, 16 kasabın 3(%18.75)'ü, 22 veteriner hekimin 5(%22.72)'i, 22 çiftçinin 2(%9.09)'si ve kontrol grubundaki 20 kişinin 1(%5)'i RB testiyle pozitif olarak bulundu (Tablo-V).

Tablo-V. Meslek gruplarına göre seropozitifliğin dağılımı

Meslek	RB	STA*	Coombs	ELISA
Mezbaha(n=47)	9(%19.15)	7(%14.89)	9(%19.15)	9(%19.15)
Kasap(n=16)	3(%18.75)	2(%12.50)	3(%18.75)	3(%18.75)
Veteriner(n=22)	5(%22.72)	3(%13.63)	3(%13.63)	4(%18.18)
Çiftçi(n=22)	2(%9.09)	2(%9.09)	2(%9.09)	2(%9.09)
Kontrol(n=20)	1(%5)	1(%5)	0(%0)	0(%0)

STA: Standart tüp aglütinasyon testi (1/20 ve üzeri titreler pozitif olarak alınmıştır).

RB: Rose Bengal testi

ELISA testi ile mezbahada çalışan 47 kişinin 9(%19.15)'unda, 16 kasabın 3(%18.75)'ünde, 22 veteriner hekimin 4(%18.18)'ünde, 22 çiftçinin 2(%9.09)'sinde pozitif sonuç bulunmuştur. Ayrıca kontrol grubundaki bireylerin tümünde ise negatif olarak bulunmuştur. ELISA testi ile kontrol ve çalışma grubu arasında elde edilen pozitiflik açısından fark anlamlı bulunmuştur($p<0.01$).

Serum tüp aglütinasyon testi ile mezbahada çalışan 47 kişinin 7(%14.89)'sinde, 16 kasabın 2(%12.50)'sinde, 22 veteriner hekimin 3(%13.63)'ünde ve 22 çiftçinin 2(%9.09)'sinde; kontrol grubundaki 20 kişinin ise 1(%5)'inde pozitiflik saptanmıştır (Tablo - V). Çalışma ve kontrol grupları arasında STA testi ile pozitiflik açısından fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

Tablo-VI. Serolojik test sonuçlarının spesifite ve sensitivite açısından karşılaştırılması

Testler	Sensitivite	Spesifite	PPD	NPD
RB	%94.44	%97.75	%89.47	%98.86
STA	%77.77	%100	%100	%95.70
COOMBS	%94.44	%100	%100	%98.88
ELISA	%100	%98.88	%94.44	%100

PPD: Pozitif Prediktif Değer

NPD: Negatif Prediktif Değer

RB ve SAT testinin ELISA testine göre duyarlılığı ve özgüllüğü sırası ile %94.44, %97.75; %77.77, %100 olarak bulunmuştur. Pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri sırası ile %89.47, %98.86; %100, %95.70 olarak saptanmıştır. ELISA testinin ise STA + Coombs testine göre duyarlılığı %100, özgüllüğü %98.88, pozitif prediktif değeri %94.44, negatif prediktif değeri ise %100 olarak bulundu (Tablo-VI).

Tablo-VII. Uygulanan testlerin sonuçları

	RB	ELISA	STA	COOMBS
Hasta no	Pozitif/ Negatif	Pozitif/ Negatif	Titre	Titre
1	Pozitif	Pozitif	1/20	1/20
2	Pozitif	Pozitif	1/40	1/40
3	Pozitif	Pozitif	----	1/40
4	Pozitif	Pozitif	----	1/40
5	Pozitif	Pozitif	1/80	1/80
6	Pozitif	Pozitif	1/80	1/80
7	Pozitif	Pozitif	1/80	1/320
8	Pozitif	Pozitif	1/80	1/320
9	Pozitif	Pozitif	1/80	1/320
10	Pozitif	Pozitif	1/80	1/1280
11	Pozitif	Pozitif	----	1/160
12	Pozitif	Pozitif	1/160	1/160
13	Pozitif	Pozitif	1/160	1/160
14	Pozitif	Pozitif	1/160	1/160
15	Pozitif	Pozitif	1/160	1/160
16	Pozitif	Pozitif	1/160	1/640
17	Pozitif	Pozitif	1/640	1/640
18	Negatif	Pozitif	----	----
19	Pozitif	Negatif	----	----
20	Pozitif	Negatif	----	----

STA testiyle çalışma grubunda pozitif bulunan 14 kişinin 1(%7.14)'inde 1/20 , 1(%7.14)'inde 1/40, 6(%42.85)'sında 1/80, 5(%35.71)'inde 1/160, 1(%7.14)'inde 1/640 ve kontrol grubundaki 1 kişide de 1/40 titrede pozitiflik saptanmıştır. STA testiyle pozitif bulunan hastalara Coombs testi uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar incelendiğinde; STA testiyle pozitif bulunan hastalardan 1/80 titredeki 6 kişinin 3'ünde 1/320, 1'inde 1/1280 gibi yüksek titrede pozitiflik saptanmıştır.

ELISA testiyle pozitif bulunan 18 kişinin 17'si Coombs testiyle 14'ü STA testiyle 17'si RB testiyle pozitif bulunmuştur.. ELISA testiyle pozitif, STA testiyle negatif bulunan 4 kişinin 3'ünde RB testi pozitif, 1'inde ise negatif olarak bulunmuştur. Bunlardan STA testiyle negatif çıkan 3 hastanın 2'sinde 1/40, 1'inde 1/160 titrede Coombs testiyle pozitiflik saptanmıştır. çalışma grubunda ELISA, STA ve Coombs testleriyle negatif çıkan 2 kişide RB testi pozitif bulunmuştur (Tablo-VII).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

TARTIŞMA

Bruselloz dünyada yaygın olarak görülen özellikle evcil hayvanları etkileyerek abortus ve infertiliteye neden olan zoonotik bir hastalıktır. Brusellozis hayvanlardan insanlara infekte dokuların, kan ve lenf sıvılarının konjiktiva veya bütünlüğü bozulmuş deriye direk teması, kontamine et veya süt ürünlerinin ağız yoluyla alınması ve infekte aerosollerin inhalasyonu ile bulaşır. Mezbaha, mandıra, tabakhane gibi yerlerde çalışanlar, kasap, çoban, ve veteriner hekimler daima risk altında olan kişilerdir (34).

Bruselloz başlangıçta genel enfeksiyonlara, sonraları kronikleşerek çeşitli organ tutulumu ile giden hastalıklara yol açmaktadır.(1-9,11). Bulgu ve belirtilerin çok değişik olması nedeni ile hastalık gözden kaçabilmekte, uzun süre seyretmekte, kişinin çalışma gücünü ve psikolojik yapısını bozabilmektedir. Ayrıca besi hayvanlarında oluşturduğu düşük sonucu, et ve süt kaybına yol açarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır (1,2,3).

İnsan ve hayvan brusellozisi, alınan önlemlere rağmen belirli coğrafi bölgelerde ve belirli meslek gruplarında, daha yaygın olmak üzere ülkemizde ve dünyada görülemeye devam etmektedir.(11,27). Türkiye’de brusellozis bazen sporadik olarak görülürken bazı bölgelerde epidemiler şeklinde ortaya çıkmaktadır. Amerika Birleşik devletlerinde bruselloz olgularının büyük bir bölümünü mezbaha işçilerinin oluşturduğu bildirilmektedir(115).

