T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ISPARTA İLİ ve YÖRESİNDE BRUSELLOZ ŞÜPHESİ İLE İNCELENEN HASTALARIN RETROSPEKTİF ANALİZİ ve SEROLOJİK TESTLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Orhan AKPINAR

Danışman
Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ

Doktora Tezi

Mayıs 2012
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ISPARTA İLİ ve YÖRESİNDE BRUSELLOZ ŞÜPHESİ İLE İNCELENEN HASTALARIN RETROSPEKTİF ANALİZİ ve SEROLOJİK TESTLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Orhan AKPINAR

Danışman
Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ

Doktora Tezi

Mayıs 2012
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Orhan AKPINAR

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Isparta İli ve Yöresinde Bruselloz Şüphesi ile İncelenen Hastaların Retrospektif Analizi ve Serolojik Testlerin Karşılaştırılması" adlı **Doktora** Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Orhan AKPINAR

Danışman
Prof.Dr.Hüseyin KILIÇ

Anabilim Dalı Başkanı
Prof.Dr.Nedret KOÇ

Prof.Dr.Hüseyin KILIÇ danışmanlığında **Orhan AKPINAR** tarafından hazırlanan **"Isparta İli ve Yöresinde Bruselloz Şüphesi ile İncelenen Hastaların Retrospektif Analizi ve Serolojik Testlerin Karşılaştırılması"** konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Mikrobiyoloji** Anabilim Dalı'nda **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

17/05/ 2012

JÜRİ **İmza**

Danışman : Prof.Dr.Hüseyin KILIÇ (Mikrobiyoloji AD)

Üye : Prof.Dr.A.Nedret KOÇ (Mikrobiyoloji AD)

Üye : Prof.Dr.İdris ŞAHİN (Düzce Ün.Tıp Fak.Mikrobiyoloji AD)

Üye : Prof.Dr.Selma GÖKAHMETOĞLU (Mikrobiyoloji AD)

Üye : Prof.Dr.Süleyman YAZAR (Parazitoloji AD)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../..../.....

Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeme katkıda bulunan danışman hocam Sayın Pof.Dr.Hüseyin KILIÇ'a, değerli katkılarından dolayı Bölüm Başkanı Sayın Prof.Dr.Nedret KOÇ'a SDÜ, IDH, EKKH, YDH, IDÇHH Laboratuar çalışanlarına, çalışmalarım süresince birçok fedakarlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan eşim ve kızlarıma, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven verdikleri destek için için aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

Orhan AKPINAR

Kayseri, Nisan, 2012

ISPARTA İLİ ve YÖRESİNDE BRUSELLOZ ŞÜPHESİ İLE İNCELENEN HASTALARIN RETROSPEKTİF ANALİZİ ve SEROLOJİK TESTLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Orhan AKPINAR
Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi, Mayıs 2012
Danışman: Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ

ÖZET

Bruselloz, dünyanın birçok ülkesinde ve Türkiye'de yaygın olarak görülen, ciddi konomik kayıplara neden olan ve pek çok ülke için önemli bir halk sağlığı sorunudur.

Araştırmamızda retrospektif olarak 24343 hasta dosyası incelendi. RB(+) ve SAT1/160 ve üzeri pozitif olan 382 hasta nın yaş, cinsiyet, meslek, klinik bulgu ve laboratuar bulguları araştırıldı. Hastalık heriki cinste de eşit oranlarda görüldü. en fazla vaka 25–30 yaşında görülmekle beraber 15 ve 35 yaş grubu aralığı vakalarımızın % 59 unu oluşturmaktadır. Seropozitif kişilerde en sık saptanan yakınmalar ateş (% 93), halsizlik (% 90), kas ağrısı (% 80), olarak bulundu. Hematolojik ve biyokimyasal parametreler incelendiğinde; AST >40 İU/lt % 47, ALT >35İU %41, ESR >20 mm/saat % 63, CRP >8 mg/dl % 85 olarak bulundu. Erkeklerin % 11 inde kadınların % 42 sinde anemi tespit edildi.

RBT (+) ve SAT 1/160 ve üzeri seropozitif olan 87 serum örneğinde ELISA yöntemi ile *Brucella* Ig G ve *Brucella* IgM çalışılarak testler arasında karşılaştırma yapıldı. Vakaların % 82 ünde IgG pozitif çıkarken, % 63 ünde Ig M pozitif çıkmıştır. Vakaların %4.5 inde *Brucella* Ig G ve M negatif çıkmıştır. IgM seviyesi ile 1/160, 1/320, 1/640 ve 1/1280 STA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($p < 0.005$). IgG ise 1/640 ve 1/1280'de anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak, serolojik testler birbirleri ile uyumlu bulundu.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, Rose Bengal Testi, Serum Aglutinasyon Testi, ELISA Testi

THE RETROSPECTIVE ANALYSIS OF PATIENTS WITH BRUCELLOSIS DOUBT IN ISPARTA AND ITS REGION AND THE COMPARISON OF SEROLOGIC TESTS

Orhan AKPINAR

Erciyes University, Institute Of Health Sciences

Department Of Microbiology,

Phd Thesis, May, 2012

Supervisor: Prof.Dr. Hüseyin KILIÇ

ABSTRACT

Brusellozis is important public health problem that causes serious economic loss and seen all over the world as well as in Turkey.

24343 patient files examined retrospectively. The laboratory, clinic, age, sexuality, occupation, symptoms of 382 patients with RB (+) and SAT 1/160 and over is positive were investigated. Both sexes were equal proportions of the disease. The most cases were in 25-30 years, but the ages of 15 and 35 interval was comprising 59 percent of our all cases. The most detected complaints of seropositive people were, high fever (% 93), weakness (% 90), muscular pain (% 80). When the hematologic and biochemical parameters researched, AST >40 İU/lt % 47, ALT >35İU %41, ESR >20 mm/hour % 63, CRP >8 mg/dl % 85 was found. Anemia detected % 11 for men and % 42 for women.

Brucella Ig G and *Brucella* IgM were investigated by ELISA method in 87 serum samples that were found RBT (+) and SAT 1/160 and above . Then a comparison performed between the tests. While the IgG was positive in 82 % of cases, Ig M was 63 % positive. *Brucella* Ig G and IgM was negative in 4,5 % of the cases. The level of IgM and 1/160, 1/320, 1/640 ve 1/1280 STA levels were found significant. ($p < 0.005$). The IgG titers were found significant with the levels of STA 1/640 ve 1/1280.

As a result, serological tests were compatible with each other.

Keywords: Brucellosis, Rose Bengal test, serum agglutination test, ELISA Test

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İÇ KAPAK i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI iii
KABUL VE ONAY SAYFASI iv
TEŞEKKÜR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
İÇİNDEKİLER viii
KISALTMALAR xi
TABLOLAR LİSTESİ xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ 1
2.GENEL BİLGİLER 3
2.1.TARİHÇE 3
2.2.SINIFLANDIRMA 4
2.3.MORFOLOJİ VE KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ 5
2.4. BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ 6
2.5. DİRENÇ 7
2.6. ANTİJENİK YAPI 8
2.7. VİRÜLANS VE PATOJENİTE 9
2.8. EPİDEMİYOLOJİ 10
2.9. HASTALIĞIN BULAŞMA YOLLARI 11
2.9.1. İnsandan İnsana Bulaş 11
2.9.2 Kontamine Çevreden Bulaş 11
2.9.3. Mesleki Bulaş 11
2.9.4. Gıdalarla Bulaş 12
2.10. DÜNYADA BRUSELLOZ 13
2.11. TÜRKİYE'DE BRUSELLOZ 15
2.12. KLİNİK SEMPTOMLAR 18
2.13. KOMPLİKASYONLAR 19
2.13.1. Gastrointestinal Sistem Tutulumu 19
2.13.2. Hepatobiliyer Sistem Tutulumu 19
2.13.3. Osteoartiküler Sistem Tutulumu 19
2.13.4. Nörolojik Sistem Tutulumu 19
2.13.5. Kardiyovasküler Sistem Tutulumu 20
2.13.6. Pulmoner Sistem Tutulumu 20

Sayfa No

2.13.7. Genitoüriner Sistem Tutulumu....20
2.13.8. Hematopoetik Sistem Tutulumu....20
2.13.9. Kutanöz Sistem Tutulumu....20
2.13.10. Göz ve Kulak Tutulumu....21
2.14. LABORTUVAR TANI....21
2.14.1. Direkt Tanı....21
2.14.2. Direkt Etyolojik Tanı....22
2.14.2.1. Örneklerin Direkt İncelenmesi....22
2.14.2.2. Kültür....22
2.14.2.3. Moleküler Yöntemler....24
2.14.3. İndirekt Tanı....24
2.14.3.1. Hızlı Aglütünasyon Testleri....24
2.14.3.2. Rose Bengal....24
2.14.3.3. Lam Aglütinasyon Testi....25
2.14.3.4. Mikroaglütinasyon Testi....25
2.14.3.5. Kart Test....25
2.14.3.6. Tüp Aglütinasyon Testleri....25
2.14.3.7. Serum Tüp Aglütinasyon Testi....25
2.14.3.8. 2–Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) ve 2–Mercapto Ethanol'lü Aglütinasyon Testi....26
2.14.3.9. Coombs Testi....27
2.14.3.10. ELISA....27
2.14.3.11. Kompleman Fiksasyon Testi....28
2.14.3.12. Brucella Capt....28
2.14.3.13. Brucella Dipsitick Test....28
2.14.3.14. Floresan Polarizasyon Deneyi....28
2.14.3.15. İmmünfloresan Test....29
2.14.3.16. İndirekt Hemaglütinasyon Testi....29
2.14.3.17. Radyo–İmmün Assay....29
2.14.3.18. Deri Testleri....29
2.14.3.19. Ring Testi....30
2.14.3.20. Hayvan Deneyi....30
2.15. TİPLENDİRME....31
2.15.1. Tür İdentifikasyonu Faj Tiplemesi....31
2.15.1.1. Referans Laboratuarlarında Biyovar ve Biyotiplerin Tayini....32
2.15.1.2. H_2s Oluşumları....32
2.15.1.3. Üreme İçin CO_2 Gereksinimleri....32
2.15.1.4. Üreaz Aktivitesi....33

Sayfa No

2.15.1.5. Lam Aglütinasyonu.....33
2.15.1.6. Tiyonin ve Bazik Fuksin İçeren Agarlarda Üreme.....33
2.16. TEDAVİ.....34
2.17. KORUNMA VE KONTROL.....36
2.17.1.Meslek Gruplarında Hijyenik Önlemlerin Alınması:.....36
2.17.2. Gıda Kaynaklı Bulaşın Önlenmesi.....37
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....38
3.1.ARAŞTIRMANIN YAPILDIĞI YER VE ÖZELLİKLERİ.....38
3.1.1. Örnrk seçimi ve Uygulama.....40
3.1.2.Antijenler.....41
3.1.2.1.Rose Bengal Antijeni.....41
3.1.2.2.Wright Antijeni.....41
3.1.2.3.ELISA Antijeni.....41
3.1.3.Tampon Sıvılar.....41
3.1.3.1.Fenollu Fizyolojik Tuzlu Su (FTS).....41
3.1.3.2.Tamponlu Yıkama Solüsyonu.....41
3.1.4.Araçlar ve Aygıtlar.....41
3.1.5.Serolojik Testlerin Uygulanması.....42
3.1.5.1.Rose–Bengal Testi.....42
3.1.5.2.Wright Tüp Aglütinasyon Testi.....42
3.1.5.3.ELISA Testi.....44
3.2. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....47
4.BULGULAR.....48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....58
6.KAYNAKLAR.....68
EKLER
ÖZGEÇMİŞ

KISALTMALAR

B. abortus	*Brucella* abortus
B. canis	*Brucella* canis
B. ceteace	*Brucella* ceteace
B. melitensis	*Brucella* melitensis
B. neotomae	*Brucella* neotomae
B. ovis	*Brucella* ovis
B. pinnipediae	*Brucella* pinnipediae
B. suis	*Brucella* suis
Gr	Gram
2–MET	2–Merkaptoetanol Testi
Mg	Miligram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
pH	Power of Hydrogen
PMNL	Polimorfo nukleer lokositler
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
IgA	İmmunglobulin A
IgG	İmmunglobulin G
IgM	İmmunglobulin M
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RES	Retikülo endotelyal sistem
STA	Standart tüp aglütinasyon testi
BOS	Beyin omurilik sıvısı
ELISA	Enzim işaretli immün deney
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
OIE	Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
UNDP	Birleşmiş Milletler Kalkınma Programı
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SPSS	İstatistik proramı (Statistical Packages of Social Sciences)
WAT	Wright Aglütinasyon Testi
LPS	Lipopolisakkarit
OMP	Dış membran proteinleri
H_2S	Hidrojensülfür
TMP–SMZ	Trimetoprim–Sulfometoksazol

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Brucella Eski ve Yeni Türleri ve Konak Hayvanlar 5
Tablo 2.2. B. Abortus ve B. Melitensis'in Isı ve Ortamda Canlı Kalma Süreleri 7
Tablo 2.3. Brusellozda Risk Grupları 12
Tablo 2.4. Dünyada Ülkelere Göre Bruselloz 14
Tablo 2.5. 2006 Yılında İllere Göre İnsanlarda Bruselloz 16
Tablo 2.6. Yıllara Göre Vaka ve Ölüm Sayıları (*İlk 6 Ay) 17
Tablo 2.7. Testlerin Karşılaştırılması 30
Tablo 2.8. *Brucella* Türlerinin Biyotiplerinin Ayırıcı Karekterleri 34
Tablo 2.9. Dünya Sağlık Örgütü Tarafından Komplike Olmayan Bruselloz Tedavisinde Önerilen Tedavi Seçenekleri 35
Tablo 3.1. Isparta İlinin İlçeleri ve Nüfusları 39
Tablo 3.2. Testlerin Yorumu İçin Tablo 47
Tablo 4.1. Olguların Kliniklere Göre Dağılımı 49
Tablo 4.2. Olguların Rose–Bengal ve SAT Sonuçlarına Göre Dağılımı 50
Tablo 4.3. Vakaların Meslek Gruplarına Göre Dağılımı 52
Tablo 4.4. Olguların Başvuru Şikayetlerine Göre Dağılımı 53
Tablo 4.5. Olguların Laboratuar Bulgularına Göre Dağılımı 54
Tablo 4.6. Olguların Test Sonuçlarına Göre Dağılımı 55

Şekil 2.1. Dünyada İnsan Brusellozu İnsidansı 13
Şekil 2.2. Avrupa'da Endemik ve Nonendemik Bölgelerle Brusellozis in Eradike Edildiği Bölgeler Görülmektedir 15
Şekil 2.3. Bruselloz Vakalarının Bölgelere Göre Dağılımı 17
Şekil 3.1. Rose Bengal Test Antijeni ve Uygulanması 43
Şekil 3.2. Wright Aglütinasyon Testi Uygulanması 44
Şekil 3.3. ELISA Kitleri (Human Brucellosis Igm, Human Brucellosis Igg) 45
Şekil 3.4. Mikro Elisa Cihazı (Organan Tecnika OT 210) 45
Şekil 3.5. ELISA Kiti Human Brucellosis IgG'nin Test Protokolü Uygulandıktan Soraki Durumu 46
Şekil 3.6. ELISA Kiti Human Brucellosis IgM nin Test Protokolü Uygulandıktan Sonraki Durumu 47

Sayfa No

Şekil 4.1. Olguların Cinsiyete Göre Dağılımı 50
Şekil 4.2. Olguların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı 51
Şekil 4.3. Olguların Aylara Göre Dağılımı 51
Şekil 4.4. Olguların IgG Düzeyine Göre Dağılımı 55
Şekil 4.5. Olguların IgM Düzeyine Göre Dağılımı 56
Şekil 4.6. Olguların SAT ve IgG Oranları 56
Şekil 4.7. Olguların SAT ve IgM Oranları 57

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Zoonotik hastalıklar insan sağlığını ilgilendiren öncelikli sağlık sorunlarından biridir. Tüm dünyada sayıları giderek artan zoonotik hastalıklar grubu içerisinde de Bruselloz, tarihi çok eskilere dayanmasına rağmen hala güncelliğini korumakta, özellikle ekonomisi tarım ve hayvancılığa dayalı ülkelerde büyük kayıplara neden olmaktadır. Dünyada önemli halk sağlığı problemlerinden biri sayılan Brusellozun etkeni olan *Brucella* cinsi bakteriler, fakültatif hücre içi bakterileridir. Bruselloz, ülkemizde genellikle koyun, keçi, inek gibi hayvanların etleri, sütleri, idrar, vücut sıvıları, gebelik materyali, enfekte süt ile hazırlanan bazı süt ürünleri aracılığı ile insanlara bulaşan zoonotik bir hastalıktır (1). Teşhis ve tedavi alanında büyük ilerlemelere rağmen bu hastalık insan ve hayvanlar için sık görülen bir enfeksiyon hastalığı olma özelliğini korumaktadır. *Brucella* enfeksiyonunun insana bulaşması ve dünyanın değişik bölgelerindeki prevalansı yerel beslenme alışkanlıklarına, sütten peynir, tereyağı, kaymak ve dondurma gibi süt ürünleri elde etme yöntemlerine, bölgedeki yaygın *Brucella* türlerine, iklim koşullarına, kişi ve çevre hijyen standartlarına bağlıdır. Süt ve süt ürünlerinin kontrolündeki güçlükler, hastalığın geniş kitlelere yayılmasına neden olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde tamamen ortadan kaldırılmakla birlikte, ülkemizin de içinde bulunduğu gelişmekte olan ülkelerde halen önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Neden olduğu hastalığın ciddiyeti ve insanlar için uygun aşının yokluğundan dolayı biyoterörizm ajanı olarak kullanılabilmektedir. Mikroorganizmanın

izolasyonundaki güçlüklerden dolayı serolojik yöntemlerden daha fazla yararlanılmaktadır (1,2).Bu çalışmada; Birinci aşama da 2007 Ocak – 2011 Temmuz Ayları arası 4 yıllık, *Brucella* şüphesi ile laboratuara yönlendirilen hastalar retrospektif olarak incelenerek elde edilen verilerden, hangi poliklinikten hangi şikayetle başvurdukları, vakaların aylara göre dağlımı, cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı, meslek gruplarına göre dağılımı, Rose Bengal Testi sonuçları, SAT testi titrasyonları ile hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin dağılımı yapılarak aralarındaki ilişki araştırılarak, diğer Ulusal, Uluslararası ve bölgesel çalışma sonuçları ile karşılaştırmalı analizler yapılması, çalışmamızın ikinci aşamasında ise 2009 yılı temmuz ayında başlayıp 2011 temmuz ayları arasında topladığımız RBT (+) ve SAT 1/160 ve üzeri olan 87 Serum örneğinde ELİSA yöntemi ile *Brucella* IgG ve *Brucella* IgM çalışılarak testler arasında karşılaştırmalı analizler yapılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.TARİHÇE

Zoonotik hastalıkların tarihsel süreci insanların hayvanlarla ilk temasına kadar uzanır. Hipokrat M. Ö. 450 yılında Bruselloza benzer bir hastalığı tarif etmiştir. Brusella enfeksiyonları için günümüze değin değişik isimler kullanılmıştır. 'Malta Humması', 'Akdeniz Humması' ya da 'Gibraltar Humması' "Dalgalı Humma / Ondülan Ateş" "Koyun hastalığı" veya "Mal hastalığı" gibi isimlerle anılır. Brucellozun tarifi ilk kez 1860 yılında Marston tarafından yapılmıştır. Sir David Bruce 1887 yılında Malta adasında etken mikroorganizmayı izole etmiş ve *Micrococcus melitensis* olarak isimlendirmiştir. Bang, 1895'de sığırlarda düşük etkeni olan *B. abortus*'u, Wright, 1897 yılında bruselloza yakalanan hastaların ve aşılı hayvanların kanında *B. melitensis*'e karşı aglutininlerin varlığını göstermiş, ayrıca hastalığın tanısı için günümüzde kullanılmakta olan, serum aglütinasyon testini ilk kez gerçekleştirmiştir. 1906 Zammitt infeksiyonun koyun ve keçilerde bulunduğunu, insanlara bu yoldan bulaştığını saptamıştır. Traum, 1914'de domuzlardan *B. suis*'i izole etmiştir. Buddle tarafından1956 yılında Avustralya ve Yeni Zelanda'da epididimitli koçlardan *Brucella ovis*, Stoenner ve Lackman tarafından1957 yılında ABD'nin Utah eyaletinde *Brucella neotomae*, Rusya ve Alaska'da Ren geyiğinden *Brucella rangiferi* 'nin izole edilmesi takip etmiştir. *B. canis* ise 1968 yılında Carmichael ve Bruner tarafından av köpeklerinde izole edilmiştir. (2).Orta Avrupa da tarla farelerinden ve kırmızı tilkilerden Scholz ve ark. Tarafından

2008 yılında *B. microti* izole edilmiştir. Son yıllarda Amerikalı bilim adamları deniz memelilerinden iki yeni *Brucella* türü izole etmişler ve *B. pinnipediae ve B. ceteace* olarak adlandırmışlardır (3).Ülkemizde ilk insan bruselloz olgusu 1915 yılında Dr.Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi edilen bir askerde tesbit edilmiştir. Koyunlarda *B. melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında Bandırma Merinos çiftliğinde saptanmıştır. (4).