Dünyada özellikle Akdeniz ülkeleri, Arap yarımadası, Meksika, Orta ve Güney Amerika’nın bazı bölgeleri ve Kızıldeniz’de yaygın olarak görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından dünyada her yıl 500 bin bruselloz olgusu rapor edilmektedir (3,9).

Gelişmiş ülkelerde az görülmekle birlikte az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yıllık insidans yüksektir.(116-120). *Brucella* türlerinin dağılımı bir bölgede beslenen hayvan çeşitleri ile ilgilidir. Akdeniz ülkelerinde *B.melitensis* (özellikle biotip 2); Kuzey ve Güney Amerika'da, Güneydoğu Asya'da *B.suis* ve *B.ovis*; Kuzey Avrupa ülkelerinde *B.abortus* (biotip 3); Kuzey ve Güney Amerika, Japonya ve Orta Avrupa'da ise *B.canis* enfeksiyonları daha sık görülmüştür.(1,3,6,7,9)

Bruselloz, Türkiye'de yaygındır. Ülkemizde yıllara göre Sağlık Bakanlığına bildirilen Bruselloz vaka sayılarına baktığımızda; 1970 yılında bildirilen vaka sayısı 37 iken bu sayı 1980 yılında 186'a yükselmiştir, vaka sayıları yıllar itibariyle artmış ve 1990 yılında 5.003 vaka, 1995 yılında 8.506 vaka ve 2000 yılında 10.742 vaka bildirilmiştir. Bruselloz 2002 yılında ülkemizde pik yaparak 17.742 vakaya ulaşmıştır. Bildirimdeki artışlar bir ölçüde sürveyans ve tanı koymadaki gelişmelere bağlanabilirse de daha çok hastalığın gerçekte yaygınlığına bağlı olduğu açıktır. Bruselloz morbidite hızı son yıllarda hızla artmaktadır. Morbidite 1970 yılında yüz binde 0.10 iken yıllar itibariyle devamlı yükselmiş ve 1980 yılında yüz binde 0.42, 1990 yılında yüz binde 8.96, 2000 yılında yüz binde 15.83 ve 2002 yılında yüz binde 25.23 olmuştur. Elimizdeki son veri 2003 yılına ait olup yüz binde 20.30'dur (120).

Türkiye'de brusellozis yaygınlığı bölgelere göre farklılık göstermektedir. Yurt dışı yayınlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda brusellozis seropozitifliği %0-20 arasında değişmekte iken; yurdumuzda %1.8-26.7'e kadar varan oranlar bildirilmiştir (18,19,20,23,24). Büke ve arkadaşları(19), İzmir'in ilçelerindeki 28 işyerinde çalışan 241 kişide yaptıkları bir araştırmada bruselloz prevalansını % 4.1; Sümer ve arkadaşları(23), Sivas il merkezindeki lokanta çalışanlarında 1999'da yaptıkları bir araştırmada prevalansı %2.8; Akgün ve arkadaşları (111), kırsal alanda bruselloz seroprevalansını saptamak ve Rose

Bengal testinin geçerliliğini belirlemek amacıyla Ankara Sincan Sağlık Ocağı bölgesindeki yedi köyde on yaş ve üzeri 964 kişi üzerinde yaptıkları araştırmada Rose Bengal Testi ile %5.2 oranında bruselloz seropozitifliği saptamışlardır. Şenler ve arkadaşları (110), Adana Doğankent Sağlık Ocağı bölgesinde 20 yaş ve üzeri erişkinlerde bruselloz prevalansın ölçülmesi amacıyla 301 kişi üzerinde yaptıkları araştırmada, serolojik olarak bruselloz seroprevalansı Rose Bengal testi ile %11.0, STA ile %0.3 olarak saptamıştır. Ünsal ve arkadaşları (112), Eskişehir İline bağlı toplam 54 köyde 2602 kişide, Rose Bengal testi ile prevalansı %18.9 olarak bulmuşlardır. Çolak ve arkadaşları (1991), 1988-1989 yıllarında, Afyonun Emirdağ ilçesine bağlı 7 köyde insan brusellozisini araştırmak amacıyla 828 kişiyi incelemişler ve 149(%17.6)'u brusellozis tanısı almıştır. Aynı yıl Sivrihisar'ın köyü Hamamkarahisardan 93 kişi kontrol grubu olarak alınmış ve bu grupta 6(%6.4) kişi hastalık tanısı almıştır. 1989'da Emirdağ'ın altı köyünde 504 kişi incelenmiş, Çifteler'de çalışan tarım işçilerinden oluşan 94 kişide kontrol grubu olarak alınmıştır. Çalışma grubunda 69(%13.7) ve kontrol grubunda 9(%9.4) kişide brusellozis seropozitifliği bulunmuştur. Toplam olarak 1988-1989 yıllarında 1332 kişi brusellozis açısından incelenmiş ve 218(%15.6)'inde Bruselloz seropozitifliği saptanmıştır. Ceylan ve arkadaşları(10), Van iline bağlı köylerde 2002 yılında yaptıkları araştırmada bruselloz prevalansını insanlarda %26.7 olarak bulmuşlardır. Özbakkaloğlu ve arkadaşları(31), Manisa ilindeki risk gruplarında 1998 yılında yaptıkları bir araştırmada bruselloz prevalansını %5.7 olarak bulmuşlardır. Aslan ve arkadaşları(96), Malatya ilinde 1994-1995 yıllarında seçilmiş bazı gruplarda STA testi kullanılarak bruselloz serpoiztifliğini araştırmışlar, on yaşın üstünde olan 486 kişi üzerinde alınan serumlarda %5.1 pozitif sonuç elde etmişlerdir. Altındiş(24), Afyon bölgesindeki risk gruplarında yaptığı bir araştırmada bruselloz seroprevalansını %12.5 olarak tespit etmiştir

Türkiye’de Bruselloz seroepidemiolojisi konusunda yapılan en kapsamlı çalışma 1987 yılında başlatılan çetin ve arkadaşlarının yürüttüğü TÜBİTAK projesidir.(18). 13 ayrı çalışma grubunun yürüttüğü ve 70.009 serum örneğinin *brucella* antikoru açısından incelendiği bir çalışma ile A grubunda (kırsal bölgelerde yaşayanlar, askerler, öğrenciler, hastanelere infeksiyon hastalığı dışında başvuranlar) bulunan 41.046 kişide %1.8; B grubunda (poliklinik laboratuvarlarına enfeksiyon hastalığı dışında belirtilerle başvuran) yer alan 17.661 kişide %1.8; meslekleri gereği riskli (veterinerler, mezbaha işçileri, et-balık çalışanları, deri, konserve ve yün sanayi işçileri, kasaplar, süt endüstrisi çalışanları) 3.734 kişilik C grubunda %6 ve D grubundaki (hastaneler ara sıra gelen ateş, halsizlik, eklem ağrıları gibi yakınmaları olan ancak ilk anda bruselloz olabilecekleri düşünülmeyen) 7.568 kişide % 6.7 oranında *brucella* antikor pozitifliği tespit edilmiştir. Bu çalışmaya göre normal popülasyonda seropozitiflik %1.8, risk gruplarında ise % 6 olarak ortaya çıkmaktadır. *Brucella* bakterileri ile temas etmiş spesifik antikor taşıyan kişi sayısı 1.750.000 olarak tahmin edilmiştir.