2.2.SINIFLANDIRMA

Filogenetik olarak *Brucella* spp, serbest olarak toprakta yaşayan organizmalar ile ortak orjine sahip olup, 16S rRNA sekansına ve dış membran proteinlerinin analizine dayanarak, *Proteobacteria* sınıfının α2 altsınıfına dahil edilmiştir. Evrimsel bağlara uyan alt türler ile *Brucella* cinsi bakterilerin monospesifik bir cins olduğunu düşündürmüştür (5, 6). Yapılan biyoteknolojik çalışmalarda *Brucella* cinsinin *Proteobacteria* sınıfının bir üyesi olduğu ve *Agrobacterium–Rhizobium* kompleksindeki bitki patojenleri ile aynı atadan geldikleri saptanmıştır (7). *Brucella* türleri son yıllarda yapılan çalışmalar neticesinde *Proteobacteria* aleminde, *Rhodospirilla* sınıfında, *Rhizobiales* takımında, *Brucellaceae* ailesinde yer aldığı düşünülmektedir. *Brucella* türleri arasında yapılan DNA hibridizasyon ve homoloji deneylerinde tüm türlerin aynı tür sayılabilecek kadar yakın benzerlikler gösterdiği bulunmuştur. Ancak gösterdikleri biyokimyasal ve konak ayrılıkları nedeniyle ayrı türler olarak kabul edilmeleri uygun görülmüştür. *Brucella* cinsi icinde; *B. melitensis, B. abortus, B. suis, B. ovis, B. canis ve B. neotomae* türleri bulunmaktadır. Her bir *Brucella* türünün biyokimyasal ve fizyolojik özellikleriyle birbirinden ayrılabilen çeşitli biyotipleri vardır. *B. melitensis*'te üç, *B. abortus*'ta dokuz ve *B. suis*'te dört biovar ayırt edilmiştir (8,9). İnsanlarda hastalık etkeni olan *Brucella* bakterilerinden *B. melitensis* esas olarak koyun ve keçilerde *B. abortus* daha cok sığır ve mandalarda, *B. suis* domuzlarda bulunur. Köpeklerde bulunan *B. canis*'in insanlarda hastalık yapması çok nadirdir (5). *B. neotoma* ratlarda infeksiyon yapar. *B. ovis* koyunlardan izole edilmiştir. *B. neotomae ve B. ovis* insanda patojen değildir ve birer biyotipi mevcuttur . İnsanlar üç klasik *Brucella* türü ile infekte olabilirse de dünya genelinde olguların çoğundan en invaziv ve patojenik tür olan *B. melitensis* sorumludur. Patojenite yönünden *B. melitensis'i B. suis* izlemektedir. *B. abortus* ise insanlarda *B. melitensis ve B. suis*'e göre daha hafif seyirli infeksiyonlar oluşturmaktadır (10).

Tablo 2.1. Brucella Eski ve Yeni Türleri ve Konak Hayvanlar (9)

Tür	Konak Hayvan	İnsanlarda hastalık
Eski türler		
B. melitensis	Keçi, koyun, deve	(+) En yaygın
B. abortus	Sığır, deve, buffalo, geyik	(+) 2. yaygın
B. suis	Domuz , yabani tavşan , ren geyiği, kemirgen	(+)
B. canis	Köpekgiller	(+)
B. ovis	Koyun	(-)
B. neotomae	Kemirgenler	(-)
Yeni türler		
B. ceti	Balina, yunus balığı, domuz balığı, fok	Nörobruselloz, spondilit ve laboratuvar kaynaklı
B. pinnipedialis	Ayı balığı	(+)
B. microti	Kırmızı tilki, tarla faresi	(-)
B. inopinata	Bilinmiyor	Prostetik meme implant infeksiyonu

İnsanlarda *B. neotomae, B. ovis ve B. suis* biyotip 2'ye bağlı hiçbir infeksiyon bildirilmemiştir. Keza insanlarda *B. canis ve B. abortus* biyotip 5 ile çok nadiren infekte olmaktadırlar (10,11). Son yıllarda balina, fok, yunus ve su samuru gibi deniz memelilerinden izole edilen etkenler önceleri *Brucella* maris olarak isimlendirilmiş ancak son yapılan araştırmalarda bu hayvanlardan izole edilen *Brucella* izolatlarının OMP–2a ve OMP–2b genlerindeki DNA polimorfizmine göre kara memelilerinden izole edilen *Brucella* türlerinden ayrıldıkları ortaya konulmuştur. Deniz memelilerinde en azından iki yeni tür olarak *Brucella pinnipediae* ve *Brucella ceti*'nin bulunduğu ileri sürülmüştür (9) (Tablo 2.1).

2.3.MORFOLOJİ VE KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Brucella cinsinde bulunan bakteriler 0.5–0.7 µm eninde, 0.6–1.5 µm boyunda, gram negatif, hareketsiz, sporsuz, küçük koko–basil veya kısa çomak şeklindedir. Küçük olduklarından, moleküler hareket nedeniyle, yerlerinde titreşirler (Braunien hareket) tek olarak, daha az sıklıkla ikili kısa zincirler veya küçük kümeler halinde bulunurlar. Sporsuz ve hareketsizdirler. S şeklinde ve mukoid koloni oluşturan suşlarda kapsül gösterilebilir. Pasajlarda ve R koloni şekillerinde, bu kapsül kaybolur. Smooth koloniler S tipinde, yuvarlak, düzgün kenarlı, kabarık, açık sarı ve ışık altında parlayan bir yüzeye sahiptir. Yaklaşık 2–4 gün içerisinde ürerler. Üreyenlerden yapılan pasajlar sonunda R formunda rough koloniler oluşur. Rough koloniler granüllü, mat ve daha büyük çaptadır

Brucella bakterileri aerop ve mikroaerofil bakteriler olup respiratuvar tipte metabolizmaları vardır. *Brucella* bakterileri organizmadan yeni ayrıldıklarında besiyerlerinde yavaş ürerler. İlk izolasyonları için uzun inkübasyon periyodu gerekebilir. Üremeleri aerobik ortamda gerçekleşir. Ancak *B. abortus* ve *B. ovis* ilk üremelerinde % 5–10 CO_2'li ortama ihtiyaç duyarlar (12). Bundan dolayı inkübasyon için iki besiyeri hazırlanmakta ve bu besiyerlerinden biri normal atmosfer koşulu bulunan etüve, diğer besiyeri ise % 5–10 CO_2'lu ortama koyularak inkübe edilmektedirler (1,13). Daha önceleri üremeleri için katı ve sıvı ortamları bir arada içeren bifazik (Castenada) zengin besiyerlerinde uzun inkübasyon süreleri sonunda katı besiyerlerine pasajlara gereksinim var iken, günümüzde otomatize sistemlerle 5 günlük inkübasyondan sonra cins düzeyinde tanı konulabilmektedir.

Genel kullanım besiyerlerinde üremede güçlük gösterirler. Kökenlerin çoğu üreyebilmek için çeşitli aminoasitler, tiamin, nikotinamid ve magnezyum iyonlarından zengin kompleks besiyerlerine gereksinim duyarlar. Besiyerlerine kan ve serum eklenmesi üremeyi olumlu yönde etkiler. Besiyerleri olarak; Brain–Heart İnfüzyon yarıkatı besiyeri, karaciğer infüzyon agar, trypticase soya agarı, *Brucella* buyyonu ve agarı gibi besiyerleri kullanılabilir. Bu tür zenginleştirilmiş besiyerlerinde birkaç gün ya da haftada yavaş olarak üremektedirler (14).

2.4. BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Katalaz ve çoğu kez oksidaz olumludurlar. Karbonhidratlardan asit ya da gaz yapmamakla beraber, glikozu az miktarda kullanırlar. Nitratları nitritlere indirgerler. Üreaz aktiviteleri değişken olup *B. suis* 15–20 dakikada, *B. abortus* 2 saatten sonra üreaz etkinliği göstererek besiyerinin rengini kızartırlar. *B. melitensis* saatler sonra veya olumsuz sonuç verir. Sitrat deneyi ve ONPG (Orthonitrophenyl–beta–D–galactopyranoside) negatiftir. İndol ve asetil metil karbinol (Voges Praskauer) oluşturmazlar. Metil kırmızısı testi olumsuzdur. Organik kükürtlü bileşikleri parçalama sonucunda *Brucella*'ların her üç türü de Hidrojen Sülfür (H_2S) oluştururlar. Ancak bunlar arasında *B. suis* en uzun süre (3–5 gün) ve en fazla miktarda, *B. abortus* orta süre (2 gün) ve az miktarda; *B. melitensis* ise en az süre (1 gün kadar) ve en az miktarda H_2S yapar (15).

2.5. DİRENÇ

Brucella grubu mikroorganizmalar genellikle konakçı hayvan dışında çoğalamazlar. Fakat ortamın ısı, nem ve asitlik değerlerine bağlı olarak değişik sürelerde canlılıklarını sürdürürler. *Brucella* mikroorganizmaları direkt güneş ışığı, dezenfektanlar, pastörizasyon ve kuru şartlara duyarlıdır. Etkenler pastörizasyon ısında 10–15 dakikada ölürler. Pastörizasyon esnasında ölmelerinin epidemiyolojik değeri vardır. Güneş görmeyen topraklarda 50–70 gün, suda 15 gün, buzlukta 3–5 ay, sütte birkaç gün, dondurmada 1 ay canlı kalabilirler (16). (Tablo 2.2) .

Tablo 2.2. B. Abortus ve B. Melitensis'in Isı ve Ortamda Canlı Kalma Süreleri (27)

Ortam	**Isı veya ortam**	**Canlı kalma süresi**
B. abortus		
Katı yüzeyler	< 31°C, güneş ışığında	4–5 saat
Çeşme suyu	–4°C	114 gün
Göl suyu	37°C, pH 7.5	< 1 gün
Göl suyu	8°C, pH6.5	> 57 gün
Kuru toprak	«20°C	<4
Nemli toprak	< 10°C	66 gün
Hayvan gübresi	Yaz mevsimi	1 gün
Hayvan gübresi	Kış mevsimi	53 gün
Sulu hayvan çıkartıları	Açık toplama tankı	7 hafta
Sulu hayvan çıkartıları	12°C tank	> 8 ay
B. melitensis		
Buyyon	pH > 5.5	> 4 hafta
Buyyon	pH5	< 3 hafta
Buyyon	pH4	1 gün
Buyyon	pH<4	< 1 gün
Yumuşak peynir	37°C	48–72 saat
Yoğurt	37°C	48–72 saat
Süt	37°C	7–24 saat

2.6. ANTİJENİK YAPI

Gram negatif bakterilerde olduğu gibi, *Brucella* cinsi mikroorganizmaların yüzey katmanları en içte stoplazma membranı, bunu çevreleyen lipopolisakkarid (LPS), DMP (dış membran proteini) ve fosfolipid içeren hücre duvarı şeklindedir.*Brucella* bakterileri; ultrasonikasyon, fiziksel yöntemler ve dondurup çözme yöntemleriyle parçalanırsa konvansiyonel immün elektroforezde hiperimmün serumlara karşı eriyebilen özellikte 20 antijen elde edilir. Başlıca duvar antijeni endotoksik lipopolisakkarittir (LPS). Düz lipopolisakkaritler (dLPS) yapısal ve serolojik olarak farklı üç bölgeyi kapsayan kompleks moleküllerdir. Bu bölgeler, lipid A adı verilen glikolipid kısım, kor polisakkariti ve O polisakkariti (OPS) zinciridir. Birçok *Brucella* antijeninin tüm suşlarda ortak olarak bulunduğu, ancak somatik LPS antijenlerinin smooth ve non smooth suşlar arasında önemli farklılıklar gösterdiği, dış membran proteinlerinin (OMP) ise, farklı türlerde değişik yapılarda olduğu belirlenmiştir. *Brucella* suşlarında bulunan en önemli antijenler; S ve R lipopolisakkarit kompleksleri, nativ hapten polisakkarit ve B polisakkarit ve en az 20 kadar protein ve glikoprotein antijenlerini içermektedir. LPS antijenleri hücre yüzeyinde, protein antijenleri hücre içinde yer alırlar (17, 18). S kolonilerinin R koloni haline geçmesi durumunda antijenik yapılarında değişiklikler gözlenir. R kolonileri antijenik bir yapıda değildir. Brucelloz geçiren organizmaların yapısında çok sayıda antikor çeşitleri gözlenmiştir. Ayrıca Coombs testle açığa çıkarılabilen bloke edici antikorlarda mevcuttur (17, 19). "Smooth" *Brucella* LPS (S–LPS) yapısı, *Enterobacteriaceae* ailesindeki mikroorganizmaların LPS yapılarına benzer şekilde O–polisakkarit, kor bölgesi ve lipid A'dan oluşmuştur. "Smooth" *Brucella* suşları, LPS tabakasında A ve M olarak adlandırılan epitoplar taşımaktadır. LPS'nin sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezis (SDS–PAGE) analizi, A ve M epitoplarına karşı monoklonal antikor kullanımı ve ayrıca sentetik *Brucella* oligosakkaritleri kullanılarak yapılan inhibisyon çalışmalarının sonucunda A ve M antijenlerinin lineer O zinciri üzerinde bulunan 1,2 ve 1,3 bağlantılarının oranlarına göre birbirinden ayrıldığı ortaya konmuştur (20).

Brucella cinsi bakteri antijenlerinin Yersinia enterocolitica, Franciella tularensis ve Vibrio cholera, Stenotrophomonas maltophilia gibi bakteriler ile çapraz reaksiyon verdiği saptanmıştır (21, 22).

2.7. VİRÜLANS VE PATOJENİTE

Virulan *Brucella* türleri, hem fagositik hem de fagositik olmayan hücreleri enfekte eder. Bakterinin fagositoz özelliği olmayan hücrelere yerleşme mekanizması açıklanamamış ve daha çok kaba endoplazmik retikulum içinde lokalize oldukları görülmüştür. dLPS'e sahip *Brucella* bakterisi, dLPS'e sahip olmayana göre polimorfonükleer (PMNL) ve mononükleer lokositler içinde daha kolay canlılığını sürdürür. Bakterinin hücre içinde canlılığını sürdürmesinde, LPS yapısında "poli N–formil perosamin O" zinciri, "Cu–Zn süperoksid dismutaz eritruloz fosfat dehidrogenaz" içermesi ve stresle indüklenebilir proteinleri salgılamasının rolü olabileceği düşünülmektedir. En önemli virulans faktörü ise, bakterinin adenin ve guanin monofosfat (AMP, GMP) üreterek fagolizozom oluşumunu, miyeloperoksidaz aktivasyonu ve degranülasyonunu, tümör nekroz faktör (TNF) üretimini inhibe etmesidir (23). *Brucella* ağız mukozasından girerse lenf yolları ile boğaz lenf yollarında, barsak mukozasından geçerse mezenter lenf bezlerinde, konjunktiva ve deriden girerse bölgesel lenf nodüllerinde veya solunum yolundan inhalasyonla alınırlarsa mediastenik lenflerde yerleşir. Sonra Ductus Thorasicus yolu ile kana karışarak bakteriyemi meydana getirirler. Normal insan serumu bazı *Brucella* türlerine bakterisid etki gösterir ve polimorf nüveli lökositler tarafından fagosite olmaları için opsonize eder. *B. melitensis* serumun bakterisid etkisine dirençlidir ve bu etkenin diğer türlere göre daha virülan olmasını açıklar. Bakteriler lenf bezleri, karaciğer, kemik iliği ve diğer retiküloendotelyal sistemde (mononükleer fagositer sistem). intrasellüler olarak çoğalırlar. Burada hızla ölebildikleri gibi çoğalarak fagositik hücreyi harap da edebilirler (24). Çeşitli yollardan alınıp organizmaya girdikten sonra fagosite edilen, ancak PMNL'ler tarafından öldürülmemiş olan bakteriler hızla bölgesel lenf bezlerine ilerler ve burada üredikten sonra lenf yolu ile genel dolaşıma karışır. Gelişen bakteriyemi sonucunda tüm vücuda yayılır. Bakterinin daha çok retiküloendotelyal sistem (RES) organlarına lokalize olma eğilimi vardır. Özellikle dalak, karaciğer, kemik iliği ve lenf bezleri olmak üzere, organ fagositlerince tutulduktan sonra bu hücreler içinde öldürülmemiş olan bakteriler hücre içinde üremelerini sürdürürler

2.8. EPİDEMİYOLOJİ

Bruselloz, esas olarak hayvanların hastalığıdır. Hastalık çoğunlukla hayvanlardan insanlara, kontamine süt ve süt ürünleri ile bulaşır. Hasta hayvanlarla temas ve diğer hayvansal ürünlerle de bulaşabilir. Pek çok hayvan türünde hastalık gelişebilir. İnsanlardaki hastalık sıklıkla hayvanlardaki özellikle çiftlik hayvanlarındaki hastalık ile ilişkilidir. Bruselloz epidemiyolojisinde yabani hayvanların rolü tartışmalıdır. *Brucella* türlerinden; *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis ve* nadiren de *B. canis* insanlarda hastalığa neden olur. Bu türler içerisinde en virülan olanı *B. melitensis*'dir. *B. canis* ise virülansı en düşük etkendir. Diğer *Brucella* türlerinin insanlarda hastalık yapması çok nadirdir. Hastalık hayvanlarda süt verimini azaltmanın yanı sıra, düşükler nedeni ile de ekonomik kayba neden olur. *Brucella*'nın hayvanlarda, üreme organlarında lokalizasyonu düşük ve sterilite ile karşımıza çıkmasının nedenidir. Gebe hayvanların kotiledonlarında yerleşen bakterinin meydana getirdiği enfeksiyon, fetüsün yeterli beslenmesini engelleyerek, anne karnında ölüme ve düşüğe neden olur (25). Hayvanların fetüs zarlarında bakteri için bir gelişme faktörü olan eritriol yapısında bir madde saptanmış olup, gebe hayvanların Bruselloz'a duyarlı olmaları bu şekilde açıklanmaktadır (25,26). İnsan plasentasında ise eritriol bulunmaması nedeni ile insanlarda bu enfeksiyonda düşüğe rastlanmaz. *B. abortus*, esas olarak sığırlarda bulunur, ancak deve, Tibet öküzleri gibi türlerin de lokal önemi olabilir (27). *B. melitensis* bulaşında en belirgin kaynak keçi ve koyunlardır. Çünkü özellikle keçiler 6–7 ay bakteriyi çevreye bulaştırmaktadır. Koyunlarda bazen *B. abortus ve B. suis* enfeksiyona neden olabilir. *B. suis* biyovar 1–3, vahşi ve evcil domuzlarda ortaya çıkar ve mezbaha ilişkili insan hastalığına neden olur. Domuzlarda *B. abortus ve B. melitensis* de hastalık oluşturmaktadır. Nadir olarak bazı Güney Amerika ülkelerinde, *B. suis* biyovar 1 sığırlarda da izlenir, insan 3 enfeksiyonunun diğer bir kaynağını oluşturur *B. canis*, köpeklerde genital enfeksiyonlara neden olur ve insan da nadiren hastalığa sebep olur (25,27).

2.9. HASTALIĞIN BULAŞMA YOLLARI

İnsanlara bulaş; insandan insana bulaş, kontamine çevreden bulaş, meslek hastalığı olarak bulaş ve gıda kaynaklı bulaş başlıkları altında dört grupta toplanabilir.

2.9.1. İnsandan İnsana Bulaş

Bu tür bulaş son derece nadirdir. Çok seyrek cinsel ilişki ile bulaş olabileceği belirtilmektedir. Kan bağışı veya organ bağışı ile *Brucella* enfeksiyonu bulaşma riski vardır. (28,29).

2.9.2. Kontamine Çevreden Bulaş

Yerleşim birimlerinde yaşayan hayvanların, özellikle atık yavruları, plasenta atıkları ve diğer hayvan çıkartıları ile yakın çevre kontamine olur. Kontamine alanlarda oluşan tozun inhalasyonu, kurumuş ve toz haline gelmiş hayvan dışkılarının kontaminasyonu ile teorik olarak inhalasyon brusellozu oluşabilir. Yalnız bu tür bulaşları dökümante etmek pek mümkün görünmemektedir. Kontamine çevre ile doğrudan temas ile de enfeksiyon bulaşabilir. Su kaynakları ve çevre yine yavru atık materyalleri ile kontamine olur. Yağmur suları ile de bu kontaminasyon çevreye yayılır. *Brucella* türleri toz, hayvan gübresi, su, sulak alan, atık yavru, toprak, et ve süt ürünlerinde uzun süre canlılığını korur. Bu maddelerde bakterinin canlı olarak kalabilme süresi; maddenin özelliği, bakteri sayısı, ısısı, pH, güneş ışığı ve diğer mikroorganizmaların bulunmasına bağlıdır (27)

2.9.3. Mesleki Bulaş

Bazı meslek gruplarında *Brucella* enfeksiyonuna yakalanma riski fazladır. Hayvan çiftliklerinde, özellikle sığır, koyun, keçi ve domuz çiftliklerinde çalışanlar, veterinerler, suni dölleme işi ile uğraşanlar enfekte hayvan ile temas olasılığı açısından yüksek risk gruplarıdır. Hayvancılık yapan aile bireyleri, hasta hayvan yavrularına bakan çocuklar, hayvansal gıda üretiminde ve hazırlanmasında çalışanlar (kasaplar, et paketi yapanlar, süt ve süt ürünleri hazırlama işinde çalışanlar), yün ve deri ile uğraşanlar bulaş riski taşıyan gruplardır. Bu enfeksiyon, kontamine materyal ile doğrudan temas, yaralanma sonucu bulaş ya da tozların inhalasyonu ile de bulaşabilir. Bakteri izolasyonu ile uğraşan laboratuarlarda çalışan hekim ve teknisyenler de bulaş açısından özel meslek gruplarıdır.(27) Brusellozda, bilinen risk grupları Tablo 2.3'te özetlenmiştir.