Altındış(24), hayvan ve hayvan ürünleri ile uğraşan meslek gruplarında brusellozis prevalansını saptamak amacıyla, Afyon ve civarında besiciliğin yoğun yapıldığı merkezlerde brusellozis yönünden risk grubu olduğu düşünülen besiciler, kasaplar ile süt toplayıcıları ve süt ürünleri imalathanelerinde çalışan toplam 320 kişiden toplanan serumlarda Rose Bengal ve Wright aglütinasyon yöntemi ile *brucella* antikor titresini araştırmıştır. Çalışma sonucunda besicilerde %13.3 kasaplarda %8.6, süt ürünleri imalathanesinde çalışanlarda da %15.7 oranında seropozitivite saptamıştır.

Benzer bir çalışmada Çelebi ve arkadaşları(121), Erzurum yöresindeki 100 kombina işçisi, 40 kasap, hayvancılıkla uğraşan 100 ve şehir merkezinde oturan 100 kişi olmak üzere toplam 340 kişide *brucella* antikoru Wright aglütinasyon yöntemi ile araştırmıştır.

Çalışma sonucunda kombina işçilerinde %2.0, kasaplarda %7.5, hayvancılıkla uğraşanlarda %12.0 oranında *brucella* antikoru saptamıştır. Kalkan ve arkadaşlarının (97), Elazığ'da mesleklerinde çalışma süresinin seropozitiflik üzerine etkisini ve çalışma süresi ile titre arasındaki ilişkiyi saptamak üzere 100 kasap, 100 veteriner hekim ve 100 çiftçiden oluşturulan toplam 300 kişi üzerinde 1998 yılında yaptıkları araştırmada seroprevalansı % 22 olarak tespit etmişlerdir. Grup olarak kasaplarda % 21, veterinerlerde % 20 ve çiftçilerde % 25 prevalans izlenmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada çalışma grubunu oluşturan 107 kişinin RB testiyle 19 (%17.76)'unda, STA+Coombs testiyle 17(%15.88)'sinde ve ELISA testiyle 18(%16.82)'inde pozitiflik saptanırken(Tablo-IV), seropozitiflik meslek grupları içinde farklı dağılım gösteriyordu. Grup olarak mezbahada çalışanlarda %19.15, kasaplarda %18.75, veterinerlerde %18.18 ve çiftçilerde %9.09 oranında seropozitiflik saptandı(Tablo-V). Mezbaha işçilerinde ve kasaplarda seropozitifliğin diğer meslek gruplarından daha yüksek çıkmasının nedeni mezbahada çalışanlarının enfeksiyonun bulaşma şekli ve korunma yöntemleri konusunda yeterli bilgiye sahip olmamaları ile açıklanabilir. Çalışmamız sırasında kasapların ve mezbaha çalışanlarının çoğunun et ve et ürünleriyle temas ederken eldiven, maske, önlük, galoş gibi kişisel koruyucu malzemeler kullanmamaları ve hayvan kesim sırasında kontamine eller ile ağız veya konjktivaya temas ettikleri gözlemlendi. Brusellozun bulaşma yollarından birinin de kontamine materyallerle temas sonucunda gerçekleşmesi ve bu bulaş yolunda ellerin büyük rol oynaması, mezbaha ve kasapların bu konuda yeterince bilgiye sahip olmaması ile açıklanabilir. Bu sonuçlar infekte hayvanlar ve onların ürünleriyle temasın brusellozun bulaşma yolundaki önemini de göstermektedir. Ayrıca yine mezbaha çalışanları arasında solunum yolundan, inhalasyon ile bulaşma sonucu oluşan salgınlar bildirilmiştir (8).

Veteriner hekimlerde, hayvan ve hayvansal ürünlerle teması olan diğer mesleklerde *brucella* enfeksiyon riski çalışma süresine, çalışma bölgesindeki bulunan hayvanlardaki enfeksiyonun yaygınlığına, mesleki kazaların sıklığına ve şekline, pratik uygulamalara, hayvanlara uygulanan aşıya maruz kalmalarına ve çalışma ortamlarına, kısmen de bireysel eğitim ve dikkatlerine bağlıdır.

Çiftçilerin gelenekleri, beslenme alışkanlıkları, süt işleme şekilleri, çiğ süt içme alışkanlıkları, hayvan gübrelerini bağ ve bahçelerinde kullanmaları, hayvanların doğumlarına müdahale etmeleri, hayvanları ile yakın ortamda uzun süre yaşamaları risk faktörü olarak bilinmektedir. Çiftçilerde ve kırsal kesimde besicikle uğraşanlar arasında yapılan , brusellozun yaygınlığını belirlemeye yönelik çalışmalarda değişik sonuçlar bildirilmiştir. Yurt dışı yayınlarda çiftçilerdeki bruselloz seropozitifliği % 0 ile % 20 arasında değişmekte iken; (20,21). Yurdumuzda % 1.8'den, % 25'e kadar değişen oranlar verilmektedir.(129).

Bizim çalışmamızda besicilik yapan insanlarda ELISA testiyle %9.09, RB testiyle de % 9.09 oranında seropozitiflik saptandı(tablo-V). Bizim çalışmamızda besicilerdeki seropozitifliğin toplumun diğer kesimlerine göre daha yüksek çıkmasının nedeni, bölgemizin bruselloz açısından endemik bir bölge olması ve brusellozun bölgemizdeki hayvanlar arasında yaygın olmasının yanı sıra, besicilerin sütü elle sağmaları, kaynatmadan peynir mayalamaları, bu peynirleri salamurada bekletmeden taze tüketmeleri, bir kısmının yeni sağılmış süt içmeleri ve enfeksiyonun bulaşma şekli ve korunma yöntemleri konusunda yeterli bilgiye sahip olmamaları ile açıklanabilir.

Hastalığın bulaşmasında enfekte materyallerle temasın etkili olması doğal olarak risk grubunda olan kişilerde seropozitifliğin yüksek oranda görülmesine neden olmaktadır. *Brucella* bakterisinin, hayvan dışkısında açıkta 100 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay canlı kaldığı bildirilmiştir.(1)

Çalışmamızdaki seroprevalans oranının Altındış(24), özbakkal oğlu ve arkadaşları(31), aslan ve arkadaşlarının(14) yaptıkları çalışmalardan yüksek; Kalkan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla uyumlu bulunmuştur. Ayrıca araştırmamızda seropozitiflik açısından yaş gruplarında istatistiksel yönden anlamlı farklılık tespit edilemedi.

Değişik yerlerde yapılan bruselloz ile ilgili araştırmalarda elde edilen farklı sonuçlar o bölgedeki brusellozun yaygınlığına, kullanılan test yöntemlerinin çeşitliliğine ve bu yöntemleri değerlendirme ölçütlerine ayrıca seropozitif olarak kabul edilen en küçük titreye, çalışılan mevsimlere, çalışılan grupların farklı olmasına bağlı olarak değişebildiği gibi incelenen yaş grupları, toplumdaki hayvancılık ve hayvan uğraşı durumu birbirinden ayrı olduğu için bizim araştırmamızdaki sonuçlar başka araştırmaların sonuçlarından farklılık göstermektedir. Yukarıdaki sayılan etmenlere bağlı olarak seropozitiflik oranlarımız pek çok çalışmaya göre yüksek bulundu.