Tablo 2.3. Brusellozda Risk Grupları (27)

Meslek hastalığı • Sığır besicileri ve süt hayvancılığı yapan çiftliklerde çalışanlar • Hayvan bakıcıları • Aile hayvancılığı yapanlar • Çobanlar • Sütçüler • Veterinerler • Mezbaha işçileri • Et paketleme işleminde çalışanlar • Süt ürünleri işletmelerinde çalışanlar • Deri ve yün işleri ile uğraşanlar • Fötal buzağı serumu toplayanlar • Laboratuar çalışanları	Avcılar
	Aile hayvancılığı yapılması durumunda bütün aile bireyleri
	Pastörize olmayan süt ve süt ürünlerini tüketenler
	Brusellozun hiperendemik olduğu bölgeler veya ülkelere seyahat edenler

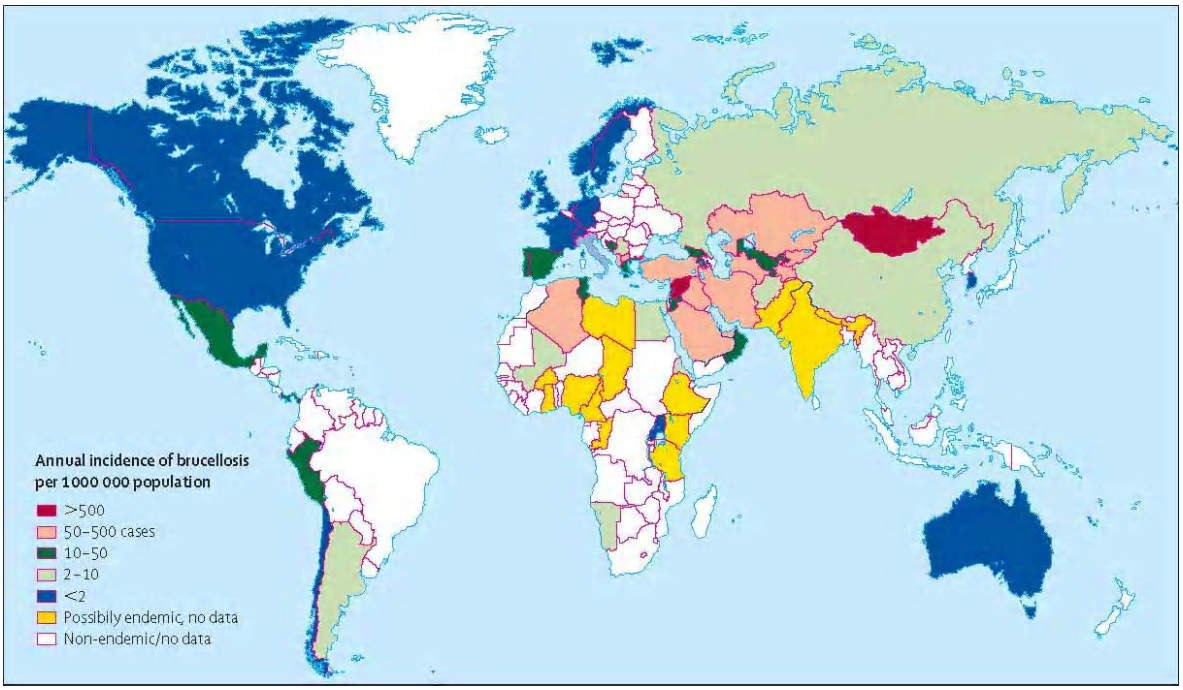
2.9.4. Gıdalarla Bulaş

Kırsal kesimde brusellozun esas bulaş yolu kontamine gıdaların tüketilmesidir. Kaynatılmadan hazırlanan süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi, toplumda enfeksiyonun en önemli kaynağıdır. Hasta hayvanlardan elde edilen sütlerde bol miktarda *Brucella* bakterisi bulunur. Bu kontamine sütlerden hazırlanan, tereyağı, krema, dondurma, taze peynir, enfeksiyonun bulaşında rol oynayan önemli süt ürünleridir. Koyun veya keçi sütlerinde hazırlanan yumuşak peynirlerde, peynirin soğuk koşullarda saklanılması durumunda bakteri canlılığını 6 ay kadar korur. Bu tür peynirler 6 aydan önce tüketilmemelidir. Fermentasyon ile hazırlanan katı peynir, yoğurt ve ekşitilmiş sütte enfeksiyonun bulaşma riski daha azdır. *Brucella* bakterisi, asit ortamda, pH<4' de hızlı ve pH<3.5' te canlılığını çok hızlı kaybeder. Yapılan çalışmalar *Brucella* bakterisinin, tereyağda 142 gün, dondurmada 30 gün, tuzlanmış domuz etinde 3 hafta, %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, %17 tuz içeren salamura peynirde 1 ay canlı kaldığı bildirilmektedir. Et ve et ürünleri ile bulaş riski daha azdır. Hasta hayvanlardan elde edilen kırmızı ette bakteri konsantrasyonu az olmasına rağmen, karaciğer, dalak, böbrek, meme ve testislerde bakteri konsantrasyonu yüksektir. Et ürünlerinin hiçbiri çiğ tüketilmemelidir. Ülkemizde pastörize edilmeden kullanılan süt ve süt ürünleri hastalık açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. HIV ile enfekte veya aklorhidrisi olan

hastalarda, kontamine gıdaların tüketimi, hastalık oluşumu açısından önemli risk oluşturmaktadır. (30,31,32).

2.10. DÜNYADA BRUSELLOZ

Bruselloz, en sık görülen zoonotik hastalıklardan biri olup tüm olgularda doğrudan ya da dolaylı olarak hayvan teması söz konusudur. Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle birlikte hastalığın insidansı ve prevalansı değişmektedir. İnsanlarda Bruselloz sıklığı, o ülkede ya da bölgedeki hayvanlardaki hastalık sıklığı ile paralellik göstermektedir. Akdeniz ülkelerinde insan ve hayvanlarda endemik olan brusellozis, Asya, Afrika ve Latin Amerika'da yaygın bir zoonozdur (33).



Şekil 2.1. Dünyada İnsan Brusellozu İnsidansı (7)

Tablo 2.4. Dünyada Ülkelere Göre Bruselloz (/1000.000) (7)

AVRUPA	
Türkiye	262.2
Makedonya	148
Arnavutluk	63.6
Yunanistan	20.9
ASYA	
Suriye	1603.4
Moğolistan	605.9
Kırgızistan	362.2
Irak	278.4
AFRİKA	
Cezayir	84.3
Tunus	35.4
AMERİKA	
Peru	34.9
Meksika	28.7
Guatemala	15.7

Akdeniz ülkeleri, Arap yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir. Avrupa Birliği'nde; Almanya, Belçika, Danimarka, Finlandiya, Hollanda, İngiltere, İrlanda, İsveç ve Lüksemburg brusellozisten ari ülkelerdir. Fransa'nın 7 bölgesi ile İspanya'nın 2 bölgesi eradike durumdadır. Halen Fransa, İspanya, Portekiz, İtalya, Yunanistan ve Kıbrıs Rum kesiminde AB destekli koyun–keçi brusellozis eradikasyon programları yürütülmektedir. Ermenistan, Azerbaycan, Irak, Suriye, Arnavutluk, Makedonya, Bosna–Hersek ve Sırbistan'da brusellozis yaygındır (34), (Tablo 2.4). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre tüm dünyada her yıl 500.000 yeni olgu belirlenmektedir. Dünyada insan Brusellozu insidansı Şekil 2.1'de görülmektedir.

Şekil 2.2'de kıtalara göre ülkemizin de içinde bulunduğu bazı ülkelerin Bruselloz insidansı verilmiştir. Ülkemiz de vaka sayısı diğer Avrupa ülkelerine oranla bir hayli yüksek görülmektedir. Hem Asya hemde Avrupa da toprağımız olduğundan stratejik konumumuzdan dolayı Bruselloz ile mücadele programları son derece önem kazanmaktadır.

Şekil 2.2. Avrupa'da Endemik ve Nonendemik Bölgelerle Brusellozis in Eradike Edildiği Bölgeler Görülmektedir (7)

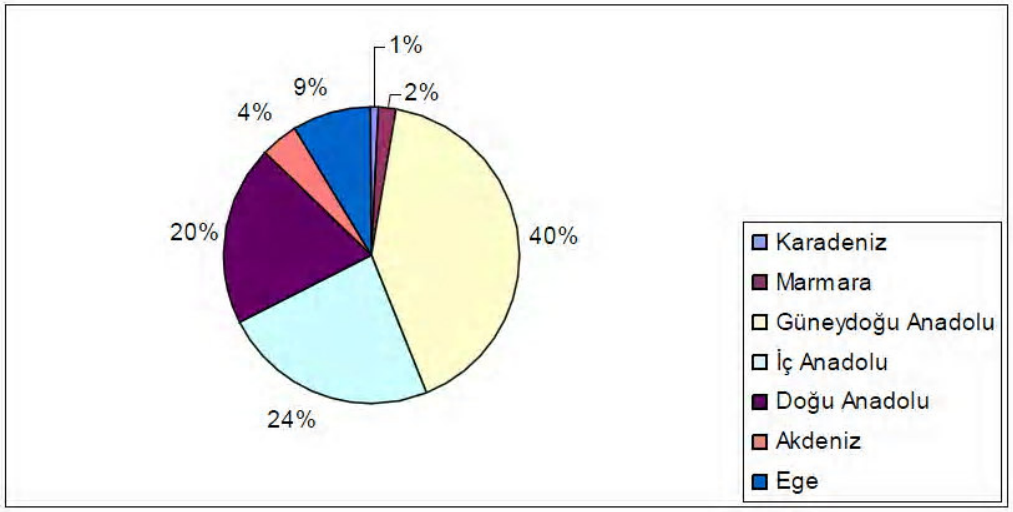
2.11. TÜRKİYE'DE BRUSELLOZ

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1970 yılında 37 olarak bildirilen olgu sayısı, 2005 yılına gelindiğinde 14644'e ulaşmıştır.2009 yılında ise 9324'e gerilemiştir. 2006 yılından sonra Bruselloza bağlı ölüm vakası bildirilmemiştir (35). Ülkemizde hastalık bildirimlerinin halen yeterli düzeyde olmadığı dikkate alınırsa, olasılıkla gerçek Bruselloz prevelansı sanıldığından daha yüksektir. 2006 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre Bruselloz morbidite hızının en yüksek olduğu iller; Siirt, Batman, Bitlis, Hakkari Iğdır, Erzincan, Van, Kilis, Yozgat, Aksaray olarak bildirilmiştir (Tablo 2.5). Sağlık Bakanlığı'na 2006 yılında Artvin, Giresun, Rize, Sakarya, Zonguldak, illerinden Bruselloz olgusu bildirilmemiştir. 2006 yılı itibari ile Isparta'dan bildirilen kesin vaka sayısı 68 dir (35,36). Isparta il Sağlık Müdürlüğü verilerine göre 2006 yılında 68 olan bruselloz vaka sayısı 2010 yılında 13 e düşmüştür. 2006–2010 Yılları arasında vakalarda ciddi oranda düşmeler olmuş, 2011 yılı 11 aylık verilere göre bir miktar yükselme görülmüştür (35).

Tablo 2.5. 2006 Yılında İllere Göre İnsanlarda Bruselloz (35)

Ülkemizde illere göre insanlarda bruselloz, 2006.		
İller	**Kesin Vaka Sayısı**	**Morbidite Hızı (/100.000)**
Siirt	586	223,3
Batman	844	214,4
Bitlis	561	188,5
Hakkari	356	168,0
Iğdır	275	164,6
Erzincan	335	161,5
Van	1291	136,4
Kilis	123	112,3
Yozgat	469	105,0
Aksaray	350	96,7
Ağrı	363	72,4
Ardahan	75	69,1
Adıyaman	312	58,8
Şırnak	170	52,0
Çankırı	83	51,5
TÜRKİYE	10810	16,4

Ülkemizde insanlarda Bruselloz epidemiyolojisi konusunda en kapsamlı çalışma, TÜBİTAK destekli olan Çetin ve ark.(37). yapmış oldukları çalışmadır. Bu çalışmada 70009 serum örneği incelenmiş olup normal popülasyonda *Brucella* seropozitiflik oranı % 1.8, risk gruplarında (veteriner hekimler, laboratuar çalışanları, hayvancılıkla uğraşanlar, kasaplar) ise % 6 olarak belirlenmiştir. En yüksek seropozitiflik oranı da sahip iller sırası ile Diyarbakır, Konya ve Antalya olarak açıklanmıştır. Yine bu çalışmada *Brucella* bakterileri ile temas eden kişi sayısı 1750000 olarak bildirilmektedir. Türkiye'de Brusellozun bölgelere göre dağılımı, vakaların % 41,1'i Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde, % 23,7'si İç Anadolu Bölgesi'ndedir. En az görüldüğü bölge ise Karadeniz Bölgesidir (35), (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Bruselloz Vakalarının Bölgelere Göre Dağılımı (35)

Ülkemizde Bruselloz morbiditesi oldukça yüksek olmasına karşın mortalitesi çok düşüktür. Türkiye'de Bruselloza ait seropozitiflik oranı % 2–6 olarak belirtilmektedir Türkiye'de yıllık mortalite hızı ise milyonda 0,01 olarak açıklanmıştır (35).

Bruselloza bağlı ölüm, ülkemizde az görülmektedir. 1991 yılında 4 ölüm vakası, 1993 yılında 2 ölüm vakası, 1995 yılında 9 ölüm vakası, 1999'da 3 ölüm vakası, 2000'de 6 ölüm vakası bildirilmiş olup en son 2006 da 1 ölüm vakası bildirilmiş olup, daha sonraki yıllarda ve 2010 yılının ilk 6 ayı itibariyle ölüm vakası bildirilmemiştir (38). (Tablo 2.6).

Tablo 2.6. Yıllara Göre Vaka ve Ölüm Sayıları (*İlk 6 Ay) (38)

Yıllar	Vaka Sayısı	Ölüm
2002	17765	1
2003	13870	0
2004	18563	2
2005	11846	5
2006	9337	1
2007	11649	0
2008	9896	0
2009	9324	0
2010*	5325	0

Ülkemiz 1993 yılında, üyesi bulunduğu Akdeniz Ülkeleri Zoonoz Kontrol Merkezi tarafından 6 ülke ile birlikte (Mısır, Ürdün, Umman, Sudan, Lübnan, Suriye) Brusellozis kontrol çalışmalarının yürütüleceği ülkeler arasında dahil edilmiştir. Akdeniz Ülkeleri Zoonoz Kontrol Programı, 31. Dünya Sağlık Asamblesi'nde alınan karar uyarınca 1979'da WHO, FAO ve UNDP'nin katkısı ile kurulmuştur ve şu anda Türkiye dahil 9 Akdeniz ve Orta Doğu ülkesinin üyeliği ile yürütülmektedir. Amaçları ülkelerde ulusal sağlık hizmetlerinin bir parçası olarak zoonozlara yönelik kontrol programları geliştirilmesine destek vermek, veterinerlik ve sağlık hizmetleri arasında işbirliğini artırmak olan program çerçevesinde, üye ülkeler arasında bilgi alışverişi sağlanmakta, eğitime ve durum değerlendirilmesine yönelik toplantılar yapılmakta, yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin etkinliğine ilişkin araştırmalar düzenlenmektedir. Türkiye'de de hastalığa karşı sektörler arasında ortak mücadele yöntemleri geliştirmek, Sağlık Bakanlığı ile Tarım ve Köy İşleri Bakanlığının işbirliğini sağlamak üzere ortak bir protokol imzalanmış ve Ulusal Zoonoz Komitesi bünyesinde, sağlık ve veterinerlik hizmetleri işbirliği ile son yıllarda ciddi çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Sağlık bakanlığı bünyesinde "Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı" kurulmuş ve Brusellozla daha etkin mücadele edebilmek amacıyla "Bruselloz Bilim Danışma Kurulu" oluşturularak bilim kurulunun önerileri doğrultusunda "Bruselloz Konrol Programı" oluşturulmuştur. Teşhis, tedavi ve izlemlerde standardizasyonu sağlamak için Zoonotik Hastalıklar Eğitim Modülü hazırlanmıştır. Yine bilim danışma kurulu aracılığı ile Brusellozda hastane yükünü belirlemeye yönelik çalışmalar başlatıldığı bildirilmiştir (38).

2.12. KLİNİK SEMPTOMLAR

Bruselloz, vücutta herhangi bir organ sisteminin tutulabildiği sistemik bir hastalıktır. Başlangıç semptomları sessiz veya akut olabilir. İnsanlardaki inkübasyon periyodu 1-3 hafta ile 3 ay arasında değişmektedir. *Brucella* türlerinde oluşan klinik tablo sıklıkla benzer olmakla birlikte nadiren değişebilir. En ağır klinik tablo *B. melitensis*'te izlenirken, *B. suis* ve *B. Abortus* bunu izler. Semptomların süresine göre hastalığın sınıflandırılması;

- Akut bruselloz
- Subakut bruselloz
- Kronik bruselloz
- Lokalize form (27,39)

2.13. KOMPLİKASYONLAR

Brucella enfeksiyonları sistemik belirtilerin yanı sıra veya bunlar olmadan lokalize organ tutulumlarıyla da ortaya çıkabilir. Bu durum lokalize Bruselloz ya da komplikasyon olarak da adlandırılan organ veya sistem tutulumlarıdır (25).

2.13.1. Gastrointestinal Sistem Tutulumu

İştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal veya konstipasyon gibi gastrointestinal sistem şikayetleri bruselloz hastalarının yaklaşık %70'inde vardır. Patolojik lezyonlar Peyer plaklarının enflamasyonu ile birlikte intestinal mukozanın hiperemisidir. (25, 39).

2.13.2. Hepatobiliyer Sistem Tutulumu

Brusellozda karaciğer tutulumu ile sık karşılaşılır. Akut Brusellozda karaciğer enzimlerinde hafif artış görülebilir. Bu bulgular granülomatöz veya nonspesifik hepatite bağlıdır. *B. abortus*'a bağlı infeksiyonda karaciğerde granülomlar meydana gelir. *B. melitensis* enfeksiyonunda ise viral hepatite benzeyen nekroz alanının çevreleyen mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra akımının bozulması ve sarılık gelişimi görülebilir. Karaciğer ve dalakta süpüratif apse gelişimi *B. suis*'e bağlı enfeksiyonlarda daha sık görülmektedir. Ancak Brusellozda karaciğer ve dalağın etkilenmesi genelde hafiftir ve antimikrobiyal tedavi ile düzelir, (25,39,40)

2.13.3. Osteoartiküler Sistem Tutulumu

Osteoartiküler komplikasyonlar hastaların % 10–85'inde görülmektedir. Sakroileit ve spondilit en sık görülen tutulumlardır. Spondilit genellikle yaşlı erkeklerde izlenir ve genelde lumbal vertebralar tutulur özellikle L4–L5 vertebra tutulumu görülür. Birden fazla vertebra tutulumu ve komşu olmayan vertebraların aynı anda tutulumu da izlenebilir. Osteoartiküler komplikasyonlarda radyografik bulguların uzun süre sonra ortaya çıktığını da unutmamak gerekir (39,40).

2.13.4. Nörolojik Sistem Tutulumu

Nörobruselloz, hastalığın endemik olduğu bölgelerde nadir görülen fakat ciddi seyreden bir komplikasyonudur. Brusellozda depresyon ve dikkat kaybı sık karşılaşılan şikayetlerdir, ancak santral sinir sisteminin direkt invazyonu olguların % 5'inden azında görülür ve sıklıkla akut veya kronik menenjit şeklindedir. BOS'ta özgül antikorların varlığıyla tanı konur. (25,39)

2.13.5. Kardiyovasküler Sistem Tutulumu

Endokardit; Bruselloz olgularının % 2'sinden azında görülmesine rağmen, Bruselloza bağlı ölümlerin önemli kısmını oluşturur. Romatizmal kalp hastalıklarının ve *B. melitensis* enfeksiyonlarının yaygın olduğu ülkelerde endokardit olgularına daha sık rastlanmaktadır. En sık aort kapak tutulumu olmakla birlikte, mitral kapak tutulumu da bildirilmiştir. Bu tür vakalarda genellikle antimikrobiyal tedavi ile birlikte, cerrahi girişim gerekmektedir. (41).

2.13.6. Pulmoner Sistem Tutulumu

Brusellozda solunum sisteminin tutulumu nadir görülür. Kontamine aerosollerin inhalasyonu veya hematojen yolla yayılım sonucu, basit bir soğuk algınlığını taklit eden tablodan bronkopnömoni, akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), akciğer apsesi, ampiyem, plevral effüzyon, mediastinit, granülom, nodül, hiler ve paratrakeal lenfadenopati görülebilir. Pulmoner komplikasyonlar genellikle ağır değildir ve bruselloz tedavisi ile düzelir. Yapılan balgam kültürlerinde *Brucella spp.* identifikasyonu nadirdir (25).

2.13.7. Genitoüriner Sistem Tutulumu

Brusellozda genitoüriner sistem tutulumu hastaların % 1–20'sinde görülür. Tek taraflı epididimoorşit en sık görülen formudur ve idrar sedimenti genellikle normaldir. İnterstisyel nefrit, glomerulonefrit, sistit, prostatit, piyelonefrit, renal apse ve IgA nefropatisi nadiren bildirilmiştir. Çok nadir olarak kronik renal apselerde tanımlanan kalsiyum depositleri, tüberkülozu taklit edebilir (25,39).

2.13.8. Hematopoetik Sistem Tutulumu

Brusellozun seyrinde anemi (% 74), lökopeni (% 30–50), lökositoz (% 4–15), trombositopeni ve pıhtılaşma anormallikleri gibi hematolojik bulgular sık görülür. Lokalize veya generalize lenfadenopati görülebilir. Pansitopeni kanamaları olan hastalar sıklıkla akut lökoz ile karışmaktadır. Sıklığı ise % 3–21 arasında bildirilmiştir. Bu anormallikler hafif olabilir ve bruselloz tedavisi ile düzelir. (40,41)

2.13.9. Kutanöz Sistem Tutulumu

Deri lezyonları bruselloz olgularının % 5'den azında gelişir Hastalığın yüksek ateşle seyrettigi toksik dönemde nadir olgularda makülopapüler veya eritematöz deri

döküntüleri görülebilir. Bazen düşük yapan hayvanların plasentasını çıkarmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının ön kollarında bruselloza bağlı ‘‘Kontakt Dermatit’’ görülebilir (39).

2.13.10. Göz ve Kulak Tutulumu

Üveit, optik nörit, endoftalmit, episklerit, kronik iridosiklit, yuvarlak keratit ve multifokal koroidit bruselloz hastalarında bildirilen göz tutulumlarıdır. Brusellozda işitme kaybı gelişebilir. Genellikle vestibulo–kohlear sinir tutulumuna bağlı sensorinöral işitme kaybı görülmekle birlikte mikst tip işitme kaybı görülebilir. (25,40).

2.14. LABORTUVAR TANI

Bruselloz tanısı, yalnızca klinik bulgularla konulamaz. Klinik bulgularla beraber bakteriyolojik ve serolojik testler mutlaka yapılmalıdır. Endemik bölgelerde yaşayan, ateş hikayesi olan veya endemik bölgeye seyahat hikayesi olan hastalarda, *Brucella* enfeksiyonu akla gelmelidir. Hasta hikayesi çok iyi alınmalıdır. Hastalara bu amaçla bazı temel sorular mutlaka sorulmalıdır; hastanın mesleği, gıda tüketimi, hayvanlarla temas hikayesi, endemik bölgelere seyahati olup olmadığı mutlaka araştırılmalıdır. Brusellozun, ülkemizde yaygın görüldüğü ve endemik bir hastalık olduğunu unutmamak gerekir. Uzun süreli ateş hikayesi olan veya bir haftadan daha uzun ateş hikayesi olan, hastalarda, bruselloz araştırılmalıdır. Brusellozlu hastalarda rutin kan değerlerinde önemli değişiklikler gözlenir, fakat bunlar tanı koydurucu değildir. Hastalarda kan sayımı, idrar analizi, karaciğer ve böbrek fonksiyonları ile ilgili biyokimyasal testler gözden geçirilmelidir. Brusellozun kesin tanısı, bakterinin kandan veya diğer dokulardan izolasyonu ile konur. Hastalığın erken ve uygun tanısı tedaviye erken başlanması açısından çok önemlidir (39).

2.14.1. Direkt Tanı

Hastalık etkeninin kültürden izolasyonu veya nükleer materyallerin moleküler tanı teknikleriyle gösterilmesi temeline dayanan yöntemlerdir. İnsan brusellozunun tanısında en uygun örnekler; kültür için kan ve kemik iliği, serolojik testler için ise serumdur. *Brucella* ayrıca dalak, karaciğer ve apse örneklerinden de izole edilebilir. En uygun sonucu almak için ateşli dönemlerde birden fazla kan kültürü ve mümkünse antibiyotik kullanımından önce alınmalıdır. Alındıktan sonra 1 saat içinde işlenmeyecek örnekler buzdolabında saklanmalıdır. Akut faz serum örnekleri semptomların başlangıcından

hemen sonra; konvelesan faz serum örnekleri ise 14–21 gün sonra alınmalıdır. Serum örneklerinin saklanması durumunda dondurulmalıdır. Eğer dondurma işlemi mümkün değilse serumun her ml'sine % 1'lik 10 µl merthiolat eklenir (42).

2.14.2. Direkt Etyolojik Tanı

2.14.2.1. Örneklerin Direkt İncelenmesi

Kan ve kemik iliğinin direkt olarak mikroskopla incelenmesi tanıda yeterli derecede duyarlı değildir. Direkt Floresan Antikor Testi için uygun laboratuar protokolü yoktur (42).

2.14.2.2. Kültür

Brusellozda kesin tanı etkenin sıklıkla kan ve kemik iliğinden, nadiren de BOS, plevra sıvısı, periton sıvısı ve idrar gibi örneklerden kültür yoluyla izolasyonu ile konur. Kan kültürlerinde üretme sansı % 15–70 arasında değişirken, kemik iliği kültüründen üretme sansı % 90 oranındadır. Gotuzzo et al. (40) yaptıkları çalışmalarında, kemik iliği kültürlerinde % 92, kan kültürlerinde % 70 oranında üreme saptamışlardır. Kan kültürlerinde daha az oranda üremenin saptanması hücre içi bir bakteri olmasından ve öncesinde antibiyotik kullanım öyküsünden kaynaklandığı bildirilmiştir. *Brucella* izolasyonu için kullanılan baslıca besiyerleri katı ve sıvı besiyerleri şeklindedir. Sıvı besiyerleri daha çok kan ve BOS gibi materyallerin ekiminde kullanılır. Besiyerleri olarak; serumlu dekstrozlu agar, gliserollu dekstrozlu agar, patates agar, triptaz agar, triptikaz soy agar, *Brucella* K vitaminli agar, *Brucella* agar kullanılır. Ekimler çift yapılarak birisi normal atmosfer koşullarında diğeri % 5–10 $C0_2$'li atmosferde enkübe edilmelidir (43).

Altın standart kabul edilen mikroorganizmanın izolasyonudur. *Brucella* şüpheli örnekler 2 saat içinde ekilmeli, mümkün değilse 2–8°C'de saklanmalıdır. Alternatif olarak –20°C'de saklanabilirler. Fakültatif hücre içi paraziti olan etkenlerin kültürden izolasyonu 5–7 gün arası bir zamanı gerektirmektedir. Rutin kültürler bir hafta boyunca takip edilerek süre sonunda üreme saptanamaması durumunda negatif sonuçlar bildirilir. Brusellozun inkübasyon süresi 2–3 hafta olduğundan, kan kültür şişelerinin dört haftaya kadar inkübasyonu tamamlanmadan üreme olmadığı bildirilmemelidir. Genelde geç üreyen bir bakteri olmakla birlikte Bact/Alert sistemlerindeki aerobik kültürlerde 2–3 günde üremektedir. Otomatik sistemlerin üreme uyarı sistemleri mevcuttur. BACTEC

(Becton Dickinson), Bact/Alert (Bio–Merieux) *Brucella* türlerinin üretilmesi için yeterli özelliklere sahiptir (44,45). Bu süre günümüzde otomatize kan kültür sistemleri olan BACTEC (NR 660, 9240), Bact/Alert kullanılmasıyla beş–yedi güne düşmüşse de *Brucella* bakterisi hücre içi ve zor üreyen bir bakteri olduğundan, inkübasyon süresinin uzatılması ve subkültürlerin yapılması önerilmektedir . Baysallar ve arkadaşlarının (46), 33039 kan kültür örneğinde BACTEC 9240 ve Bact/Alert otomatize kan kültür sistemlerini kullanarak, *Brucella* bakterisinin üreme zamanını tespit etmeye yönelik olarak yaptıkları çalışmalarında, 17 tanesi her iki sistemde, 13 tanesi sadece Bact/Alert sisteminde olmak üzere, 30 *Brucella* bakterisinin ürediği saptanmıştır. Bact/Alert otomatize sistemde ortalama 2,5 gün BACTEC 9240 sisteminde ise ortalama 2,8 günde *Brucella* bakterisinin ürediği tespit edilmiştir. Özkurt ve arkadaşlarının (47), Bact/Alert otomatize sistemi ve *Brucella* Broth kültür yöntemiyle *B. melitensis* bakterisini saptamaya yönelik olarak yaptıkları çalışmada, Bact/Alert otomatize sistemde kan kültürlerinde *B. melitensis* bakterisi ortalama 4,5 günde saptanırken, *Brucella* Broth kültüründe 5 günde saptanmıştır. Bu çalışmada her iki yöntem arasında bakterinin üreme zamanı açısından anlamlı bir fark bulunmamış olup, *Brucella* Broth kültür yöntemi daha duyarlı bulunmuştur.

Bakteriler ayrıca komplikasyon gösteren olgularda; beyin omurilik sıvısı (BOS), eklem sıvısı, periton, perikard sıvılarından ve idrardan da izole edilebilir. Bakterinin kan kültürlerinden izolasyon şansı her zaman olmamaktadır. Buna neden olarak; hastanın antibiyotik kullanması, kandaki bakteri sayısının düşük olması gibi faktörler ileri sürülmektedir. Gotuzzo et al. (40)'a göre antibiyotik kullanmışlardan kan kültürü ile % 50 olan izolasyon oranı, kemik iliği kültürü ile % 90'a ulaşmakta; antibiyotik kullanmayanlarda ise kan kültürü ile % 75 olan izolasyon oranı % 92,5'e yükselmektedir. Genel kanı, bruselloz düşünülen olgularda kan kültürü negatif kalmışsa, kemik iliği kültürü yapılmasıdır (43). Cesur ve arkadaşları (48), Ankara'da 85 hastada yaptıkları araştırmada akut brusellozlu olgularda en değerli tanı metodu kan kültürü iken, kronik brusellozlu olgularda en değerli tanı metodunun kemik iliği kültürü olduğu sonucuna varmışlardır.Kemik iliği kültürlerinden pozitif sonuç alma süresi kan kültürüne oranla daha kısa olmaktadır. Bakterilerin kültürden izolasyonunu sınırlayan en önemli faktörlerin başında antibiyotik kullanımı gelmekte ve antibiyotik kullananlarda kan kültürlerinden önemli ölçüde hatalı negatif sonuçlar alınabilmektedir.

Antibiyotik kullananlardan kemik iliği kültürlerinin yapılması durumunda daha olumlu sonuçlar alınmaktadır.

2.14.2.3. Moleküler Yöntemler

Hastalık etkeninin ve ona ilişkin antijenik yapıların uygun materyallerden izolasyonu esasına dayanır. PCR yöntemi ile hasta organ ve dokulardan *Brucella* nükleik asitleri araştırılabilir. PCR testinde en önemli sorunlardan biri *Brucella* cinsinin üyeleri arasında ayırım yapılamamasıdır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) duyarlılığının yüksek olması, hızlı olması, herhangi bir vucut dokusunda uygulanabilmesi ve bulaştan 10 gün sonra bile pozitif sonuç vermesi nedeniyle tanıda önemli rol oynamaktadır. Değişik hedef genler, primer çiftler, PCR teknikleri ve ekstraksiyon yöntemleri hem hayvan hem de insanda brusella enfeksiyonlarının tespitinde de kullanılmaktadır (49,50).

2.14.3. İndirekt Tanı

Bu yöntemler hastalığa neden olan mikroorganizma ya da bu mikroorganizmanın antijenlerine organizmanın verdiği bağışık yanıt sonucu oluşan antikorların serolojik olarak belirlenmesi, antijenlere karşı organizmada ortaya çıkan aşırı duyarlılığın "deri testleri" ile araştırılması ile yapılan tanı yöntemleridir. Antibiyotik alan ve kültür negatifliği olan hastalarda serolojik testlerden yararlanılır. Tanıda kullanılan serolojik testlerin birçoğu diğer bakterilerle çapraz reaksiyon veren antilipopolisakkarit antikorların tespitine dayanmaktadır (51).

2.14.3.1. Hızlı Aglütünasyon Testleri

Bu testlerde bakterinin konsantrasyonu belli değildir. Alınan pozitif sonuçların serum tüp aglütinasyon testi ile doğrulanması gerekir.

2.14.3.2. Rose Bengal

Endemik bölgelerde tüm ateşli hastalara uygulanmalıdır. En hızlı ve duyarlı tarama testidir. Piyasada bulunan Rose Bengal testlerinin sensitivitesi % 96 ile % 100 arasında değişir. Rose Bengal testi (RB); STA ile oldukça uyumlu sonuçların alındığı tamponlanmış reaktifler ile düşük pH'ta (pH:3.65). aglütinasyon temeline dayanan tarama testidir. Ticari olarak kullanılan kitlerde *B. abortus* antijeni kullanılmaktadır (25, 44). "Rose Bengal" boyası ile muamele edilmiş ölü bakteri süspansiyonlarından yararlanılarak lam aglütinasyonu şeklinde uygulanabilmektedir.

2.14.3.3. Lam Aglütinasyon Testi

Özel yöntemlerle boyanmış antijenler ile Tam kan kullanılarak yapılan lam aglütinasyon deneyi (SPOT testi), özellikle kitle taramalarında bir ön deney olarak kullanılır.

2.14.3.4. Mikroaglütinasyon Testi

Boyalı *Brucella* antijenleri kullanılarak tüpte aglütinasyon da (mikroaglütinasyon) araştırılabilir. Bu uygulamayla STA'a göre daha az antijen, daha az tüp dilusyonu ve daha kısa inkübasyon süresi avantajı sağlanır (44).

2.14.3.5. Kart Test

Esas olarak hayvan serumunu test etmek için hazırlanmış, tamponlanmış, boyanmış bakteri süspansiyonunun kullanıldığı makroskobik bir aglütinasyon testidir.

2.14.3.6. Tüp Aglütinasyon Testleri

2.14.3.7. Serum Tüp Aglütinasyon Testi

Bruselloz tanısında kullanılan standart serolojik test, Serum Tüp Aglütinasyon (STA) testidir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır. *B. abortus* S99 veya *B. abortus* 1119 kökenlerinin kolonilerinden alınan bakterilerin ısı ile öldürülmüş fenollü süspansiyonundan elde edilen antijenin, hasta serumunun ardışık dilüsyonları ile karşılaştırılması esasına dayanır. Bu antijen, LPS benzerliğinden dolayı *B. abortus, B. suis ve B. melitensis*'e karşı oluşmuş antikorlar tarafından aglütine edilir. Test titresinin 1/160 ve üstü olması aktif infeksiyon için önemli bir kanıt olarak düşünülmektedir. Üç haftalık bir hastalık süresinden sonra, hastaların % 97'sinden fazlasında enfeksiyon serolojik olarak saptanabilir. Uygun antibiyotik tedavisine karşın olguların % 5–72'sinde anlamlı STA testi titrasyonları iki yıla kadar yüksek kalabilmektedir. STA testinin düşük spesifitesi diğer proteinlerle olan çapraz reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Romatoid faktör aktivitesi ile oluşan IgM ise STA testindeki spesifite düşüklüğünden sorumludur. STA testi uygun tedavi protokolünün seçiminde ve hastalığın seyrini göstermede önemli olan farklı immunglobulin sınıflarını ayırt etmez. Normal olarak bazı kimselerin serumlarında 1/80–1/100 titresinde *Brucella* aglutininleri bulunabileceğinden, hasta serumları 56°C'de 30 dakika inaktive edilirse bunların etkisi önlenebilir. Bu testin en büyük dezavantajı hastalıktan sonra titrenin

uzun süre yüksek kalmasından dolayı hasta takibinde kullanılamamasıdır. Diğer bir dezavantajı ise bu testin *B. canis* infeksiyonu tanısında kullanılmamasıdır (52).

Bu testte yalancı negatif sonuçlar; prozon fenomeni, hastalığın erken döneminde olması ve blokan antikor varlığında gözlenebilir. Prozon'da; aglütinasyon, serumun düşük dilüsyonunda ve özellikle serumun yüksek titrede antikor içerdiği durumlarda maskelenebilir. Sıklıkla 1/20 dilüsyonda görülür; 1/80 ve üstü dilüsyonlarda nadirdir (50, 52). Yalancı pozitif sonuçlar ise *Francisella tularensis, Escherichia coli O116* ve *O157*, *Salmonella urbana, Yersinia enterocolitica O:9, Vibrio cholerae, Xanthomonas maltophilia ve Afipia chevelandensis*'e karşı oluşan antikorlar ile çapraz reaksiyona bağlıdır. Yalancı pozitif ve negatif sonuçlar sulandırımların 1/320 den daha fazla yapılmasıyla önlenebilir. Bu testin Uzun süredir kullanımda olması: Yöntemin çok kullanılmasına,"Yalancı pozitiflik ve negatiflik" durumlarının tanımlanmasına zamanla testin dezavantajlarının ortadan kaldırılmasına antijenlerin standartize edilmesine olanak sağlamıştır.

2.14.3.8. 2–Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) ve 2–Mercapto Ethanol'lü Aglütinasyon Testi

Klasik STA testinde saptanan immunglobulinlerin hangi sınıftan olduğu belirlenemez. Önemli olan hastalığın aktif olarak sürdüğünü belirleyen IgG antikorlarının varlığını saptamaktır. Yalnızca IgG antikorlarının titresini ortaya çıkarabilmek için, IgM'in 2–merkapto ethanol ve rivanole duyarlılığından faydalanılır. Bu testler; IgM pentamerinin disülfit bağlarınının indirgenmesini temel alır ve serumun bu maddeler ile muamelesi sonucu IgM aglütinasyon yeteneğini kaybederken IgG etkilenmeden kalır. STA aglütinasyon yapan antikorların (IgG ve IgM) total miktarını belirlerken bu testler IgG miktarını tespitte kullanılır (44). Bu maddelerle işlem görmüş serumlarla yapılan aglütinasyon deneylerinin yine olumlu bulunması IgG antikorlarına bağlı olup hastalığın kronikleştiği anlamını taşır. STA ile bu testin birlikte kullanımı akut olguların ayırt edilmesinde ve takibinde önemlidir (53, 54).

2.14.3.9. Coombs Testi

Klinik olarak Bruselloz belirtileri olduğu halde yapılan aglütinasyon deneylerinin olumsuz olması, Brusellozda sık rastlanan bir durumdur. Olay antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglütinasyon reaksiyonu oluşturmasını engelleyen mekanizmanın bulunmasından doğmaktadır. Bloke edici ya da blokan antikorlar olarak tanımlanan bu

tip immunglobulinlerin varlığında, antijen–antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon meydana gelmemektedir. STA'da aglutinasyon vermeyen, IgG sınıfından olan blokan antikorları tespit etmek için kullanılır (44). Bu antikorlar Coombs serumu (antihuman globulin) kullanılmak suretiyle ortaya çıkarılır. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. Bu testin özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önemi vardır. Hastalığın erken ve geç dönemlerinde, yüksek antikor titreli serumlarda daha sık olmak üzere prezon olayı ve diğer bloke edici fenomenler nedeniyle yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir. Prezon olayı, blokan antikorlara bağlı gelişebileceği gibi, ortamda eşit miktarda antijen ve antikor bulunmamasına bağlı olarak da ortaya çıkabilir. Özellikle serum yüksek titrede antikor içerdiği zaman aglütinasyon düşük serum dilüsyonlarında maskelenebilir. Bu duruma "antikor fazlalığı zonu" veya "prezon" adı verilir. Ancak serum örnekleri sulandırımlarının oldukça ileri oranlarda tutulması ile prezon olayı önlenebilir.

2.14.3.10. ELISA

Son zamanlarda özgül lipopolisakkarit antijenlerin kullanılması esasına dayanan ELISA yöntemlerinde; antijen olarak *Brucella*'ların tüm hücreleri, lipopolisakkaritleri, tuzla ekstrakte edilen proteinleri, nativ hapten polisakkariti ve dış membran proteinleri kullanılabilir. Akut ve kronik Bruselloz tanısında immünglobulin sınıflarının profilini veren hızlı, yüksek duyarlılıklı, özgül ve güvenilir bir yöntemdir. Hastalığın başlangıcında özgül IgM, üçüncü haftadan sonra ise özgül IgG antikorları serumda saptanabilir. Hastalığın seyri sırasında IgG, IgM, IgA antikor titrelerindeki değişiklikler ELISA yöntemiyle klasik serolojik testlerden daha iyi tespit edilir ve bu test kronik bruselloz tanısında da iyi bir seçenektir. Nörobruselloz vakalarında, BOS'da antikor aramak için ELISA testi uygun bir yöntemdir. Son zamanlarda geliştirilen "Competitive Enzyme Linked Immunoassay (CELISA)" testinin özgüllüğü % 96.5–100; duyarlılığı ise % 94.8–100 arasında bulunmuştur. İnsan brusellozunun tanısında uygun bir test olduğu ve bir doğrulama testi olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (44,54,55).

2.14.3.11. Kompleman Fiksasyon Testi

KFT en sensitif ve en spesifik konvansiyonel serolojik yöntem olması nedeniyle Bruselloz tanısında doğrulama testi olarak kabul edilmektedir. STA testi sonuçlarının yetersiz kaldığı veya negatif olduğu inkübasyon dönemi, geç kronik safha veya

aşılanmalarda KFT önemli bir tanı yöntemidir. Hastalığın ileri evrelerinde veya kronik hastalarda predominant olan IgG antikorlarının tanısında; 1/64 ve üzerindeki titreler önemlidir. Antikomplementer aktivitenin ortaya çıkması, kompleman gibi kararsız reaktiflerin kullanılması, hastalığın başlangıç dönemlerinde kompleman fiksasyonuna yanıtın tespit edilmesindeki yetersizlik ve teknik gereksinimler gibi dezavantajlara sahiptir (52,44).

2.14.3.12. Brucella Capt

Son zamanlarda geliştirilen bu test yöntemi, hem *Brucella* aglütininlerini hem de aglütinasyon vermeyen IgG and IgA antikorlarını tek aşamada saptayabilen immün yakalama tekniğine dayanan bir testtir. Tanısal kapasitesi Coombs testine çok benzer Kuyucuklarda gerçekleşen bir Coombs'lu *Brucella* aglütinasyon testidir. Total anti–*Brucella* antikorlarının immunocapture–aglütinasyon tekniği temelinde bruselloz tanısı için yeni bir testtir. "Brucella capt; insan bruselloz tanısında 24 saat içinde basit bir işlemle herhangi bir ikinci bir aşamaya gereksinim göstermeden Coombs testine benzer bir duyarlılık ve özgüllük göstermiştir (56).

2.14.3.13. Brucella Dipsitick Test

Brucella spesifik IgM antikorlarının araştırılması için yararlıdır. Uygun laboratuar şartları olmayan yerlerde ve kırsal bölgede hızlı tanı testi olarak kullanılabilir. Dipstick ısıya direçli antijeni; *B. abortus* 1119–2'nin sıvı kültürünün yıkanmış hücrelerinin 95°C'de ısıtılmasını takiben hücre kalıntılarının santrifügasyon ile kaldırılmasıyla hazırlanır. Hazırlanan bu preparat nitroselüloz banda belli bir çizgi olarak nitroselülozu kaplayarak uygulanmıştır. Testin sensitivitesi hastalığın ilk 2 ayında % 89 ve hastalığın 2–4 aylarında % 83.1 olarak bulunmuştur. Testin hesaplanan spesifitesi ise % 98.6 olarak bulunmuştur. Testin uygulanmasının kolay oluşu, özel ve çok fazla deneyimli personel gerektirmemesinden dolayı saha kullanımı için uygun olduğu belirtilmiştir (57).

2.14.3.14. Floresan Polarizasyon Deneyi

Floresan polarizasyon deneyinin sığır, domuz, koyun, keçi ve bizon gibi hayvanların brusellozunun serolojik tanısında uygun olduğu kabul edilmektedir. Direkt olarak antijene bağlanan antikorları ölçmek için moleküler dönüş özelliğini kullanan bir

sistem. *B. abortus*'a karşı aşı ve doğal enfeksiyon sonucu gelişen antikorları ayırt edilebilir (58).

2.14.3.15. İmmünfloresan Test

Konvansiyonel metotlarla karşılaştırıldığında farklı antikor sınıflarını saptamada kullanılır. Yüksek Duyarlılık ve özgüllük, kısa zamanda sonuçlanması diğer serolojik testler ile yüksek korelasyona rağmen, STA (STA–ME), CT ve KFT testine karşı bir üstünlüğü gösterilememiştir (52).

2.14.3.16. İndirekt Hemaglütinasyon Testi

Bakterinin lipopolisakkarit (LPS) kısımları ile kaplı, tannik asitle muamele edilmiş koyun eritositlerinin kullandığı bu testte çözülmüş antijenlerden yararlanılır. Çok duyarlı olan bu yöntemde nanogram düzeyindeki immünglobulinler saptanabilir.

2.14.3.17. Radyo–İmmün Assay

Testte kullanılan anti–human antikorlar 125 Iodine ile işaretlenir ve *Brucella*'ya karşı oluşan IgM, IgG ve IgA tipi antikorlar saptanabilmektedir. Bu testin duyarlılığının yüksek olmasına rağmen, pahalı alete bağımlı olması ve deneyimli personel gereksinimi, radyoaktif artık ürünlerin varlığı ve radyoizotopların yarı ömürlerinin kısa olması gibi dezavantajları nedeniyle yaygın kullanım alanı bulamamıştır (44,58).

2.14.3.18. Deri Testleri

Hücresel immüniteyi gösterir geç tip aşırı duyarlılık testleri Bruselloz tanısında yardımcı olmakta, özellikle geviş getiren hayvanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda da kullanılan bu testlerde; antijen olarak öldürülmüş *Brucella* bakterileri, saflaştırılmış bakterilerin 21 günlük kültür süzüntüleri ve ticari olarak hazırlanmış saflaştırılmış rekombinant bakteri proteinleri kullanılmaktadır. Brusellozun allerjik tanısında en sık kullanılan test "Brucellergen" deri testidir. (44).