Ülkemizde hayvan populasyonlarında *B.melitensis* ve *B.abotrus* enfeksiyonlarının yaygın oluşu ve eradikasyon çalışmalarında yeterli başarı sağlanamaması hastalığın yaygın olarak görülmesine neden olmaktadır. Günümüzde bruselloz halen insan sağlığı açısından önemini korumaktadır (11).

Brucella bakterilerinin geç ve güç üremeleri, özel besiyeri gerektirmeleri, hücre içi paraziti olmaları ve tanıdan önce genellikle alınan antibiyotik tedavisi, hastalığın tanısının konmasını zorlaştıran başlıca etkenlerdir. Klinik tanı bakteriyolojik ve serolojik testlerle birlikte değerlendirilir.(1-7,9). Kan kültürü akut dönemde yararlıdır. Akut olgularda %10-30 oranında, özellikle *B. melitensis*'in neden olduğu olgularda ise %85'e varan oranlarda kan kültüründe üreme olmaktadır.(1,2,7,14).

Brucella bakterilerinin izolasyon güçlüğü hem akut hem de kronik dönemde hastalığın tedavisi açısından zaman kaybına neden olmaktadır. Bu nedenle brusellozisin tanısında hasta

serumlarında *brucella* antijenlerine karşı antikorların araştırıldığı Rose-bengal testi, serum aglütinasyon testi(SAT), 2-merkaptoetanol testi, mikroaglütinasyon testi, coombs testi, kompleman fiksasyon testi, radioimmünassay, indirek floresan antikor testi, ELISA testi gibi serolojik yöntemler ile immunblot ve PCR gibi moleküler kullanılmaktadır. Ancak son ikisi maliyetlerinin yüksek olması sebebi ile çok fazla tercih edilen testler değildir.(1-7,9,10,11).

Ancak brusellozis tanısındaki klasik serolojik metotlarda problemler halen devam etmektedir. Aglütinasyon testleri uzamış yada kronik brusellozda negatif sonuçlar vermekte, ayrıca prozoon olayı ve inkomplet antikorlar serolojik testlerin negatif olarak saptanmasına neden olmaktadır. Ülkemizde de oldukça yüksek insidansa sahip *brucella* enfeksiyonlarının tanısında bir lam aglütinasyon olan Rose Bengal testi tarama testi olarak kullanılırken, hastada antikor titresinin saptanabilmesi açısından da tüp aglütinasyon testi kullanılmaktadır. Ancak tüp aglütinasyon testi ile elde edilen antikor titresini gösteren sonuçlar tek başına subakut, akut ve kronik enfeksiyonun ayırt edilmesine olanak vermemektedir. Bu nedenle antikor subgruplarının belirlenmesine olanak sağlayan modifikasyonlar veya yeni tanı yöntemlerinin oluşturulmasına ihtiyaç duyulmuştur(71,100, 101, 102, 103, 104, 105). Özellikle ELISA gibi tüm antikor subgruplarının belirlenmesine yönelik yöntemler geliştirilmiştir(106).

Özellikle IgG, IgM, IgA gibi antikor supgruplarını saptayarak brusellozisin izlenmesine olanak sağlayan, antijen modifikasyonları ile çapraz reaksiyon riskini en aza indiren ve 2 saat gibi kısa bir süre içerisinde sonuç veren ELISA yönteminin, rutin uygulamada kullanılan diğer tanı testlerine göre daha duyarlı ve özgül olduğu yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir(76,101, 103, 105).

Saz ve arkadaşları en az iki serolojik yöntem ile serum örneklerini değerlendirdikleri 208 kültür pozitif, 177'side seropozitif olan brusellozlu hastaları dahil ettikleri çalışmada,

STA'n duyarlılığını %62, özgülüğünü ise % 90 olarak bulmuşlardır. Buna karşılık Coombs, Rose Bengal ve ELISA testlerinin duyarlılık ve özgülüklerini sırası ile %77, %98; %87.5, %97 ve %97;%99 olarak belirtmişlerdir. ELISA testinin tanı amaçlı kullandıkları 4 testten daha duyarlı ve özgül olduğunu bildirmişlerdir(107).

Arıza ve arkadaşları da 74 hastayı iki yıl süre ile izledikleri çalışmada 761 serum örneğinin değerlendirmişler ve hastalarda oluşan IgM, IgG ve IgA türü antikorların kinetiğinin brusellozisin serolojik olarak izlenmesinde en güvenilir Göstergeler olduğunu bu bağlamda bu üç antikor cevabını ölçebilen ELISA yönteminin diğer klasik yöntemlerinden daha duyarlı olduğunu bildirmişleridir. Özellikle relaplarda ELISA IgG ve IgA sonuçlarının önemini vurgulamışlardır. Yapılan çok sayıdaki çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir.(71,76,77,78,100,102,103,105,107,108).

Araştırmamızda Tablo-IV'de de görüldüğü gibi çalışma grubundaki 107 kişinin ELISA testiyle 18(%18.82)'i, RB testiyle 19(%17.76) ve STA testiyle 14(%13.08)'ü seropozitif olarak bulundu. ELISA testiyle pozitif bulunan 18 kişinin 17'si Coombs testiyle 14'ü STA testiyle 17'si RB testiyle pozitif bulunmuştur. ELISA testiyle pozitif, STA testiyle negatif bulunan 4 kişinin 3'ünde RB testi pozitif, 1'inde ise negatif olarak bulunmuştur. Bunlardan STA testiyle negatif çıkan 3 hastanın 2'sinde 1/40, 1'inde 1/160 titrede Coombs testiyle pozitiflik saptanmıştır. Çalışma grubunda ELISA, STA ve Coombs testleriyle negatif çıkan 2 kişide RB testi pozitif bulunmuştur (Tablo-VII). Bunun bazı *Yersinia enterocolitica*, *vibrio cholerae*, *salmonella typhi*, *francisella*, *E. coli*, *Leptospira* gibi çapraz reaksiyon veren bakterilere karşı meydana gelmiş antikorlardan ve nonspesifik reaksiyonlardan dolayı yalancı pozitif reaksiyonlar meydana gelmiş olduğu düşünülmektedir. ELISA testinin STA ve RB testine göre daha duyarlı olduğu görülmektedir. Araştırmamızda ELISA testinin diğer testlere oranla duyarlılığı %100, seçiciliği %98.88, pozitif prediktif değeri %94.44, negatif prediktif