Tablo 2.7. Testlerin Karşılaştırılması (27)

Laboratuar Testi	**Hasta Örneği**	**Yorum**
Bakteriyolojik tanı için testler		
Kan kültür	Kan, kemik iliği aspirasyonu,	Antibiyotik verilmeden önce kültürler alınmalı, İnkübasyon süresi klasik yöntemlerde 3–21 gün, otomatize kan kültürlerinde 3–7 gün.
Diğer materyallerden kültür	BOS, eklem sıvısı, apse materyali, biyopsi materyali (dalak, karaciğer ve lenf bezi aspirasyonu)	Örnekler bir saat içinde Laboratuara ulaşmayacak ise buzdolabında bekletiniz veya soğuk zincir ile gönderiniz.
Serolojik tanı için kullanılan rutin testler		
Rose Bengal plak testi	Serum	Hızlı tarama testidir. Pozitif sonuçlar mutlaka kültür ve SAT ile doğrulanmalıdır.
Standart tüp aglutinasyon testi (SAT)	Serum	Titre artışını gözlemek için bir hafta sonra testin tekrarı gerekir. 1/ 160 ve daha yukarı pozitif titre tanısal değeri yüksektir. Daha önce tedavi edilen hastalarda titre uzun süre yüksek kalabilir.
ELISA	Serum	Tedavi takibinde kullanılabilir. Başarılı tedavi ile IgM, IgA, IgG titresi düşer. Relaps durumlarında IgA ve IgG titresi artar.

2.14.3.19. Ring Testi

Enfekte hayvan sürülerini belirlemede yararlanılan pratik bir tarama testidir. Taze sütle yapılan bu test, daha ziyade inek sütlerinde güvenli sonuçlar vermekte, koyun ve keçiler için alerjik testler önerilmektedir. Test ısıtılmış kaynatılmış, bozuk, pastörize, mastitli hayvanların sütlerinde ve kolostrumda uygulanmaz (59).

2.14.3.20. Hayvan Deneyi

Doğrudan hastadan alınan 5–10 ml miktarında kan kobayların peritonu içine enjekte edilerek yapılır. *Brucella* varsa hayvanlar 2–4 haftada ateş ve septisemi belirtileri ile hastalanırlar. Gebe hayvanlar yavrularını düşürürler. Öldürülen hayvanların büyümüş lenf gangliyonları, kan ve dalaklarından yapılan preperatlarda *Brucella*'ları görmek ve kültür yöntemleri ile üretmek mümkündür. Zor ve zaman alıcı bir deney olup artık kullanılmamaktadır.

2.15. TİPLENDİRME

2.15.1. Tür İdentifikasyonu Faj Tiplemesi

Faj tiplemesi özellikle *B. abortus biyotip 3–6 ve 9*'u *B. melitensis*'ten ayırmakta kullanılmaktadır. Bakteriofaj Tbilisi rutin test dilüsyonlarında *B. abortus*'un S kültürlerini tamamen eritmekte fakat *B. suis ve B. melitensis* bu test dilüsyonlarından etkilenmemektedir. *B. suis*, rutin test dilüsyonunun 10.000 katı konsantrasyonunda kısmen erimesine rağmen *B. melitensis* bu faj konsantrasyonundan etkilenmez (60). Tür identifikasyonu başlıca iki ana yöntemle tayin edilir. Bunlardan ilki Tibilisi fajı ile lizisdir. İkinci yöntem ise, monometrik metotlarla izolatın 14 çeşit amino asit ve karbonhidratı oksidasyon ile metabolize etme kabiliyetlerinin incelenmesidir. Oksidatif metabolik testler zaman alıcı, yetişmiş elemana ihtiyaç gösteren ve pahalı testler olduğundan ancak referans laboratuarlarında taksonomik amaçlı çalışmalarda kullanılmaktadır (61). İlk stabil *Brucella* fajının 1950'de eski SSCB'de izolasyonundan sonra, birçok *Brucella* fajı bildirilmiştir. Rusyanın Tbilisi eyaletinde izole edilip Tbilisi (Tb) adı verilen faj son derece stabil olduğundan referans faj olarak tür tayininde geniş çapta kullanılmaktadır . Bu güne kadar çalışılan tüm *Brucella* fajları DNA fajları olup *Pedoviridae* ailesine aittir ve konakçı afinitesine göre 6 gruba ayrılmışlardır. Grup 1 fajlarının prototipi olan *Tb fajı* rutin test dilüsyonu (RTD)'ında sadece "smooth" *B. abortus* kültürlerini lize ederken, 10.000xRTD'nda *B. suis ve B.neotoma*'yı "lysis from without" denilen bir fenomenle lize etmektedir. Grup 2 fajlarının temsilcisi *Firenze fajı* dır ve *B. abortus, B. neotoma ve B. suis* biyotip 4'e karşı aktifdir. Grup 3 fajları *Weybidge fajı* ile temsil edilir. Bu faj *B. abortus, B. neotomae B. suis'* i lize eder, ancak *B. melitensis*'in çoğu suşlarını lize etmez. Grup 4 fajlarının protipi olan *Berkeley fajı* ilk olarak 1976 yılında Douglas ve Elberg tarafından izole edilmiştir. Bu faj tüm " smooth" *Brucella* suşlarını lize etmektedir. Grup 5 fajları "rough" suşları lize eder. *R* ve bunun türevi olan *R/O fajları* stabil değildirler. Ancak *B. canis* Mex 51 üzerinde pasajla elde edilen *faj R/C* son derece stabildir ve "rough" tür ve suşlar için referans bir faj olarak kabul edilmektedir Grup 6 fajı sadece Hindistan'dan izole edilen *İzatnagar fajı* nı içerir.Bu faj *Brucella spp.*in tüm "smooth" suşlarını aynı zamanda *B. melitensis ve B. suis'in* "rough" suşlarını lize etmektedir (62). Glikoz ve laktozu fermente etmeyen, zorunlu aerop, katalaz ve oksidaz pozitif, Gram negatif, nonhemolotik koloniler absorbe olmamış anti–S *Brucella* serumu ile lamda aglütinasyon testine tabi tutulur.

Brucella'ların S suşlarının yüzey antijenleriyle *Francisella tularensis, Vibrio cholerae, Escherichio coli O 157:H7, Salmonella 0:30 ve Yersinia enterocolitica serotip O:9* bakterilerinin yüzey antijenleri ortaktır (63, 64). Kuşkulanılan *Brucella* kolonilerinin temiz bir lam üzerinde, iki ayrı yerde serum fizyolojik içinde süspansiyonları yapılır. Birine bir damla anti–S *Brucella* serumu, ikincisine normal serum eklenir. Serum ve süspansiyon karıştırılır. Aglütinasyon verip vermediği kontrol edilir. Bu antiserumlarla *B. ovis ve B. canis* aglütinasyon vermez.

2.15.1.1. Referans Laboratuarlarında Biyovar ve Biyotiplerin Tayini

Biyovar ve Biyotip Tayinindeki Başlıca Kriterler

1. H_2S oluşumları

2. Üreme için CO_2 gereksinimleri

3. Üreaz aktivitileri

4. Monospesifik serumlarla aglütinasyonları

5. Tiyonin ve bazik fuksin içeren agarlarda üreme.

Biyovar ve biyotip tayinindeki başlıca testler Tablo 2.10'de gösterilmektedir.

2.15.1.2. H_2s Oluşumları

Eğik triptoz agar yüzeyine inoküle edilmiş bakterilerle kurşun asetatlı şeritler yüzeye değmeyecek şekilde 4 gün inkübe edilir. Şeritler her gün tazelenir. Siyah renk oluşumu H_2S lehinedir. Bu suretle bakterilerin kaç gün H_2S yaptıkları bulunur. *Brucella suis* 3 gün ve daha çok, *Brucella* abortus 2 gün ve *Brucella melitensis* az miktarda ve bir gün H_2S yapar (65).

2.15.1.3. Üreme İçin CO_2 Gereksinimleri

Bakteriler iki eğik triptoz agar yüzeyine ekilir. Kültürlerden biri % 5–10 CO_2'li ortamda diğeri ise aerop koşullarda inkübe edilir. Aerop koşullarında çok zayıf üreme veya ürememe buna karşılık CO_2'li ortamda üreme bakterilerin CO_2'e gereksinimini gösterir *B. abortus*'un bazı biyotipler genellikle ilk izolasyonlarında ve *B. ovis* her zaman üremeleri için % 5–10 CO_2'e ihtiyaç gösterirler (62, 66).

2.15.1.4. Üreaz Aktivitesi

Brucella kolonilerinden yoğun bir süspansiyon hazırlayarak, Crystensen üre agar yüzeyine bir öze dolusu inoküle edilir. *B. suis* 15–20 dakikada, *B. abortus* 2 saatten sonra üreaz etkinliği göstererek besiyerinin rengini kızartırlar. *B. melitensis* saatler sonra veya olumsuz sonuç verir (65).

2.15.1.5. Lam Aglütinasyonu

B. melitensis ve B. abortus suşları ile hazırlanan monospesifik antiserumlar, hakim olan M ya da A lipopolisakkaritini belirlemede kullanılır. Tüm "smooth" *Brucella* suşları anti–A anti–M veya her iki monospesifik anti–serum ile aglutine olurlar. Bu iki yüzey antijeninin "smooth" suşlarda dağılımının kantitatif bir farklılık göstermesi, A ve M monospesifik antiserumların biyotiplendirmede kullanımının temelini oluşturmuştur (67). Test bir damla bakteri süspansiyonu ile lam üzerinde karıştırılarak yapılır. Lam aglütinasyonları yapılarak *B. melitensis*'i diğer ikisinden ayırt etmek olanaklıdır. *B. suis'*i *B. abortus*'dan ayırmak olanaksızdır. *Brucella*'ların sık antijen varyasyonları nedeniyle anti serumların elde edilmesi zordur. Bu konuda referans Dünya Sağlık Örgütünün Kopenhag Serum Enstitüsüdür (68). A ve M antijenleri türlere ve biyotiplere göre farklı orandadırlar. *B. abortus'*un biyotip 1,2,3 ve 6; *B. suis*'in biyotip 1,2,3; *B. melitensis*'in biyotip 2 ve *B. neotomae*'nin A antijeni dominant iken *B. abortus'*un biyotip 4,5,9; *B. suis*'in biyotip 5 ve *B. melitensis'*in biyotip 1 inde M antijeni dominanttır.

2.15.1.6. Tiyonin ve Bazik Fuksin İçeren Agarlarda Üreme

Tiyonin ve bazik fuksinin değişik konsantrasyonlarda bulunduğu besiyerleri *B. melitensis, B. abortus ve B. suis*'in biyotiplendirmesinde kullanılmaktadır. Bu boyalar, kömür katranından elde edilmekte; bakterilerin bu maddelerle doğada karşılaşmaları pek mümkün olmamakta ve muhtemelen bu boyaların kimyasal yapılarının memeli dokularında bulunan bazı maddelere benzerlik gösterdiği bildirilmektedir. Esendal ve ark.(69), Tiyonin 40, 20 ve 10 mikrog/ml ve bazik fuksinin 20 ve 10 mikrog/ml konsantrasyonundaki solüsyonlarına emdirilmiş disklerin kullanımının, *Brucella spp.* üzerinde bu boyaların bakteriyostatik etkilerinin incelenmesinde güvenilir bir metot olduğunu bildirmişlerdir (11,12).

Tablo 2.8. *Brucella* Türlerinin Biyotiplerinin Ayırıcı Karekterleri (68)

Tür	Biyotip	CO2 ihtiyacı	H2S üretimi	Boyalarda Üreme		A	M	R
				Tiyonin	B.fuksin			
B.melitensis	1	–	–	+	+	–	+	–
	2	–	–	+	+	+	–	–
	3	–	–	+	+	+	+	–
B.abortus	1	+	+	–	+	+	–	–
	2	+	+	–	–	+	–	–
	3	+	+	+	+	+	–	–
	4	+	+	–	+	–	+	–
	5	–	–	+	+	–	+	–
	6	–	–	+	+	+	–	–
	9	–,+	+	+	+	–	+	–
B.suis	1	–	+	+	–	+	–	–
	2	–	–	+	–	+	–	–
	3	–	–	+	+	+	–	–
	4	–	–	+	–	+	+	–
	5	–	–	+	–	–	–	–
B.neotomae		–	+	–	–	+	–	–
B.ovis		+	–	+	–	–	–	+
B.canis		–	–	+	–	–	–	+

A = monospesifik abortus antiserumu, **M** = monospesifik melitensis antiserumu, **R** = anti–rough *Brucella* serumu

2.16. TEDAVİ

Bruselloz tedavisinde WHO tarafından önerilen tedavi seçenekleri ,çocuk ve yetişkin dozları Tablo 2.10 da özetlenmiştir. (27,39)

Tablo 2.9. Dünya Sağlık Örgütü Tarafından Komplike Olmayan Bruselloz Tedavisinde Önerilen Tedavi Seçenekleri (27)

Önerilen rejim	**Erişkin dozu**	**Çocuk dozu**	**Tedavi süresi**
A. İlk seçenek			
Doksisiklin Streptomisin	2x100 mg/gün 1 g/gün im	8 yaşın altındaki çocuklarda önerilmez	6 hafta 2–3 hafta
Doksisiklin Gentamisin	2x100 mg/gün 5 mg/kg/gün iv/im	8 yaşın altındaki çocuklarda önerilmez	6 hafta 7–10 gün
TMP/SMZ Streptomisin	İlk seçenek rejim değil	8/40 mg/kg/gün 30 mg/kg/gün im	6 hafta 3 hafta
TMP/SMZ Gentamisin	İlk seçenek rejim değil	8/40 mg/kg/gün 5 mg/kg/gün iv/im	6 hafta 7–10 gün
B. Alternatif seçenek			
Doksisiklin Rifampisin	2x100 mg/gün 600–900 mg/gün oral	Çocuklara önerilmez	6 hafta 6 hafta
C. İkinci alternatif seçenek			
TMP/SMZ Rifampisin	2x (80 mg/400 mg) oral 600–900 mg/gün oral	8/40 mg/kg/gün 15 mg/kg/gün oral	6 hafta 6 hafta
TMP/SMZ Doksisiklin	2x (80 mg/400 mg) oral 2x100 mg/gün oral	Çocuklara önerilmez	6 hafta 6 hafta
TMP/SMZ Streptomisin	2x (80 mg/400 mg) oral 1 g/gün im	8/40 mg/kg/gün 30 mg/kg/gün im	6 hafta 2–3 hafta
Siprofloksasin Rifampisin	2x500 mg/gün oral 600–900 mg/gün oral	Çocuklara önerilmez	6 hafta 6 hafta
Siprofloksasin Doksisiklin	2x500 mg/gün oral 2x100 mg/gün oral	Çocuklara önerilmez	6 hafta 6 hafta

2.17. KORUNMA VE KONTROL

İnsan brusellozu, enfekte hayvanlarla direk temas veya dolaylı temas ile bulaşır. Bu nedenle insanlarda enfeksiyonun önlenmesi ve kontrolü de bu temas zincirinin kırılması ve hayvan rezervuarlarında enfeksiyonun kontrolü ve eliminasyonuna bağlıdır. Pratik olarak hayvanlarda bu enfeksiyonun kontrolü ve liminasyonu uzun soluklu enfeksiyon kontrol programları gerektirir. Ülkemizde insan Brusellozunun büyük çoğunluğunun iki şekilde bulaştığını görmekteyiz;

1. Meslek hastalığı olarak,

2. Gıda kaynaklı olarak.

Korunma ve kontrol önlemlerini bu başlıklar altında aşağıdaki gibi özetleyebiliriz.

2.17.1.Meslek Gruplarında Hijyenik Önlemlerin Alınması:

Bu enfeksiyonun yaygın olduğu Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu'da, aile hayvancılığının yaygın olarak yapıldığı bilinmektedir. Aile hayvancılığında, bütün aile bireylerinin hayvanlarla yakın teması vardır. Bu temasın azaltılması, kontamine materyaller ile bulaşın önlenmesi, bu aile bireylerinin eğitilmesinin kolay olamayacağını unutmadan, eğitim çalışmalarını sürdürmek gerekir. Ayrıca aile bireylerinin yaşam alanları ile hayvan barınaklarının uygun şekilde yapılandırılması da diğer bir çalışma alanıdır. Hayvan bakıcıları, çobanlar, mezbaha çalışanları, sütçüler, suni tohumlama yapan teknisyenler ve veteriner hekimlerin, enfekte hayvan dokuları, deri ve yünleri gibi hayvansal materyallerle devamlı temas riski vardır. Bu meslek grupları, Bruselloz, bulaşma yolları ve önlemler hakkında devamlı bilgilendirilmelidir. Ayrıca; mezbahaların uygun yapılandırılması, periyodik temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin usulüne uygun yapılması, çevre temizliği ve kontamine atıkların usulüne uygun şekilde yok edilmesi için gerekli önlemler alınmalıdır. İster aile hayvancılığında olsun, ister çiftlik hayvancılığında, kontamine hayvan atıklarının yok edilmesi, çevre dezenfeksiyonu usulüne uygun olarak yapılmalıdır. Çiftliklerde sanitasyon koşullarının standartlara uygunluğu sağlanmalı ve kontrol edilmelidir. Risk gruplarının kontamine materyal ile uğraşırken gerekli hijyenik kurallara uymalarının sağlanması gerekir. Potansiyel olarak kontamine hayvansal materyaller ile temas durumunda, çalışanlar uygun koruyucu giysiler giymelidirler. Materyalin özelliğine göre; su geçirmeyen eldiven, yüz koruyucu maske, göz koruyucu gözlük, su geçirmeyen önlük, aerosol

oluşturan bir iş ise respiratör kullanılmalıdır. İş bittikten sonra eller mutlaka yıkanmalıdır. Eğer vücudun her hangi bir yerine kontamine materyal bulaştı ise, bol su ile yıkanmalı veya hemen bol su ile banyo yapılmalıdır. Gözlere herhangi bir materyal sıçradığında yine konjunktivalar bol su ile yıkanmalıdır (27, 39).

2.17.2. Gıda Kaynaklı Bulaşın Önlenmesi

Toplumun büyük çoğunluğunun hayvanlarla doğrudan teması yoktur. Ancak pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile Bruselloz bulaşmaktadır. Enfekte sığır, koyun ve diğer süt veren hayvanların sütlerinde bol miktarda *Brucella* bakterisi bulunur. Bu sütlerden elde edilen krema veya peynir gibi süt ürünlerinde de bakteri konsantre olarak bulunur. Kaynatılmadan elde edilen yumuşak peynirlerde bakteri konsantrasyonu oldukça fazladır. Bu peynirler altı ay bekletilmeden tüketilmemelidir. Katı peynirler, laktik asit fermentasyonu ile elde edildiklerinden daha az bulaştırıcıdırlar. *Brucella* türleri ile enfekte hayvanın midesinden hazırlanan mayalarla elde edilen peynirlerde önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Tereyağ, ekşi süt, ekşimiş krema, yoğurt, bunlarda asidifikasyon işlemi nedeni ile daha az bulaş riski taşırlar. Eğer gıdada pH 3.5 altına düşer ise *Brucella* türleri bu asidik ortamda kısa sürede ölürler. Enfekte hayvan sütü katılarak hazırlanan dondurmalar yine önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Süt ve süt ürünleri ile Bruselloz bulaşını önlemenin en pratik yolu, sütün pastörize edilerek veya kaynatılarak kullanılmasının sağlanmasıdır. Her yerde sütün pastörize edilme olanağı olmayabilir. Bu durumda süt en az 80–85°C'nin üstünde birkaç dakika ısıtılmalı veya kaynatılmalıdır. Kaynatma, karıştırılarak yapılmalıdır. Süt ürünlerinin de kaynatılmış veya pastörize edilmiş sütten yapılması sağlanmalıdır. *Brucella* bakterisi, et dokusunda daha düşük konsantrasyonda bulunur. Böbrek, karaciğer, dalak, memeler ve testislerde yüksek konsantrasyonda bakteri bulunur. Enfekte etin işlemleri esnasında, mutfak malzemeleri ve ortamı kontamine olabileceği gibi, ayrı ve uygun şekilde paketlenmediğinde diğer gıdalar da kontamine olur. Etin kurutulması, tuzlanması, tütsüleme, *Brucella* bakterisini öldürmek için uygun yöntemler değildir. Benzer şekilde, etin buzdolabı veya derin dondurucuda saklanması da bakterinin canlılığını devam ettirmesini sağlar. Bu nedenlerle et ve et ürünleri iyi pişirilmeden tüketilmemelidir. Toplumun Bruselloz ve diğer zoonozlar konusunda bilinçlendirilmesi, risk gruplarının eğitilmesi, enfeksiyon kontrolü açısından son derece önemlidir (27,39).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.ARAŞTIRMANIN YAPILDIĞI YER VE ÖZELLİKLERİ

Isparta İli, Akdeniz Bölgesi'nin batı bölümünde ve iç kesiminde yer alır. "Göller Bölgesi"nin merkezi konumundadır. Isparta doğudan Konya'nın Beyşehir, Doğanhisar ve Akşehir ilçeleri; kuzeyden Afyon'un Çay, Şuhut, Dinar ve Dazkırı ilçeleri; batıdan Burdur'un Merkez, Ağlasun ve Bucak ilçeleri; güneyden ise Antalya'nın Serik ve Manavgat ilçeleri ile komşudur.Toplam nüfus 448.298, yüz ölçümü 8933 km²dir.

Tablo 3.1. Isparta İlinin İlçeleri ve Nüfusları (70)

İLÇELER	**MERKEZ**	**BELDE–KÖY**	**TOPLAM**
MERKEZ	222.556	21.489	244.045
EĞİRDİR	19.417	17.321	36.738
YALVAÇ	20.259	33.142	53.401
ATABEY	4.153	1.724	5.877
GÖNEN	3.567	4.508	8.075
KEÇİBORLU	7.049	8.118	15.167
ULUBORLU	6.385	1.086	7.471
SENİRKENT	6.303	7.307	13.610
GELENDOST	5.219	11.668	16.887
ŞARKİKARAAĞAÇ	9.849	17.518	27.367
YENİŞAR BADEMLİ	2.136	363	2.499
AKSU	1.947	3.212	5.159
SÜTÇÜLER	2.224	9.778	12.002

İlde Merkez ilçe ile birlikte, Aksu, Atabey, Eğirdir, Gelendost, Gönen, Keçiborlu, Senirkent, Sütçüler, Şarkikaraağaç, Uluborlu,, Yalvaç ve Yenişarbademli olmak üzere 13 ilçe vardır (Tablo 3.2). Merkez ilçeden sonra gelen en fazla nüfusa sahip ilçesi Yalvaç' tır. Nüfusu en az olan ilçe ise Yenişarbademli'dir (70).

İl'de tarımsal bitki üretiminin yanında, iklim koşulları ve toprak potansiyelinin uygun olması nedeniyle hayvancılık da gelişmiş bir tarım kolu haline gelmiştir. İl'de, büyük baş, küçük baş ve kümes hayvancılığının her türlüsü yapılmaktadır. Son yıllarda ilde uygulanan hayvan ıslah çalışmaları ile, gerek hayvan sayısında ve gerekse hayvansal ürünlerde dikkati çeken gelişmeler olmuştur Isparta ili, Türkiye'de özellikle gül yağı ve gül ürünleri üzerine önemli bir merkez haline gelmiştir(70).

3.1.1. Örnek Seçimi ve Uygulama

Çalışmamıza iki aşamalı olarak başlandı.

Birinci aşama da retrospektif olarak 2007 Ocak – 2011 Temmuz Ayları arası 4 yıllık, *Brucella* şüphesi ile laboratuara yönlendirilen hastaların ad, soyad, yaş, meslek, ve *Brucella* pozitif olanların diğer laboratuar tetkiklerinin bilgiişlem kanalıyla elektronik ortamdan temin edildi, bir kısmı da poliklinik ve laboratuar defterlerinin taranarak temin edildi. Isparta Devlet Hastanesi (IDH), Gülkent Devlet Hastanesi (GDH), Isparta Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi (IDÇHH), Eğirdir Kemik Eklem Hastalıkları Tedavi ve Rehabilitasyon Hastanesi (EKEHH), verileri toplanarak Excel Formatında kaydedildi.

Bölgemizde üçüncü basamak sağlık hizmeti veren Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi verilerinde çok fazla mükerrer isim olduğundan istatistiksel açıdan daha doğru ve sağlıklı sonuçlar elde etme adına ilgili hastane çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca diğer hastanelerde bazı yıllarda verilerde eksik ve aksaklıklar olduğu, her değişen bilgi işlem şirketinin eski verileri kendi programına uyarlamada zorluklar yaşandığından, verilerin tüm hastanelerde ortak olarak en sağlıklı olduğu 2007–2011 tarihleri arası retrospektif araştırmaya dahil edildi. Bu durum da toplam 24343 dosya retrospektif olarak taranmış oldu. Hastanelerden elde edilen verilerde farklı hastanelere başvuran aynı kişilerin dikkatlice ayıklanması sağlandı. 2007–2011 tarihleri arasındaki veriler tüm hastaneler için önce ayrı ayrı hazırlandı ve sonradan tamamı birleştirilerek tek form halinde excel formatında kaydedildi. Daha sonra elde edilen verilerden, hangi poliklinikten hangi şikayetle başvurdukları, vakaların aylara göre dağılımı, cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı, meslek gruplarına göre dağılımı, Rose Bengal Testi sonuçları, SAT testi titrasyonları ile hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin dağılımı yapılarak aralarındaki ilişki karşılaştırıldı. Diğer Ulusal, Uluslararası ve bölgesel çalışma sonuçları ile karşılaştırılarak analizler yapıldı.

Çalışmamızın ikinci aşamasında ise 2009–2011 tarihleri arasında Rose Bengal (+) çıkan 87 hasta serumun da SAT yapılarak, hastaların serumları kullanılıncaya kadar –20˚C ’de derin dondurucuda muhafaza edildi , ELİSA tekniği ile *Brucella* IgG ve *Brucella* IgM çalışıldı ve sonuçların karşılaştırmalı analizi yapıldı.

3.1.2.Antijenler

3.1.2.1. Rose Bengal Antijeni

Rose Bengal Lam Testi Antijeni: *B. abortus* S99 suşundan hazırlanmış, standart *Brucella* antiserumu ile standardize edilmiş ve Rose Bengal boyası ile boyanan *Brucella* abortus bakterilerinin tamponlu tuzlu sudaki standart süspansiyonunu içeren Pendik Veteriner Araştırma Enstitüsü, İstanbul'dan elde edilen antijen kullanıldı.

3.1.2.2.Wright Antijeni

Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Antijeni: *B. abortus* S99 suşu ile hazırlanmış; standart *Brucella* antiserumu ile standardize edilmiş; *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis* teşhisinde kullanılan antijen; İstanbul Pendik Veteriner Araştırma Enstitüsü'nden elde edilen antijen kullanıldı.

3.1.2.3. Enzyme–Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) Antijeni

Ticari kit(NovaLisa, tecnologie&Waldpark.GERMANY) kullanıldı.

3.1.3.Tampon Sıvılar

3.1.3.1.Fenollu Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)

% 0,85'lik NaCl içerisine % 5'lik fenol ilave edilerek hazırlandı

3.1.3.2.Tamponlu Yıkama Solüsyonu

ELISA'da serum ve konjugat sulandırılmaları ile yıkama işlemlerinde kullanıldı. Yıkama solüsyonu 1 litre distile su icerisine, ELISA test kiti içerisinde bulunan yıkama solüsyonundan 50 mililitre (ml) ilave edilerek hazırlandı.

3.1.4.Araçlar ve Aygıtlar

- Steril enjektor (5 ml) (Hayat)
- Pamuk
- Turnike
- Non steril cerrahi eldiven
- 5 ml vacutainer tup
- Spor
- Ependorf (3ml)
- Temiz beyaz fayans ve temiz kurdan

- 10 × 100 ml'lik steril serolojik tüpler
- Pipet (100, 1000 µm)
- Derin dondurucu (–20˚C)
- Etüv
- Buzdolabı
- Santrifuj
- 450/650 nm dalga boyunu ölçebilen Mikro ELİSA cihazı ve yıkama cihazı
- Vortex tüp mixer
- ELISA Test prosedürü
- Yazıcı

3.1.5.Serolojik Testlerin Uygulanması

3.1.5.1.Rose–Bengal Testi

Ön Hazırlık

Antijen; kullanıma başlamadan önce 15 dakika oda ısısında tutuldu ve iyice çalkalandı.

Temiz plastik plaklar ve kürdan temin edildi.

Testin uygulanışı;

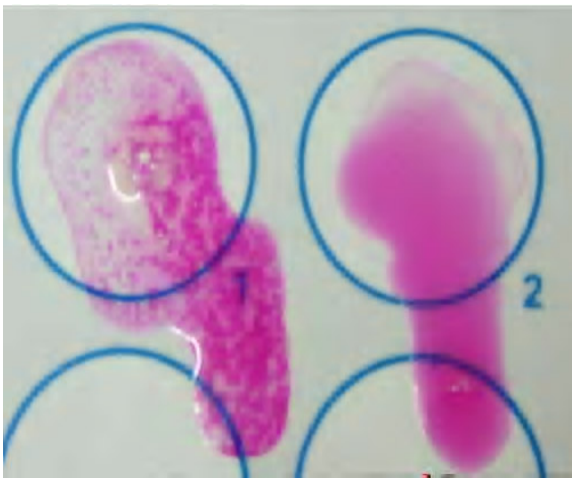
1.Temiz plak üzerine 0.05 ml hasta serumu damlatıldı.

2.Bunun üzerine 0.05 ml Rose Bengal Lam Testi Antijeni eklendi.

3.Antijen ve serum kürdan ile karıştırılarak 1.5 cm çaplı alana yayıldı.

4.Plak; elde dairesel hareketler yapılarak 4 dakika çevrildi.

5.Sonuçta iri tanecikli kümeleşme oluşumu pozitif, homojen görünüm ise negatif aglütinasyon olarak değerlendirildi.



Şekil 3.1. Rose Bengal Test Antijeni ve Uygulanması

3.1.5.2.Wright Tüp Aglütinasyon Testi

Ön Hazırlık

1. Standart *Brucella* Antijeni kullanılmaya başlamadan 15 dakika önce oda ısısına getirildi ve iyice çalkalandı.

2. Serum sulandırımı için 6 adet temiz tüp ve 1 adet kontrol tüpü (140X100mm) hazırlandı.

3. 1 ml ve 5 ml'lik steril cam pipetler hazırlandı.

4. Fizyolojik tuzlu su (% 0.9)

Testin uygulanışı;

1.Her serum için 6 adet serolojik tüp ve 1 adet kontrol tüpü ile çalışıldı.

2.İlk tüpe 0.9 ml, diğerlerine 0.5 ml fizyolojik tuzlu su konuldu.

3.İlk tüpe 0.1 ml hasta serumu eklendi ve karıştırıldı. Birinci tüpten 0.5 ml ikinci tüpe ve 2. tüpten 0.5 ml 3. tüpe aktarıldı.6. tüpe kadar işleme devam edildi ve 6.tüpten 0.5 ml dışarı atıldı. Kontrol tüpüne serum bırakılmadı

4.Tüplerde serum dilüsyonları 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 oldu.

5.Tüm tüplere 7.kontrol tüpü de dahil olmak üzere 0.5 ml Standart *Brucella* Tüp Aglütinasyon Antijeni eklendi. Böylece son serum sulandırımları 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 oldu.

6.Tüpler karıştırıldı ve 37˚C'de 24 saat inkübe edildi.

7.İnkübasyonu takiben tüpteki sıvının berraklaşması, aglütinasyonun tüpün dibinde yaygın bir şekilde görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

8.En son aglütinasyon görülen tüpün titresi pozitif değer olarak kabul edildi.

Şekil 3.2. Wright Aglütinasyon Testi Uygulanması

3.1.5.3.ELISA Testi

Ön hazırlık;

1.Derin dondurucudan alınan serum örnekleri oda ısısın da bekletilerek çözülmeleri sağlandı

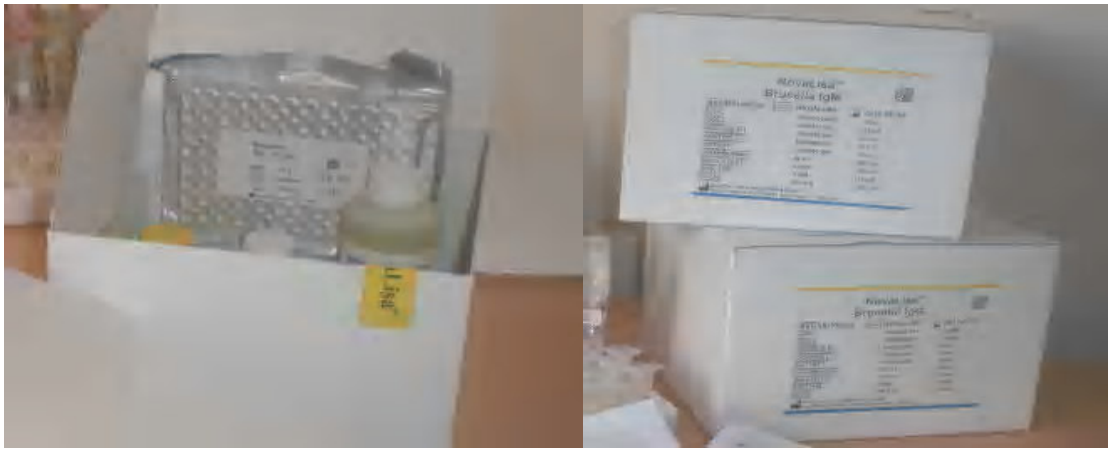
2.Serumlar çözüldükten sonra vortex tüp mixerde karıştırılması sağlandı

3.Test prosedürü dikkatlice okunarak uygulamaya geçildi

4.NovaLisa Ticari ELISA Kiti kullanıldı.

Testin uygulanışı;

Ticari ELISA kiti, kendi imkanlarımızla temin edildi. Testin uygulanması için gerekli izinler alınarak Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuarında üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı.

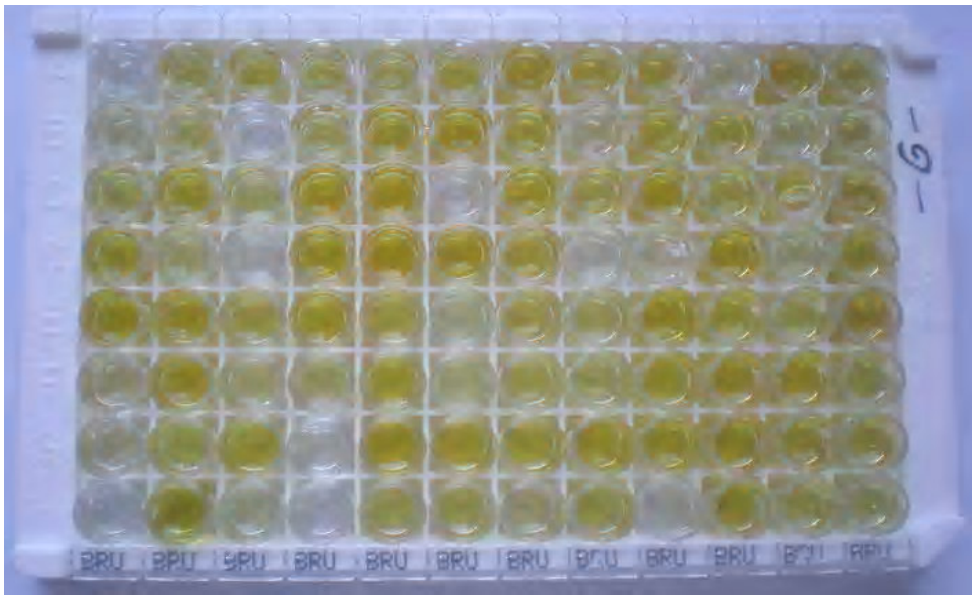


Şekil 3.3. ELISA Kitleri (Human brucellosis Igm, Human brucellosis Igg)

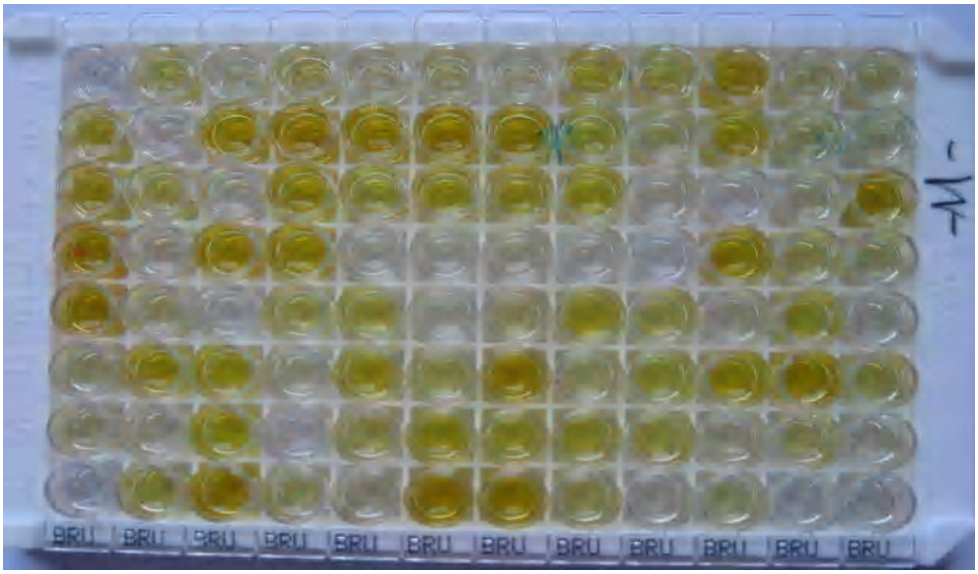
Şekil 3.4. Mikro Elisa Cihazı (Organan Tecnika OT 210)

1. Doksanaltı kuyucuklu pleytin dört kuyucuğunun biri pozitif kontrol, biri negatif kontrol diğer ikisi ise cut–off serumlar için kullanıldı.
2. Her bir kuyucuğa 100 µl sulandırma sıvısı eklendi. Kuyucuklardan bir tanesine negatif serum, bir tanesine pozitif serum, iki tanesine de cut–off serumlarından 5'er µl eklendi.
3. Kalan diğer kuyucuklara ise 5'er µl test edilecek serumlardan eklendi

4. Daha sonra üzeri şeffaf bantla kaplanarak 1 Saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
5. Bu süre sonunda 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı
6. 100 µl *Brucella* anti–IgG konjugat eklendi
7. Üzeri şeffaf bantla kaplanıp 30 dakika oda ısısında bekletildi ve direk güneş ışığından korundu
8. İnkübasyon işleminin sonunda 5 kez yıkama solüsyonu ile kuyucuklar yıkandı.
9. Her bir kuyucuğa 100'er µl substrat eklendi
10. 15 dakika oda ısısında karanlık bir ortamda bekletildi.
11. Hemen sonra 100 µl stop solüsyonu eklendi.
12. Stop solüsyonu eklendikten 30 dakika sonra 450/620 nmdalga boyunda ELISA okuyucuda (Organan Tecnika OT 210) okundu.
13. Aynı aşamalar üretici firmanın talimatları doğrultusunda NovaLisa Human brucellosis IgG için de yapılarak sonuçlar yazıcıdan çıkarıldı.
14. Antikor indeksi üretici firmanın talimatına göre yapıldı.



Şekil 3.5. ELISA Kiti Human brucellosis IgG'nin Test Protokolü Uygulandıktan Soraki Durumu



Şekil 3.6. ELISA Kiti Human brucellosis IgM nin Test Protokolü Uygulandıktan Soraki Durumu

Tablo 3.2. Testlerin Yorumu İçin Tablo

	Değer	**Birim**
Cut–off	10	NTU (NovaTec–Units)
Gri bölge (şüpheli)	9–11	NTU (NovaTec–Units)
Negatif	<9	NTU (NovaTec–Units)
Pozitif	>11	NTU (NovaTec–Units)

Serum örneğinin optik dansitesinin cut–off serum ortalamasına bölünmesi ve sonucun onla çarpılması ile hesaplandı. Çıkan sonuç <9 negatif, 9–11 arası şüpheli ve >11 ise pozitif olarak değerlendirildi. Şüpheli serum sonuçları negatif serumlara dahil edildi. Sonuçlar üretici firmanın talimatları doğrultusunda NTU (NovaTec–Units) olarak kaydedildi (Tablo 3.2).

3.2. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Windovs 7 ultimate bilgisayar programı kullanılarak veriler bilgisayara Excel formatında işlenerek değerlendirmeye alındı. Grafik ve tablolar elde edildi. İstatistiksel analize ihtiyaç duyulan veriler için SPSS 11.0 istatistik programı ile değerlendirildi. İstatistiksel analizde ikili karşılaştırmalar için **Mann-Whitney U** Testi, ikiden fazla karşılaştırmalar için ise **Kruskal-Wallis Testi** uygulandı.

4. BULGULAR

01.01.2007–01.07.2011 yılları arasında 4 yıllık çalışmaya alınan IDH, (Isparta Devlet Hastanesi), GDH (Gülkent Devlet Hastanesi), EKHTH (Eğirdir Kemik Eklem Hastalıkları Tedavi ve Rehabilitasyon Hastanesi), YDH (Yalvaç Devlet Hastanesi), IKÇHH (Isparta Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi) laboratuarlarına çeşitli kliniklerden Bruselloz şüphesiyle gönderilen 24343 serum örneği incelendiğinde; Beyin cerrahisi 7030 (%29), Dahiliye 6520 (%27), FTR 4509 (%19), İntaniye 2771 (%11), Nöroloji 1757 (%7), Ortopedi 1020 (%4), Pediatri 260 (%1), Kadın Doğum 179 (%0.7), Üroloji 80 (%0.3), Genel Cerrahi 66 (%0.2), Psikiyatri 57 (%0.2), Göğüs Hastalıkları 53 (%0.2), Kardiyoloji 18 (%0.07), Cildiye 8 (%0.03), Göz hastalıkları 7 (%0.02), Göğüs cerrahisi 5 (%0.02), Kalp Damar Cerrahisi 3 (%0.01), serum örneği şeklinde dağılmıştır (Tablo 4.1).

Isparta ili ve yöresinde *Brucella* şüphesi ile izlenen hastalar 2007 – 2011 yılları arasında retrospektif olarak incelenmiş 24343 serum örneğinden 610 (% 2.5) serum örneği Rose–Bengal pozitif bulunmuştur. Wright aglütinasyon testinde 1/160 ve üzerinde pozitif sonuç veren örnek sayısı 382 (% 1,5), ≥1/80 pozitif sonuç veren örnek sayısı 155 (% 0.6) , ≥1/40 pozitif sonuç veren örnek sayısı 51 (% 0.2). olmuştur. Wright aglütinasyonu deneyinin 1/160 ve üzerindeki titrelerde pozitif sonuç veren serumlarla birlikte, 1/40 ve 1/80 titrelerde pozitif bulunduğu serumların tümünde Rose–Bengal testi de pozitif bulunmuştur (Tablo 4.2).