değeri %100 olarak saptanmıştır. Duyarlılığı yüksek olan bir testin seçiciliği düşük olması beklenirken bizim çalışmamızda ELISA testinin seçiciliği de yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla ELISA testinin hastaları atlama riski düşüktür. Sağlamları hasta olarak belirleme ihtimali de azdır. Bu durum duyarlılığı yüksek bir test olan ELISA'nın, erken tanının değerli olduğu brusellozda bir tarama testi olarak kullanılması yararlı olacaktır. İyi bir tarama test hem duyarlı hem de seçici olmalıdır. Toplumda taranan hastalık erken teşhis edildiğinde etkin tedavisi varsa veya ilerlemesi durdurulabiliyor, komplikasyonları önlenebiliyorsa; yanlış olarak hasta tanısı konulan kişilerin tanıları için gerekli ileri tetkikler sağlık kuruluşları için bir yük değilse; toplumda sık tarama olanağı yok veya çok sınırlı ise taramalarda kullanılacak tanı testinin duyarlılığının yüksek olması istenir(66). Ucuz maliyeti, kullanım kolaylığı ve yüksek duyarlılığı birlikte düşünüldüğünde ELISA testinin bruselloz tanısı için uygun bir tarama testi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca ELISA testi blokan antikorların ve prozon olayından dolayı ortaya çıkabilen yalancı negatif sonuçların da doğrulanmasında yararlı olabilir. Yine özellikle IgG, IgM, IgA gibi antikor subgruplarını saptayarak brusellozisin izlenmesine olanak sağlaması ve antijen modifikasyonları ile çapraz reaksiyon riskini en aza indirmesi, bunun yanı sıra 2 saat gibi kısa bir süre içerisinde sonuç vermesi ve birçok örneğin aynı anda çalışabilmesi gibi avantajları vardır. Bununla birlikte, ELISA testinin brusellozun tanısı için standardize edilmesi farklı antijen, yöntem ve kullanıcı değişkenlerinden ortaya çıkabilecek sorunları ortadan kaldırabilir. Ve özellikle aglütinasyon testleri ile doğrulanamayan hastalığın tanısında başarılı bir şekilde kullanılabilir

Laboratuvar tanı yöntemlerinin pahalı ve zaman alması nedeniyle bruselloz şüphesi olan pek çok hastaya test uygulanmaması, ancak belirgin bulgular veren bruselloz olgularına tanı konulması hastalığın düşük oranda saptanmasına neden olmaktadır. Özellikle ileri laboratuvar olanaklarının iyi olmadığı bölgelerde, acil tanı konulması gereken durumlarda,

zaman kaybını ortadan kaldıran, ekonomik, kolay uygulanabilen ELISA testi nonspesifik bir takım yakınmalarla gelen birçok kişinin gerçek tanısının konmasına yardımcı olacaktır. ELISA ile brusellozlu hastalar erken teşhis edilerek işgücü kaybından kaynaklanan ekonomik kayıplar önenebileceği gibi, erken safhalarda tedavi hem kolaylaşacak ve yanlış tedaviler önlenecek, hem de tedavi süresi kısalmaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak, bölgemiz brusellozis açısından endemik bir bölge olduğundan hastalığının tanısı, tedavisi ve takibi oldukça önem arz etmektedir. Ülkemizde yürütülen mücadele programlarına rağmen enfeksiyon oranı hala yüksek seyretmekte olup, hem hayvancılığı hem de insan sağlığını etkileyerek ülke ekonomisine zarar vermektedir. Hastalık özellikle ülkemiz gibi endemik ülkelerde sosyal ve ekonomik üretken yaş gruplarını etkileyerek önemli morbidite ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

İnsanlarda brusellozun önlenmesi, hayvanlardaki brusellozun kontrolü ve eradikasyonuna bağlıdır. Hayvan besleyenler, hayvan sağlığı konusunda bilinçlendirilmeli ve hayvanlarını bruselloza karşı mutlaka aşılamalıdır.

Brusellozdan korunmak için kişilerin hastalığın bulaşma yolları hakkında bilinçlendirilmesi ve uygun şartlarda hayvancılığın nasıl yapılacağı hakkında yaygın bir eğitime tabii tutulmaları gerekmektedir. Hayvan aşılarının yapılması enfeksiyonun kontrol altına alınması açısından önemlidir. Ayrıca hastaların erken dönemde tanı ve tedavilerinin yapılması gerektiği de unutulmamalıdır.

Ülkemizde kırsal alanda ve risk gruplarında önemli bir halk sağlığı sorunu olan bruselloz, moribitesi oldukça yüksek olmasına karşın mortalitesi düşük bir enfeksiyon hastalığıdır.

Ancak bildirim yetersizliği nedeniyle sorunun boyutları tam olarak bilinmemektedir. Araştırmamızda; Şanlıurfa il merkezindeki risk gruplarında bruselloz seroprevalansı ELISA testiyle %16.82 oranında belirlenmiş olup, bu sonuçlar doğrultusunda, bölgemizde önemli bir halk sağlığı problemi olan brusellozdan korunmak için şu önerilerde bulunulabilir;

1. Brusellozdan korunmada en etkili yol hayvancılıkla geçimini sağlayan halkın eğitilmesi ve hayvanların profilaksisidir. Bruselloz konusunda halk bilinçlendirilmeli ve hayvanların düzenli kontrol ve aşılanması sağlanmalıdır.
2. Enfekte hayvanların imhası, hayvan atıklarıyla direk temas etmeme, hayvanların aşılanması, düzenli veteriner kontrolü, insanların enfekte hayvanlarla temasın önlenmesi, riskli mesleklerde çalışanların ve hayvan uğraşısı olanların eldiven, maske, galoş, gözlük gibi kişisel koruyucu malzemeler kullanması, kolları örten giysiler giymesi gibi önlemler önem kazanmaktadır.
3. Türkiye’de bruselloz epidemiyolojisi konusunda bulunan önemli bilgi açığının giderilmesi için sağlık kurumlarından yapılması gereken bulaşıcı hastalıklar bildirimlerine önem verilmesi, özel hastane ve laboratuvarların da bildirim sistemine dahil edilmesi gerekmektedir. Ancak bildirimlerin iyileştirilmesi daha uzun bir süreç alabileceğinden bu konuda bilgi açığına daha kısa sürede yanıt verebilecek çok merkezli sero-epidemiolojik çalışmaların yapılması gerektiği önerisi getirilebilir. Muayene ve polikliniklere başvuran veya kliniklerde yatan hastalardan elde edilen seropozitiflik verileri toplumu tam olarak temsil etmemektedir.
4. Hastalığın gerçek prevalansını tespit etmek için saha çalışmalarına ve özellikle risk gruplarının araştırılmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmalarda özellikle kronik olguları saptayabilmek için hem halk sağlığı, hem de ülke ekonomisi yönünden ayrı bir öneme sahip olan risk grupları taranmalıdır. Ayrıca bruselloz konusunda resmi ve özel kişi, kurum ve kuruluşlara eğitici çalışmaların yapılması, hem üreticilerin hem de tüketicilerin bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

6- KAYNAKLAR

1. Trujillo IS, Zavala AN, Caceres JG, Miranda C: Brucellosis, Infectious Disease Clinics of North America; 1994, 8(1) : 225-241.
2. Meyer M: The Genus Brucella. The Prokaryotes ; A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria (Ed. MD, Stolp, Trüper H.G, Balows A, Schlegel HG). Berlin Heidelberg:1981, Vol:1, 1063-1071
3. Mims CA Playfair J, Roit IM, Vakelin D, Williams R: Multisystem Zoonoses, In Medical Microbiology, Mosby Europe Ltd. London, 1993, Vol:31, 31.9-31.10
4. Young EJ: Brucellosis, Principles and Practice of infectious Disease; 3rd Edition, (Eds. Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE) New York Churchill Livingstone Inc., 1995, 2053-2060
5. Mayer NP, Holcomb LA, Hausler WJ: Brucellosis; Manual of clinical Microbiology; 5th. Edition (Eds. Ballows H, Hausler WJ, Hermann KL, Izenberg HD), Washington DC American Society for Microbiology, 1991, 457-463.
6. Diaz R: Diagnosis Brucellosis Inf. Circ. WHO Mediterr Zoon. Control Cent., 1994, 36,2
7. Bilgehan H: Klinik mikrobiyoloji. 7.Basım. Bornova İzmir; Barış Yayınları:1992, 157-168
8. Sonnenwirth AC: Gram negatif Bacilli, Vibrios and Spirilla, Gradwohl's clinical Laboratory Methods and diagnosis (Ed. Sonnenwirth A.C, Jarrett L.), 1990, Vol:2 1829-1833
9. Young ES: An Overview of Human Brucellosis Clin. Infect.Dis., 1995, Vol: 21:283-290.
10. Joklik WK: Brucella Zinsser Microbiology, 20th Edition (Eds. Joklik W.K.Willet H.P., Amos D.B., Wilfret C.M) New Jersey, Appleton, 1992, 609-614.
11. Aydın N, Minbay A, İzgör M, Yardımcı H: In Relation to Epidemiology and Human Infection. Brucella and brucellosis in Man and Animals (Eds. Tümbay E, Hilmi S, Anđ Ö) 1992,51-65.
12. Sözen T: Bruselloz, Enfeksiyon Hastalıkları (Ed. Topçu A.W., Söyletir. G., Doğanay M.) Nobel Tıp Kitabevi, Ankara 1996,486-491.

13. Ustaçelebi Ş: Temel ve klinik Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Kitapevi; 1999,571-577.
14. Alton GG, Jones LM, Pietz DE: Laboratory Techniques in brucellosis 2nd Edition WHO Monograph Series No: 55, Ceneva 1975.
15. Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji, Oba Kitabevi, Konya, 1986,173-184.
16. Özkan K: Brusellosis'in Tarihçe ve Etyolojisi, 24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kayseri, 26-28 Haziran 1990.
17. Arda M, Minbay A, Aydın N: Özel Mikrobiyoloji Bakteriyel Hastalıklar, A.Ü.Vet.Fak.Yayınları A.Ü. Basımevi, Ankara 1984,284
18. Çetin ET, Çoral B: Türkiye'de insanda Bruselloz Prevalansının Saptanması. Doğa Dergisi,1990,4:58-64.
19. Büke Ç, Çiçeklioğlu M, Erdem İ, Özacar T, Öztüfekçi H. Süt Ürünleri İşleyicilerinde Bruselloz Prevalansı ve Brusellozu Bilme Durumu. Turkish Journal of Infection,200,14(3):324-325.
20. Ceylan E, Irmak H, Buzğan T, Karahocagil MK, Evirgen Ö: Van İline Bağlı Bazı Köylerde İnsan Ve Hayvan Populasyonunda Bruselloz Prevalansı. Van Tıp Dergisi,2000,10(1):1-5.
21. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji Tanı. Üçüncü Baskı. Üçüncü Baskı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitapevi, İzmir, 2002,475-478.
22. Joint JE, Peterson LR, Finegold SM: Gram Negative Facultatively Anaerobic Bacilli and Coccobacilli, Genus Brucella in, Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 9th Edition, Mosby-Year Book, Missouri, 1994,408-409.
23. Sümer Z, Alim A, Sümer H, Özdemir L: Sivas İl Merkezindeki Lokanta Çalışanlarında Brucella Seropozitifliği. Turkish Journal of Infection,2000,14(1):69-70.
24. Altındış M: Afyon Bölgesi Besicilerinde, kasaplarda, süt ürünleri toplayıcısı ve imalathane Çalışanlarında Bruselloz Seropozitifliği. Turkish Journal of Infection,2000, 15(1): 11-15
25. Corbel MJ: International Committee on brucellosis, Sixth Report. Technical Reports Series 740. WHO, Geneva, 1986.
26. Moriyon I, Lopez -Goni I: Structure and Properties of The Outer Membranes of *Brucella Abortus* and *Brucella melitensis*. Internat. Microbiol. 1998,1,19,26.
27. Goldbaum FA, Leoni J, Wallach JC, Fossati CA: Characterization of An 18 kilodalton Brucella Stoplasmic Protein Which Appears To Be a Serological Marker Of Active

- Infection of Both Human and Bovine Brucellosis. J.Clin. Microbiol., 1993,31:8,2141-2145.
28. Zygmunt MS, Gilbert FB, Dubray G: Purification, Charecterization and Seroactivity of 20 kilodalton Brucella Protein Antigen. J.Clin.Microbiol, 1992,30:10,2662-2667.
 29. Corbel MJ: 1st International Conferance on Emereging Zoonoses Jerusalem, Israel. Brucellosis: An Overwiev. Emerg. Infect. Dis., 1997,3:2,213-221.
 30. Arda M: Türkiye’de Hayvan brusellozunun Genel Durumu ve Bruselloz Mücadele Projesi. 1.Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları kongresi, İzmir, 20-23 Nisan 1987.
 31. Özbakkaloğlu B, Tünger Ö, Dinç G, Borand H, Orhon H: Manisa İlindeki Risk gruplarında Bruselloz Seroprevalansı. Turkish Journal of İnfection, 1998,12(4):453-457.
 32. T.C Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri, Sağlık Bakanlığı Matbaası, Ankara, 1995.
 33. Arnow, Smaron M, Ormiste V: Brusellozis in A Group of Travellers to Spain. JAMA, 1984,251:4,505-507
 34. Günhan C: Brusellozda Değişik klinik Tablolar ve Tedavisi.1. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (Ed: Tümbay E, Anğ Ö, Karakartal G)’n de. İzmir, Bilgehan basımevi, 1987,158-161
 35. Noperstek E, Block CS, Slavin S: Transmission of Brusellosis by Bone Marrow Transplantation. The Lancet,1982,1,574-575.
 36. Öztürk R, Soysal F, Atlas K: Sperm Kültüründe *Brucella melitensis*, Üretilen Bir Epididimo-Orşitli Bruselloz Olgusu. Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg, 1993,23,148-150.
 37. Ruben B,Band J, Wong P, Colville J: Person to person Transmission of *Brucella melitensis*. The Lancet, 1991,337:14-15.
 38. Baysal B. Brucella. Ed: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; 571- 577
 39. Chomel BB, Debess EE, Mangiamele DM: Changing Trends in The Epidemiology of Human Brusellosis in California from 1973 to 1992: A Shift Toward Food Borne Transmission. J. Infect.Dis, 1994,170:1216-1223.
 40. Bilgehan H. Brucella. *Klinik Mikrobiyoloji*. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. 10.basım. İzmir. 2000 ; 199-214