Tablo 4.1. Olguların Kliniklere Göre Dağılımı

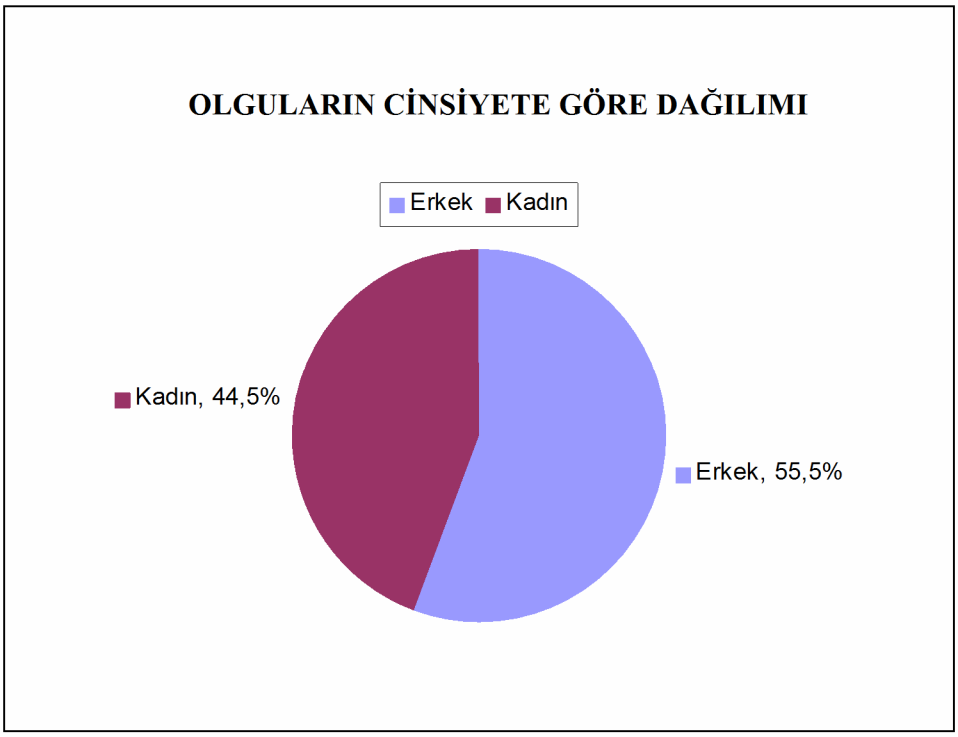
Poliklinik Adı	**İstenen Tetkik Adedi**	**RB ESTİ (+)**
Beyin cerrahisi	7030	80
Dahiliye	6520	98
FTR	4509	45
İntaniye	2771	339
Nöroloji	1757	8
Ortopedi	1020	16
Pediyatri	260	10
Kadın doğum	179	4
Üroloji	80	5
Genel cerrahi	66	2
Psikiyatri	57	-
Göğüs hastalıkları	53	2
Kardiyoloji	18	1
Cildiye	8	-
Göz hastalıkları	7	-
Gögüs cerrahisi	5	-
Kalp damar cerrahisi	3	-
TOPLAM	**24343**	**610**

24343 serum örneğinden 610 (% 2.5) serum örneği Rose–Bengal pozitif bulunmuştur. Wright aglütinasyon testinde 1/160 ve üzerinde pozitif sonuç veren örnek sayısı 382 (% 1,5) olarak bulunmuş. 382 hasta Bruselloz kabul edilerek klinik bulgular, hematolojik ve biyokimyasal parametreler açısından değerlendirmeye alındı.

Tablo 4.2. Olguların Rose–Bengal ve SAT Sonuçlarına Göre Dağılımı

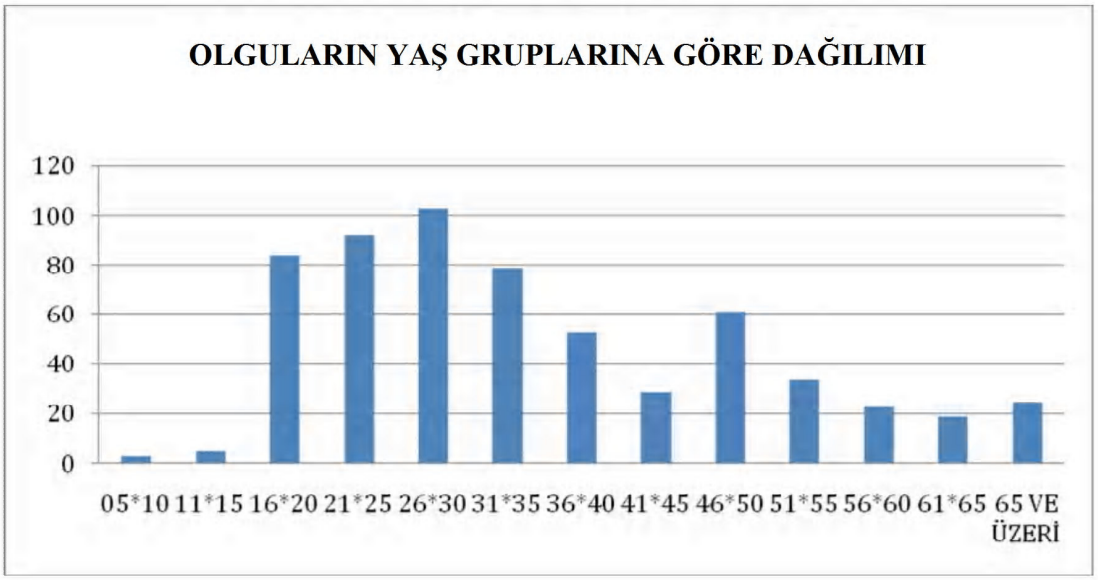
Serum sayısı	24343	12	51	55	178	93	60	51
Rose–Bengal testi	–	+	+	+	+	+	+	+
SAT titresi	–	–	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	>1/640

RBPT Pozitif çıkan 610 hastanın 314 (% 51,5), ü Erkek, 296 (% 48,5)'si Kadın olarak bulundu (Şekil 4.1). Kadın–erkek oranı görüldüğü gibi birbirine yakın bulundu. Bruselloz kabul edilen RBT'i(+) ve SAT 1/160 ve üzeri olan 382 hastanın 212(%55.5)si erkek 170(%44.5) i kadın olarak bulundu.



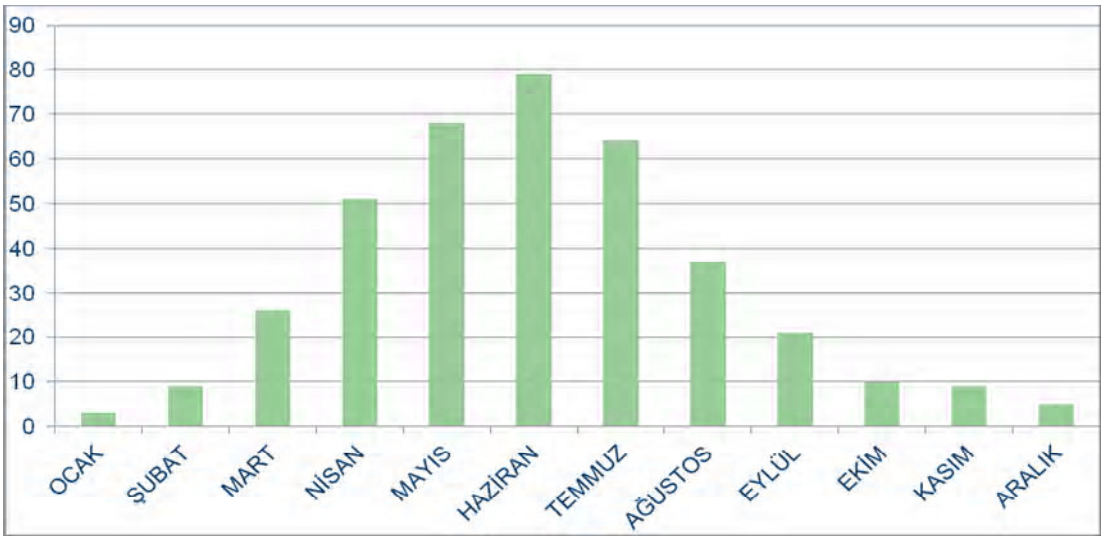
Şekil 4.1. Olguların Cinsiyete Göre Dağılımı

Olgularımızın yaş grubu dağılımına baktığımızda en fazla vaka 25–30 yaşında görülmekle beraber 15 ve 35 yaş grubu aralığı vakalarımızın % 59'unu oluşturmaktadır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Olguların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Hastaların; % 52'sinde (n=198) semptomların ilkbahar, % 32'sinde (n=122) yaz, % 6'sında (n=24) sonbahar, % 10'unda (n=38) ise kış aylarında başladığı saptandı. Hastaların şikayetlerinin başlangıç tarihleri Şekil 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.3. Olguların Aylara Göre Dağılımı

Tablo 4.3. Olguların Meslek Gruplarına Göre Dağılımı

Meslek Grubu	**Sayı**	**%**
Tarım ve Hayvancılık	92	24
Ev hanımı	71	19
Emekli	62	16
Öğrenci	59	15
Serbest Meslek	52	14
Memur	40	10
Hastane çalışanı	4	1
Hayvan sağlığı çalışanı	2	1
T O P L A M	382	100

Bu hasta grubunun meslek gruplarına göre dağılıma baktığımız da; Tarım ve hayvancılık sektöründe çalışanlar 92 (% 24), serbest meslek 52 (% 14), Memur 40 (% 10), Emekli 62 (% 16), Ev hanımı 71(% 19), Öğrenci 59 (% 15), Hastane çalışanı 4 (1), Hayvan sağlığı işinde çalışan 2 (% 1), olarak bulunmuştur (Tablo 4.3).

382 hastanın hastaneye en çok hangi şikayetlerle başvurdukları araştırılmış: ateş 355 (% 93), bel ağrısı 290 (% 76), eklem ağrısı 252 (% 66), gece terlemesi 271 (% 71), kas ağrısı 305 (% 80), halsizlik 343 (% 90), baş ağrısı 160 (% 42), kilo kaybı 84 (% 22). bulantı kusma 99 (% 26), hareket kısıtlılığı 133 (% 35),karın ağrısı 30 (% 8), öksürük 22 (% 6), testiste şişlik 8 (% 2) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Olguların Başvuru Şikayetlerine Göre Dağılımı

Başvuru Şikayetleri	**Sayı (n)**	**Yüzde (%)**
Ateş	355	93
Halsizlik	343	90
Kas ağrısı	305	80
Bel ağrısı	290	76
Gece terlemesi	271	71
Eklem ağrısı	252	66
Baş ağrısı	160	42
Hareket kısıtlılığı	133	35
Bulantı Kusma	99	26
Kilo kaybı	84	22
Karın ağrısı	30	8
Öksürük	22	6
Testiste şişlik	8	2

Hastalarımızın laboratuar bulgularına baktığımızda; Lökopeni % 18 (n=63), Lökositoz % 6 (n=21), % 78 (n=298)'ünde ise lökosit normal sırlarda tespit edilmiştir. Anemi erkeklerde % 11 (n=42), kadınlarda % 42 (n=160) bulundu. Trombositopeni % 37 (n=141), ALT de yükselme % 41 (n=156), AST de yükselme % 47 (n=179), Sedimantasyon yüksekliği % 63 (n=240) ve CRP de yükselme ise % 85 (n=324) olarak bulundu (Tablo 4.5).

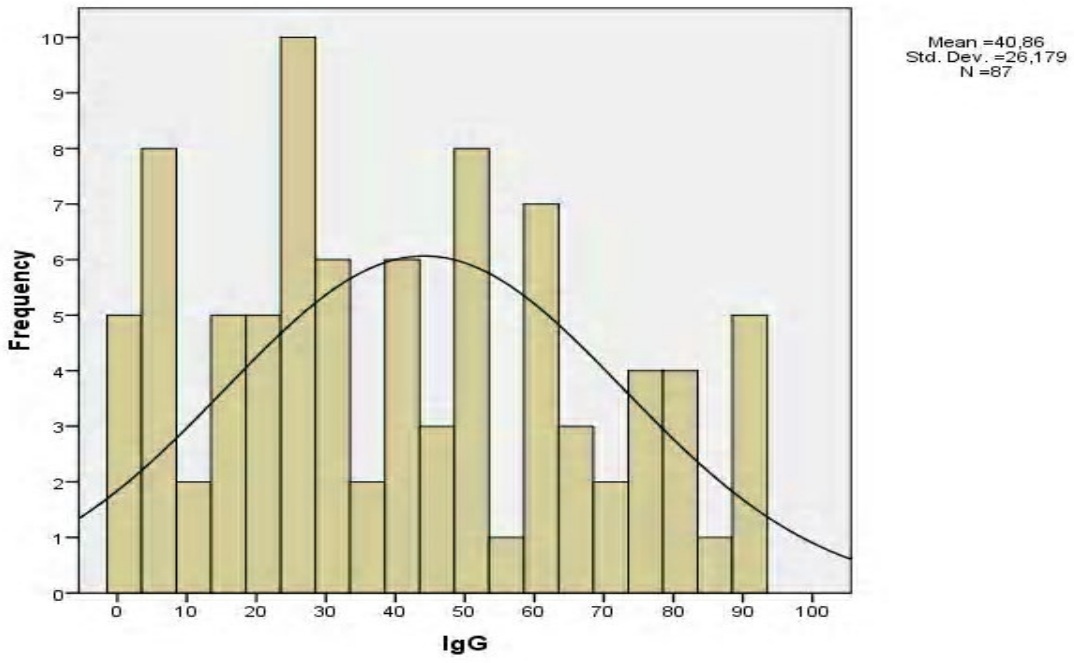
Tablo 4.5. Olguların Laboratuar Bulgularına Göre Dağılımı

Laboratuar Bulguları	**n**	**(%)**
Beyaz küre/µl		
<4600	63	16
4600–10 200	298	78
>10 200	21	6
Hemoglobin		
Erkekler icin <14 gr/dl	42	11
Kadınlar icin <12 gr/dl	160	42
Trombosit <142 000/µl	141	37
ALT >35 İU/lt	156	41
AST >40 İU/lt	179	47
ESR >20 mm/saat	240	63
CRP >8 mg/dl	324	85

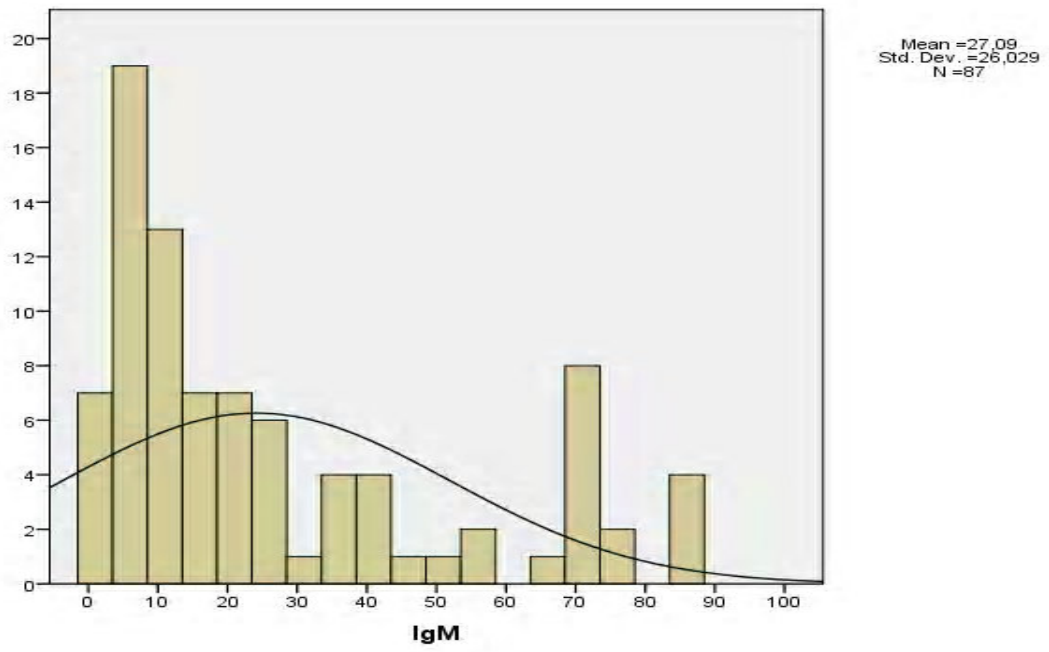
Çalışmamızın ikinci kısmında ise 2009 yılı temmuz ayında başlayıp 2011 temmuz ayları arasında topladığımız RBT (+) ve SAT 1/160 ve üzeri olan 86 Serum örneğinde ELİSA yöntemi ile *Brucella* IgG ve *Brucella* IgM çalışılarak testler arasında karşılaştırma yapıldı. ELISA yönteminde *Brucella*–IgM ve IgG değerlerinin >11 NTU (Nova Tec Units) saptanması pozitif olarak değerlendirildi. Vakaların % 83 (n=71)'ünde IgG Pozitif çıkarken, % 64 (n=55)'ünde IgM Pozitif çıkmıştır. *Brucella* IgM ve IgG'nin her ikisinin de pozitif çıktığı vaka sayısı ise 47 iken 4 vakada *Brucella* IgG ve M Negatif çıkmıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Olguların Test Sonuçlarına Göre Dağılımı

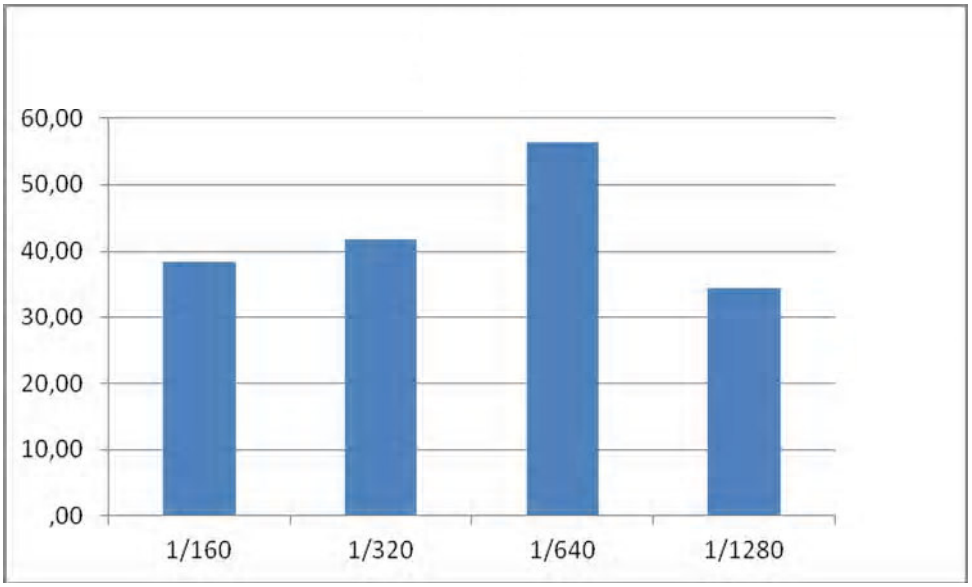
ELISA-SAT	**Sayı**
ELISA IgG (+)	71
ELISA IgG (-)	16
ELISA IgM (+)	55
ELISA IgM (-)	32
IgG ve IgM (+)	47
IgG ve IgM (–)	4
S A T 1/160	56
S A T 1/320	12
S A T 1/640	11
S A T 1/1280	8



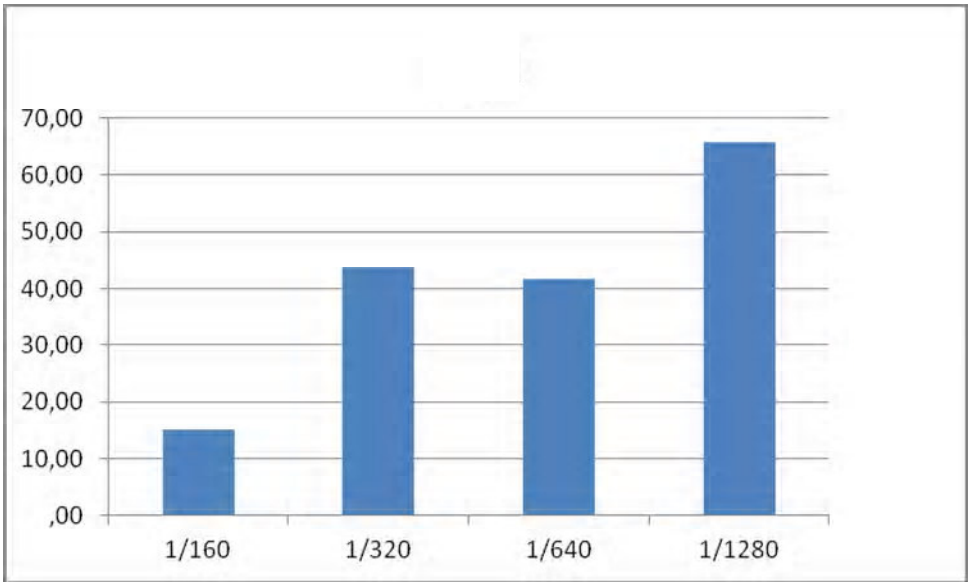
Şekil 4.4. Olguların IgG Düzeyine Göre Dağılımı



Şekil 4.5. Olguların IgM Düzeyine Göre Dağılımı



Şekil 4.6. Olguların SAT ve IgG Oranları



Şekil 4.7. Olguların SAT ve IgM Oranları

Brucella pozitif hastalardaki IgM seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p< 0.005$) . IgM seviyesi ile 1/160, 1/320 1/640 ve 1/1280 STA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. IgG ise 1/640 da anlamlı bulunmuştur ($p<0.005$).

Ig M seviyeleri SAT seviyeleri arttıkça düzenli olarak yükseldiği, IgG seviyeleri ile SAT seviyesi arasındaki ilişkiye baktığımızda ise sadece 1/640 da yükselme olduğu gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada önemli halk sağlığı problemlerinden biri olan Brusellozda genel enfeksiyon belirtilerinin yanında özgül klinik belirtilerin olmamasından dolayı laboratuvar tanı yöntemleri ön plana çıkmıştır.