41. Young EJ: Serologic Diagnosis of Human Brusellosis: Analyses of 214 Cases by Agglutination Tests And Review of The Literature. Rev. Infect. Dis, 1991,13:359-372.
42. Shapiro DS, Wong JD. Brucella. In: Murrey PR, Baron E, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. Eds. Manual of Clinical Microbiology, 7. Edition, American Society for Microbiology, 1999; 625-629
43. Koneman E , Winn W, Alen S, Janda W, Procop G. Schreckenberger P, Woods G. Koneman's Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 8th Edition. Lippincott Willams & Wilkins. 2006; 482- 490.
44. Geyik MF: Brusellozun Kilinik Formları. KLİMİK XI. Türk klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları kongresi, 2003,209-210.
45. YüceA, Çavuş SA. Türkiye'de Bruselloz: Genel Bakış. *Klimik Dergisi* . 2006; 19 (3) : 87-97.
46. Anonim. International Committee on Systematics of Prokaryotes- Subcommittee on the Taxonomy of *Brucella*. Erişim: <http://www.the-icsp.org/subcoms/Brucella.htm>
47. Hoover D.L, Friedlander A.M. Brucellosis. *Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare* 513-521.
Erişim: http://www.bordeninstitute.army.mil/published_volumes/chemBio/Ch25.pdf .
48. J.A.Stack, A.P.MacMillan, FAO/WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Brucellosis. Brunet Publications. Erişim: <http://www.moag.gov.il/brunet/>
49. Gör al G. Hücre İ i Bakterilerin Yaptığı Hastalıkların İmmunopatogenezi. 28.Türk Mikrobiyoloji Kongresi 4-9 Ekim 1998, Antalya. Kongre Kitabı; 111-4.
50. B ke M. Brusellozun Laboratuar Tanısı. IX. Türk Klinik Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı. S.28-29, 3-8 Ekim 1999. Antalya
51. Berger TG, Guill MA, Goetle DK. Cutaneous Lesions in Brucellosis. Arch Dermatol. 1981;117:40.
52. Young E Brucella species. In :Mandell GL, Bennet JE, Dolin R , eds. Principles and Practice of Infectious Disiases. 5th ed.New York : Cuhurchil-Livingstone ; 2000 :2386-2393.
53. Onul B.Brusellozis. İnfeksiyon Hastalıkları. Ankara  niversitesi yayınları, Ankara; 1983: 715.

54. Chugh TD, Nusrat H, Mustafa AS. A study of secreted cytokine profile in human brucellosis. 11th ECCMID 1-4 April 2001, Istanbul, Turkey. Congress Book; Abstract: P601.
55. Arda M, Minbay A, Aydın N, Leloğlu N, Akay Ö: Özel mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:741, Erzurum, 1992, 197-223.
56. Finigold SM, Martin WJ, Scott EG: Bailey And Scott's Diagnostic Microbiology. Fifth Edition, Mosby-Company, Saint Luis, 1978, 197-199.
57. Baldi PC, Miguel SE, Fossati CA, Wallach JC: Serological Follow-Up of Human Brucellosis by Measuring IgG Antibodies To Lipopoliysaccharide And Cytoplasmic Proteins of Brucella Species. Clin. Infect Dis, 1996, 22:446-455.
58. Gottuzo E, Carillo C, Guerra J, Liosa L: An Evaluation of Diagnostic Methods For Brucellosis-The Value Bone Marrow Culture. J. Infect. Dis, 1986, 153:1, 122-125.
59. Comparison of The Bactec And Lysis Concentration Methods For Recovery of Brucella Species from Clinical Specimens: Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis, 1991,10 (8): 647-654.
60. Bricker BJ: Diagnostic Strategies Used For The Identification of Brucella Vterinary Microbiology, 2002,90: 433-434.
61. Roiz MP, Peralta FG, Vale R, Arjona R: Microbiological Diagnosis of Brucellosis. J. Clin. Microbiol, 1998,36:6,1819.
62. Ruiz J. Lorente I, Perez J: Diagnosis of Brucellosis by Using Blood Cultures. J Clin Microbiol, 1997,35: 2417-2418.
63. Yagupsky P: Detection of *Brucella melitensis* by BACTEC NR 660 Blood Culture System. J Clin Microbiol,1994,32:8,1899-1901.
65. Moyer NP, Evins GM, Pigott NE: Comparison of Serologic Screen Tests For Brusellosis. JClin Microbiol,1987,25:10,1969-1972.
66. Corbel MJ: DNA Analys of Brucella Species: An Uptade. Brucella and Brucellosis in Man and Animals (Eds. Tümbay E, Hilmi S, Anğ Ö) Ege Univetsity Pres, İzmir, 1991,11-25.
67. Durupınar B, Keleş N: Risk Gruplarında Brucella Seropozitifliğin ELISa ile Araştırılması. Enfeksiyon Dergisi,1996,10:2,125-127.
68. Palanduz A, Palanduz S,Guler K, Guler N. Brucellosis in a mother and her young infant :probable transmission by breast milk.. *Int J Infect Dis*. 2000;4(1):55-6 .

69. Madkour MM: Brucellosis. Harrison's Principles of Internal Medicine (Eds: Fauci A.S., Braunwals E., Isselbacher K.j., Wilson J.D) 14th Edition. Mc Graw-Hill Companies, New York, 1998,969-971.
70. Salata RA: Brucellosis. Cecil Textbook of Medicine (Eds: Wyngaarden J.B., Smith L.,H). 18th Edition. WB Saunders Company, Philadelphia, 1988, 1676-1679.
71. Heizmann W, Botzenhart K, Döllner G: Brusellosis: Serological Methods Compared. J Hyg Camp, 1985,95:639-653.
72. Özbel Y: Temel İmmunoloji: 1.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1994,285.
73. Gilbert GL, Hawes LA: The Antibody Response To Brucella Immunglobulin Response Measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay And Conventional Tests. Aust N Z J Med, 1981, 11:40-45.
74. Hinchliffe P: Brucellosis. ELISA In The Clinical Microbiolog Laboratory (Eds: Wreghitt TG, Capner PM). Public Healt Laboratory Service GI, London, 1990,154-163.
75. Hunter SB, Bibb WF, Shih CN: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay With Major Outher Membrane Proteins of Brucella melitensis To Measure Immune Response To Brucella Species. J Clin Microbiol, 1986,24:4, 566-572.
76. Sippel JE, El-Masry NA, Farid Z:Diagnosis of Human Brusellosis With ELISA. The Lancet, 1982,19-21.
77. Carlsson HE, Hurvell B, Lindberg AA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Fot Titration of antibodies against *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica*. Acta Pathol Microbiol Scand. 1976,84 (3) : 168-176.
- 78.Magee JT: An Enzyme- Labelled Immunosorbent Assay For Brucella abortus Antibodies. J Med Microbiol,1980,13 (1) :167-172.
79. Parrat D, Nielsen KH, White RG, Payne DJH: Radioimmunassay of IgM, IgG And Iga Brucella Antibodies.
80. Hinsdill RD, Berman DT: Antigens of *Brucella abortus* J Bacteriol, 1967, 93:2,544-549.
81. Dizer U. Bruselloz Ders Notları. Erişim:
http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/infeksiyon/Ders_Notlari/BRUSELLOZ.htm - 142k
- 82.Verstrete DR, Creasy MT, Caveney NT: Outher membrane Proteins of *Brucella abortus* : Isolation And Characteization. Infect Immun, 1982, 35:3,979-989.

83. Lane HD: Antibodies, A Laboratory Manuel, Cold Spring Harbor Laboratory.USA,1988,472-50.
84. Matar GM, Khneisser IA, Abdelnoor AM: Rapid Laboratory Confirmation of Human Brucellosis by PCR Analysis a Target Sequence on The 31 kDal. Brucella Antigen DNA. J Clin Microbiol, 1996, 34:2,477-478.
85. Akan E: Tibbi mikrobiyoloji. Oba Kitabevi, Konya, 1986,173-184.
86. Bruselloz. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ve Temel Sağlık Hizmetleri genel Müdürlüğü. *AER Aylık Epidemiyoloji Raporu*. 2004;3(2) .
87. Acha PN, Szyfres B. Brucellosis. In : Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals, 2 nd ed, Pan American Health Organization, Washington DC 1987; 24.
88. Gotuzzo E. Brucella , Gorbachi SL , Banlett JG , Blacklow NR ed , In : Infectious Diseases second edition , WB sounders company , 1998 Philedelphia , p. 1837-44.
89. Nicoletti PL: Relationship between animal and human disease," Young EJ, Corbel Mj (eds). *Brucellosis: Clinical and Laboratory aspects* "kitabında, CRC Press Inc., florida (1989).
90. Meyer ME: Evolutionary development and taxonomy of the genus Brucella,' Adams LG (eds): *Advances in Brucellosis research*' kitabında s. 12, Texas A&M University Press, Texas (1990).
91. 81. İyisan AS, Akmaz Ö, Düzgün S. Ve ark: Türkiye'de sığır ve koyunlarda brusellozisin seroepidemiyojisi, *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 2000; 31: 21.
92. Sözen TH. Bruselloz. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları* kitabında. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1996; 486-91.
93. OIE Manuel: *Bovine Brucelosis*, Vol II (B/ 012), 12 rue de Prony-75017, Paris (1990
94. Aksakoğlu G. Bruselloz. Aksakoğlu G, Ellidokuz H (editörler). *Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş İlkeleri* kitabında. 2. Basım. İzmir: Açılım Yayıncılık, 1996; 142-3.
95. Taşova Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, İnal S ve Aksu HSZ. Bruselloz: 238 erişkin olgunun klinik, laboratuvar ve tedavi özelliklerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12 (3): 307- 12.
96. Aslan T, Genç M, Pehlivan E, Günal S: Malatya İlinde Seçilmiş Bazı Risk Gruplarında Wright tekniği ile Bruselloz Taraması. İnönü üniversitesi Turgut Özal Tıp

- Merkezi Dergisi,1995,2(4):354-358
97. Baysal B. Brucella. In: Ustaçelebi Ş. (Eds). Temek ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Basım. Ankara. Güneş Kitabevi. 1999:571-577
98. Sümerkan B: Brucella bakterilerinde in-vitro antibiyotik Duyarlılığı. ANKEM Dergisi, 2001, 15(3): 575-576.
99. Akova M. Brusellozis Tedavisi. ANKEM Dergisi 2001:15 (3): 571-574
100. Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateb MI: Evulation of ELISA in The Diagnosis of Acut and Chronic Brusellosis. J Clin. Microbiol,1985,21:3,381-386.
101. Günhan C. Bruselloziste Tedavi. IX. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı. s.17.3-8 Ekim 1999. Antalya.
102. Foz A, Pellicer T, Comerma J, Ariza J: Specificity of ELISA Anti-IgG conjugate in The Diagnosis of Human Brusellosis. Eur J Clin. Microbiol,1985,4:138-139.
103. Ariza J, Pellicer T, Patters R: Spesific Antibodies profile in Human Brusellosis. Clin Infect Dis, 1992,14:131-140.
104. Mongini C, Fernandez T, Turovetzky A, Hajos SE: Comparative Study of Cell-Immunoenzymatic Methods For the Estimation of IgG and IgM Anti-brucella Antibodies in The Diagnosis of Human Brusellosis. J Appl Bacteriol, 1990,69:86-91
105. Pellicer T, Ariza J, Foza A: Spesific Antibodies Dctected During Relapse of Human Brusellosis. J Infect Dis, 1988,157:5,918-924.
106. Durmaz R: Uygulamalı Moleküler Biyoloji. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2001, 123-137.
107. Saz JV, Beltrajn M, Diaz A: Enzyme-Linkedimmunosorbentassay For Diagnosis of Brusellosis. Eur J Clin Microbiol, 1987,6:1, 71-74.
109. Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Oassem LA, Osoba AO: Comparison of The Brucella Standart Aglütinasyon Test With The ELISA IgG and IgM in patients With Brucella Bacteremia. Diag Microbiol And Infect Dis, 2002,44:129-132.
110. Şenler B, Aytaç N: Doğankent Sağlık Ocağı Bölgesinde Yaşayan 20 Yaş Üzeri Erişkinlerde Bruselloz Prevalansı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 2001:54(1):23-30.
111. Akgün S, Egemen A, Erçelen Ö, Üner S: Ankara Sincan Sağlık Ocağı bölgesinde brusellozis Prevalansı. Doktor Dergisi, 1994,2(5-6):325-327.
112. Ünsal A, Metintaş S, Dinçer KS, Ünlüoğlu İ, Işıklı B: Eskişehir İli Kırsal Alanında

- Bruselloz Yaygınlığı. Sağlık ve Sosyal Yardım Vakfı Dergisi, 1996,1:5-12.
113. Golem SB. Memleketimizde İnsan ve Evcil Hayvanlarda Brucella Bakımından Serolojik Araştırma. Türk Hıfzısıhha Tecr. Biol. Mecmuası., 1943:1,105,1114.
114. Fazlı ŞA, Afganistan'da Brucella yönünden Serolojik bir Araştırma. Mikrobiyoloji Bülteni,1970,12(4): 17-19.
115. Young EJ. An overview of human brucellosis. Clin Infect Dis 1995; 21: 283
116. Elberg SS, A Guide to the Diagnosis, treatment and prevention of Human Brusellozis, WHO Documents, VHP/81.31, Rev 1, 1981.
117. Baykam N, Esener H, Ergönül Ö, Eren Ş, Çelikbaş A.(et all). In vitro Antimicrobial susceptibility of Brucella species. International Journal of Antimicrobial Agents 2004: 23:405-407.
118. Hagan W: The animal reservoirs of brucellosis, *Cornell Veterinarian* 1973; 26: 14
119. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K ve ark. Complication of Brucellosis in Different Age Groups: A Study of 283 Cases inSoutheastern Anatolia of Turkey. Yonsei Medical Journal 2003; 44(1): 33-34.
120. Durmuş R, Kaya İ, Kamaş A. Türkiye cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı. 2004:77-78.
121. Yarkın F, HazmaÇelebi H, Akın E, Köksal F, Nikkhou E: Karataş Bölgesinde Farklı Risk Gruplarında Brucella Antikor Seviyelerinin Araştırılması. Çukurova üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Nisan 1991,16(2):290-295
123. Sırmatel F. Brusellozis. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. 15-19 Ekim 2001, Adana, Kongre Kitabı; 33-35.
124. Anonim. Brucellosis. T.C.Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Erişim: <http://www.tarim.gov.tr>
125. Intracellular Bacterial Pathogens. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds). Basic and Clinical Immunology. 8 th edition. Appleton and lange Co., Connecticut, 1994; 633-5.
126. Göktaş P: Brusellozda serolojik yanıtın seyri. Türk mikrobiyol Cem Derg 20:189-194, 1991.
127. OIE Manuel: *Caprine and Ovine Brucellosis (excluding Brucella ovis infection)*, Chapter 3. 3. 2 (1996).
128. Koşar A, Aygündüz M, yaylı G. İkiyüzseksen bruselloz olgusunda farklı iki

tedavinin karşılaştırılması. İnfeksiyon dergisi 2001; 15 (4): 433- 437.

129. Ceylan E, Irmak H, Buzğan T, ve ark. Van iline bağlı bazı köylerde insan ve hayvan populasyonunda Bruselloz seroprevalansı. Van Tıp Dergisi. 2003; 10(1):1-5.