Tok ve ark. (71), tarafından yapılan bir çalışmada bruselloz şüphesiyle gönderilen 520 serum örneğinden 56'sında Rose–Bengal testi pozitif bulunmuş (% 10,7), Wright aglütinasyon testinde ≥1/160 pozitif sonuç veren örnek sayısı 18 (% 3,4), ≥1/80 pozitif sonuç veren örnek sayısı 7 (% 1,3) ≥1/40 pozitif sonuç veren örnek sayısı 14 (% 2,7) olarak tespit edilmiştir. Bu testlerin hepsinde hastaların Rose–Bengal test sonuçları da pozitif olduğu bildirilmiştir. Yetkin ve ark.(72), tarafından yapılan çalışma da 2005 yılında çeşitli kliniklerden bruselloz şüphesiyle gönderilen 3191 serum örneğinden 362'sinde Rose–Bengal testi pozitif bulunmuştur (% 11.3). Wright aglütinasyon testinde 1/160 ve üzerinde pozitif sonuç veren örnek sayısı 223 (% 7) olmuştur. Wright aglütinasyonu deneyinin 1/160 ve üzerindeki titrelerde pozitif sonuç veren serumlarla birlikte, 1/40 ve 1/80 titrelerde pozitif bulunduğu serumların tümünde Rose–Bengal testi de pozitif bulunmuştur. Wright testinin negatif sonuç verdiği 2838 serum örneğinin 9'unda (% 0.3) Rose–Bengal testi pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Mehli ve ark. (73) yaptıkları çalışmada Standard tüp aglütinasyon testi ile pozitif saptanan 85 olgunun % 87'sinde Rose Bengal testi pozitifliği saptanmışlar. STA'da titre arttıkça Rose Bengal pozitifliğinin % 100'lere vardığı görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise 24343 serum

örneğinden 610 (% 2.5) serum örneği Rose–Bengal pozitif bulunmuştur. Wright aglütinasyon testinde 1/160 ve üzerinde pozitif sonuç veren örnek sayısı 382 (% 1,5) olarak bulunmuş.1/80 pozitif sonuç veren örnek sayısı 155 (%0.6) , 1/40 pozitif sonuç veren örnek sayısı 51 (%0.2) olarak tespit edildi ve STA da titre arttıkçe RB pozitifliğinin % 100'lere vardığı görüldü.Çalışma sonuçlarımızın diğer çalışmalardan farklı çıkma sebebi bölgesel farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda brusellozun cinsiyetle ilişkili bir hastalık olmadığı bildirilmektedir. Ancak bazı serilerde erkek, bazı serilerde ise kadınlarda yüksek oranda seropozitiflik olduğu dikkati çekmektedir. Isparta'da Koşar ve ark. (74). tarafından yapılan çalışmada 280 brusellozlu hasta incelenmiş olgularda kadınların % 64'lük bir kesimi oluşturduğu, bunun da kırsal kesimde hayvan bakımı, süt ve süt ürünlerinin hazırlanmasında genellikle kadınların çalışmasına bağlanabileceği bildirilmiştir . Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve enfeksiyon Hastalıkları kliniğinde 1998 – 2005 yılları arasında Bruselloz tanısı konulan 65 hasta retrospektif olarak incelenmiş ve Olguların 32'si (% 49.2), kadın, 33'u (% 50.8) erkek olarak bulunmuştur (75). Buzgan ve arkadaşlarının (76), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hakkari Devlet hastanesi, Gaziantep Devlet Hastanesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniklerinde takip edilen 1028 hastada yaptıkları araştırmada hastaların % 52.4 (539)'ünün kadın, % 47.6 (489)'sının erkek olduğunu, Geyik ve ark.(77), Dicle Üniversitesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde 1994–2001 yıllarında bruselloz tanısı alan 154 hastada yaptıkları araştırmada hastaların % 46'sının erkek % 54'unun kadın olduğunu, Çağatay ve ark.(78), İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde 1996–2001 yıllarında yatan veya poliklinikten takip edilen 36 hastada yaptıkları retrospektif araştırmada, hastaların % 39'unun erkek, % 61'inin kadın olduğunu, Buzğan ve ark.(79), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde 1994–2001 yıllarında yatan veya poliklinikten takip edilen 534 hastada yaptıkları araştırmada hastaların % 48.3'unun erkek, % 51.7'sinin kadın olduğunu bildirmişlerdir. Çetinkaya ve ark.(80), Afyon'un kırsal bölgelerinde yaptıkları çalışmada, kadınlarda % 6.3, erkeklerde % 3.1 oranında seropozitiflik saptamışlardır. Ünsal ve ark. (81), Eskişehir kırsalında yaptıkları çalışmada RBT pozitifliğini kadınlarda (% 20.6), erkeklerden daha yüksek (% 15.8) olarak saptamışlardır. Kadınlarda oranın yüksek olmasını ise

kadınların hayvanlarla daha çok uğraşmasına bağlamışlardır. Bazı çalışmalarda da hastalığın erkeklerde daha yaygın olduğu bildirilmektedir. Tansel ve ark.(82), Edirne'de Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 1994–2001 tarihleri arasında Bruselloz tanısı olan 40 olguluk seride retrospektif olarak yaptıkları çalışmada hastaların % 76.5'inin erkek, % 23.5'inin kadın olduğunu, Demirdağ ve ark.(83), Elazığ'da Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde 1995–2001 yıllarında yatan 146 hastada yaptıkları araştırmada, hastaların % 59.5'inin erkek, % 40.5'inin kadın olduğu bildirmişlerdir. Doyuk ve ark.(84), Eskişehir'de Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde 1994–2000 yılları arasında 61 olguyu inceledikleri araştırmalarında erkeklerde % 66, kadınlarda % 44, Gür ve ark.(85), Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde bruselloz tanılı 283 hastayı retrospektif olarak inceledikleri çalışmalarında, erkeklerde % 51, kadınlarda % 49, Dabanlıoğlu ve ark. (86), 1715 vakalık seride yapmış oldukları çalışmada kadınlarda % 37.7, erkeklerde % 63.3 oranında seropozitiflik bulmuşlardır. Sümer ve ark.(87), kadınlarda % 5.1, erkeklerde % 12.5 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Bruselloz cinsiyet ayrımı göstermemekle birlikte; hayvan yetiştiriciliği, mezbaha işçiliği, veterinerlik ve sağlık memurluğu gibi bruselloz yönünden riskli mesleklerde çalışanların genellikle erkekler olması nedeniyle, enfeksiyonun erkeklerde görülme oranı yüksek olabilir. Brusellozun insidansının düşük olduğu ülkelerde, mesleksel risk nedeniyle hastalığın erkeklerde daha yaygın olmasına karşın, endemik olduğu ülkelerde cinsiyet farkı olmadığı bilinmektedir (36). Bizim çalışmamızda RBT'i pozitifliği açısından erkeklerle kadınlar arasında fark bulunamamıştır. Bu sonuçlar da ülkemizde bildirilen vaka serileriyle benzer sonuçlar olduğu dolayısıyla literatürle uyumlu çıkmıştır. Bruselloz kabul edilen RBT'i(+) ve SAT 1/160 ve üzeri olan 382 hastanın 212(%55.5)si erkek 170(%44.5) i kadın olarak bulunmuş ve yine literatürle benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Olgular yaş grupları açısından incelendiğinde ise farklı değerlendirmeler dikkati çekmektedir. Taşova ve ark.(88), Adana'da 238 olguluk seride 45 yaş ve üzerinde prevalansı yüksek bulurken, Ünsal ve ark.(81), Eskişehir iline bağlı toplam 54 köyde 2602 kişide yaptıkları araştırmada seropozitifliği en çok 20–29 yaş grubunda olduğunu tespit etmişlerdir. Gür ve ark.(85), Diyarbakır'da 283 hastayı retrospektif olarak inceledikleri çalışmalarında hastaların % 63'unun 15–45 yaş grubunda % 19'unun 7–14

yas grubunda olduğunu göstermişlerdir. Çetinkaya ve ark.(80), 50 yaşın üstündeki yas gruplarında seropozitifliğin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sümer ve ark.(87), en yüksek seropozitifliği % 16.7 ile 20 yaş altı ve % 14.8 ile 30–39 yaş gruplarında tespit etmişlerdir. Kaleli ve ark.(89), 17–49 yaş grubunda seropozitifliği % 8.9, 50–69 yas grubunda ise % 15.5 olarak bulmuşlardır Al Sekait (90), yaptığı çalışmada yaş grubu ilerledikçe *Brucella* seropozitifliğinin arttığını rapor etmiştir. Bizim çalışmamızda Vakalarımızın yaş grubu dağılımına baktığımızda en fazla vaka 25–30 yaşında görülmekle beraber 15 ve 35 yaş grubu aralığı vakalarımızın % 59'unu oluşturmaktadır ve diğer çalışmalarla farklı sonuçlar olsa da Gür ve ark.(85) yapmış olduğu çalışmalarla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Türkiye'de hastalık, yılın tüm aylarında görülebilmekle birlikte ilkbahar ve yaz aylarında; insanların kırsal kesime seyahat etmesi, koyunların yavrulama dönemi olması ve taze peynir yapımının ve tüketiminin artması sebebiyle daha sıktır. Vakalarımızın % 77 si ilkbahar–yaz mevsiminde görülmüştür (Şekil 4.4). Gür ve ark.(85) vakaları % 68 ini ilkbahar ve yaz aylarında tespit etmişler, Savaş ve ark.(91) çalışmalarında vaka sayısını en yüksek temmuz ayında, en düşük ise ocak ayında rapor etmişlerdir. Lulu et al. (92) vakaların % 78'ini ilkbahar yaz aylarında olduğunu ve nisan mayıs aylarında pik yaptığını rapor etmişlerdir. Roushan et al (93) çalışmalarında vakaların % 25 ilkbahar, % 40.1 yaz, % 22 sonbahar, % 12.8 kış mevsimi olarak rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise vakaların; % 52'i ilkbahar, % 32'i yaz, % 6'sı sonbahar, % 10'u ise kış aylarında görüldü ve mevsimlere göre dağılımı diğer çalışmalarla benzer bulundu.

Brucella olgularının % 76.7–87'sinde başta hayvancılık ile çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimi olmak üzere en az bir epidemiyolojik kaynağın saptandığı bildirilmektedir (87). Hastalığın endemik olduğu ülkelerde başlıca bulaşma yolu pastorize edilmemiş sut ürünlerinin tüketimi iken, gelişmiş ülkelerde daha çok temas ve inhalasyon yolu ile bulaşmanın ön planda olduğu görülmektedir. Hayvancılıkla uğraşanlar, veteriner hekimler ve laboratuar personeli gibi bazı meslek grupları Bruselloz açısından risk taşıyabilecek mesleklerdir (94). Altındiş (95), Afyon bölgesinde risk gruplarında yaptığı bir araştırmada grup olarak besicilerde % 13.3, kasap ve sucuk imalatçılarında % 8.6 ve süt toplayıcısı ve süt ürünleri imalathanelerinde çalışanlarında % 15.7 prevalans tespit etmiştir. Özbakkaloğlu ve ark. (96), Manisa İlindeki risk gruplarında 1998 yılında

yaptıkları bir araştırmada, grup olarak mezbaha çalışanlarında % 4.3, kombina işçilerinde % 4.7 ve mandıra çalışanlarında % 7.5 prevalans görülmüştür. Kalkan ve arkadaşları (97), Elazığ'da mesleklerinde çalışma süresinin seropozitiflik üzerine etkisini ve çalışma süresi ile titre arasındaki ilişkiyi araştırmak üzere 100 kasap, 100 veterinerlik çalışanı ve 100 çiftçiden oluşturulan toplam 300 kişi üzerinde 1998 yılında yaptıkları araştırmada seroprevalansı % 22 olarak tespit etmişlerdir. Grup olarak kasaplarda % 21, veterinerlik çalışanlarında % 20 ve çiftçilerde % 25 prevalans izlenmiştir. Dolapçı ve arkadaşlarının (98), Ankara'da yaptıkları bir çalışmada, gıda ve beslenme sektöründe çalışan 201 garson, bulaşıkçı, aşçı gibi meslek sahiplerinin serumlarında Wright Aglütinasyon yöntemiyle *Brucella* antikorları araştırılmış ve 1 kişide (% 0.5) 1/320 titrede seropozitiflik saptanmıştır. 77 kişide ise (% 37.8) 1/10 ve 1/ 80 arasında değişen titrelerde seropozitiflik bulunmuştur. Kontrol grubunu oluşturan 50 üniversite öğrencisinde seropozitiflik görülmemiştir. Şenler ve arkadaşları (94), Adana'da yaptıkları araştırmada araştırma grubunun % 63'ünün hayvan beslediğini, hayvanların % 92.6'sının veteriner kontrolünde olduğunu, ancak hayvanların aşılı olma durumunu bilme oranının % 82.1 olduğunu, hayvanlarda ölüm veya düşük görülme oranı % 27.9 olduğunu; Ünsal ve arkadaşları (81), Eskişehir'de 2602 kişide ev hanımlarında % 20.5, hayvan yetiştiricileri ve çiftçilerde % 19.6 oranında prevalans görüldüğü nakletmektedirler. Çelebi ve arkadaşları (99), Erzurum yöresinde 100 et kombina işçisinden % 2'sinde, 40 kasaptan % 7.5'inde seropozitiflik elde etmişler, kırsal kesimde yaşayan ve hayvancılıkla uğraşan 100 kişiden % 11'nde, il merkezinde yaşayan ve hayvancılık uğraşısı olmayan 100 kişinin % 12'sinde antikor pozitifliği bulmuşlardır. Hastalığın meslek gruplarıyla ilişkisi açıktır. Sağlık çalışanları da riskli grupta yer almaktadır. Laboratuar personellerine bulaş yolu enfekte materyalin inhale edilmesi veya konjonktivadan inokülasyonla alınmasıdır. Özaras ve arkadaşları (100), 37 yaşında ve bayan bir mikrobiyoloji laboratuarı teknisyeninde brusellozise bağlı bir akut hepatit vakası bildirmişlerdir. Literatürde sağlık personelinde görülen bruselloz vakaları ile ilgili çeşitli yayınlar mevcuttur. Bu çalışmada olguların % 26'sinin bruselloz açısından risk teşkil edebilecek bir meslekle uğraştığı görülmüştür. Bu oran Yüce ve arkadaşları'nın (36) çalışmasında % 25.4 iken, Hatipoğlu ve ark.(101) 202 vaka üzerinde yaptıkları çalışmada hastalığa yakalanma olgularının 105 (% 52)'inin çiftçilik, hayvancılık ve veteriner hekimlik gibi meslek gruplarının yüksek risk altında oldukları, daha alt risk grubu meslekler ise ev kadınları, işçi, serbest meslek, öğrenci ve emekliler

diye sıralanabilir. Aynı çalışmada bulaşma kaynağı olarak; olguların 191 (% 94,6)'inde taze peynir tüketimi, 142 (% 70,3)'sinde hayvancılıkla uğraşan ve hayvan teması olduğu, 136 (% 67,3)'sında her iki bulaşma kaynağının birlikte mevcut olduğu, 5 (% 2,4)' inde ise herhangi bir bulaşma kaynağı olmadığı tespit edilmiştir. Hayvancılıkla uğraşan toplam 142 olgunun 109 (% 76,8)'unun hayvanları arasında abortus vakalarının olduğu, 95 (% 66,9)'inin enfekte gebe materyali ile temas ettiği, 89 (% 62,7)'unun genital akıntı ile temas ettiği, 40 (% 28,2)'ının ise hayvanların derisini yüzdüğü tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise *Brucella* açısından risk teşkil edecek meslek grubu % 26 olarak bulunmuştur. Çalışmamız retrospektif olduğundan kişilerin çoğunun hasta dosyasında anamnez yeterli olmadığından pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri kullanımı konusunda net bir rakam veremiyoruz ancak bölgemizde yapılan çalışmada Koşar ve ark. (74), 280 olguyu değerlendirdikleri serilerinde % 40'nın hastalığın pişmemiş sütten ve süt ürünlerinden bulaştığını bilmelerine karşın, pişmiş sütten yapılan tereyağı ve peynirin gerek yapının zor olması gerekse damak zevklerine uygun olmaması nedeniyle bu alışkanlıklarını bırakmayacaklarını söylediklerini belirtmişlerdir. Yine Isparta'daki pazar yerlerinde Demirel ve arkadaşları (102) tarafından yapılan çalışmada satıcıların çiğ süt kullanma oranının çok yüksek olduğu (% 58.1), bir çoğunun düzenli portör muayenesi yaptırmadığı, düzenli portör muayenesi yaptıranların oranı ise % 1.5 olarak bulunmuştur, ürünü hazırlarken ve satarken eldiven kullananların oranı ise % 4,4 olarak bulunmuştur.

Olguların hastaneye klinik yakınma başvuruları yönünden analizi incelendiğinde: Geyik ve arkadaşları (77), Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniğinde 1994–2001 yıllarında Bruselloz tanısı alan 154 hastada yaptıkları araştırmada hastaların en sık görülen başvuru yakınmalarının % 75 ateş, % 73 artralji ve % 69 terleme olduğunu; Demirdağ ve arkadaşları (83), Elazığ'da 146 hastada yaptıkları araştırmada hastaların en sık görülen başvuru yakınmalarının % 87 ateş, % 78 terleme ve % 65 artralji olduğunu; Çağatay ve arkadaşları (78), İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kliniğinde 1996–2001 yıllarında yatan veya poliklinikten takip edilen 36 hastada yaptıkları retrospektif araştırmada hastaların en sık görülen başvuru yakınmaların % 90 halsizlik , % 75 belağrısı ve % 65 ateş olduğunu nakletmişlerdir. Taşdelen ve

arkadaşları (103), Ankara'da hemokültürde *Brucella* spp. üreyen 54 vakada yaptıkları araştırmada en sık görülen yakınmaların % 88.8 ateş, % 57.4 terleme ve % 57.4 artralji olduğunu; Ünsal ve arkadaşları (81), Eskişehir iline bağlı toplam 54 köyde 2602 kişide en sık görülen yakınmaların % 46.3 bel ağrısı, % 42.2 eklem ağrısı ve % 34.1 halsizlik olduğunu yayınlamışlardır. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise en fazla ateş (% 93), halsizlik(% 90), bel ağrısı(% 76),gece terlemesi(% 71), en az ise Öksürük (% 6), testiste şişlik (% 2) tespit edildi ve araştırma sonuçlarımız diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Vakaların laboratuar sonuçlarına göre biyokimyasal ve hematolojik parametreler incelendiğinde; Tansel ve ark.'nın (82) yaptığı çalşmada klinik bulgular, standart tüp aglütinasyon testi ve/veya kan kültürü ile tanısı konulan 40 Bruselloz olgusunun % 30'unda lökopeni, % 35'inde trombositopeni, % 40'ında anemi, % 90'ında eritrosit sedimentasyon hızında artış, % 82'sinde CRP pozitifliği, % 67.5'inde AST, % 55'inde ALT artışı tespit edilmiştir. Geyik M ve ark.'nın (77) yaptığı çalışmada klinik ve seroloji ile Bruselloz tanısı alan 154 hastanın % 25'inde lökopeni, % 7'sinde lökositoz, % 30'unda sedimentasyon artışı, % 28'sinde anemi, % 39'unda AST yüksekliği, % 38'inde ALT yüksekliği saptanmıştır. Yine Özer S ve ark.'ları (104) klinikle beraber aglütinasyon titresi ve/veya kan kültürü ile tanısı konulan 33 Bruselloz olgusunun %61'inde eritrosit sedimantasyon hızında artış % 55'inde anemi, % 3'ünde lökopeni, % 6'sında lökositoz, % 82'sinde CRP pozitifliği, % 42'sinde ALT ve AST yüksekliğini tespit etmişlerdir. Gül ve ark.'ları (105) 140 Bruselloz olgusunda yaptıkları retrospektif çalışmada, olguların % 55'inde sedimentasyon hızının arttığını saptamışlardır. Olguların % 13'ünde lökositöz, % 54'ünde normal lökosit sayısı, % 34'ünde lökopeni, % 14'ünde anemi, % 11'inde trombositopeni, % 32'sinde ALT yüksekliği saptamışlar, Mehli ve ark. (73) tarafından yapılan çalışmada 85 Bruselloz hastası biyokimyasal sonuçları açısından incelenmiş; % 15'inde lökositöz, % 7'sinde lökopeni, % 35'inde hipokrom mikrositer anemi, % 12'sinde trombositopeni, % 31'inde ALT yüksekliği, % 32'sinde AST yüksekliği % 62'sinde CRP yüksekliği ve % 69'unda sedimantasyon yüksekliği, tespit edilmiştir. Bizim aratırmamızda retrospektif olarak incelenen RB(+) SAT 1/160 ve üzeri pozitif olan 382 hastada; Lökopeni % 18, Lökositoz % 6, % 78 lökosit normal sınırlarda tespit edilmiştir. Anemi erkeklerde % 11, kadılarda % 42 bulundu. Trombositopeni % 37, ALT de yükselme % 41, AST de yükselme % 47, Sedimantasyon

yüksekliği % 63 ve CRP de yükselme ise % 85 olarak bulundu, sonuçlarımız diğer araştırmacıların sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Gül ve ark.(105), RBPT ile pozitif bulunan 140 olgudan SAT ile 121 tanesi, ELISA IgG ile 40 tanesi pozitif olarak belirlenmiştir. Öngör ve ark. (106), 500 kan serumundan 55'si RBPT ile, 84'u SAT ile, 79'u 2–MET ile, 103'ü ELISA IgG ile pozitif bulunmuştur. Aynı çalışmada testlerin sensivite ve spesiviteleri araştırılmış: RBPT'nin sensivitesi % 61, spesivitesi % 100, SAT'ın sensivitesi % 93, spesivitesi % 99, 2–MET'nin sensivitesi % 86, spesivitesi % 99, ELISA IgG testinin ise sensivitesi % 97, spesivitesi % 96 olarak bulunmuştur. Çiftçi ve ark.'ları, (107) 77 Bruselloz şüpheli hastada yaptıkları çalışmada RBPT, STA, coombs tüp aglütinasyon testi, rivanol tüp aglütinasyon testi ve ELISA (IgA, IgG and IgM) metodlarını karılaştırmışlar, olguların 35'inde (% 45) kan kültürlerinde üreme saptamışlar. Kültür altın standart olarak kabul edilmiş, 35 hastada RBPT'nin duyarlılığı % 100, STA % 94,3, ELISA IgG % 97.1, ELISA IgA % 94.3 ve ELISA IgM % 71.4 olarak bulunmuştur. Bercovich att al (108), *B. melitensis*'in atığa sebep olduğu koyunlardan alınan kan serumlarının ELISA ile SAT, CFT ve RBPT'lerinin sonuçlarında; SAT, CFT ve RBPT ile % 75–88 pozitiflik bulurken ELISA ile % 97–100 pozitiflik belirlemişlerdir. Sırmatel ve ark. (109), 184 hasta üzerinde yapmış oldukları çalışmada SAT ile % 83,7, ELISA–IgG ile % 61,9, ELISA–IgM ile % 49,5 ve RBPT ile % 64,9 oranlarında pozitiflik tespit edilmiştir. Buna göre SAT testinin diğer yöntemlere göre daha güvenilir serolojik test olduğunu vurgulamışlardır. Apan ve ark. (110) tarafından Kırıkkale'de yapılan çalışmada 1436 kişinin ; 46 (% 3,2)'sında RBPT ile, 43 (% 3)'ünde SAT ile ve bu serumların 33 (% 75)'ünde ELISA IgG ile, 11 (% 25)'inde ELISA IgM ile pozitiflik bulunmuştur . Sippel et al. (111), kan kültürü, SAT ve ELISA testlerini karşılaştırmış oldukları çalışmada kan kültürü ile haftalar sonra sonuç alabileceklerini veya negatif sonuç olabileceğini, SAT'ın zaman alıcı, zahmetli blokan antikorlara bağlı yanlış pozitiflik verebileceği, buna karşın ELISA testlerinin SAT'tan daha duyarlı olduğu, blokan antikorlardan etkilenmediği, geniş kitlelerin taranmasında ve hastalığın tanımlanmasında kusursuz bir yöntem olduğunu savunmuşlardır. Araj at al. (112) ise kronik Bruselloz tanısında ELISA'nın seçilecek en iyi yöntem olduğunu ileri sürmektedirler. Bu sonuçlar bize Brusellozun takibinde IgG ile birlikte IgM'nin de değerlendirilmesinin daha iyi sonuç vereceğini düşündürmektedir. Akut Brusellozda özgül IgM tek başına veya IgG ve IgA ile birlikte yükselirken, kronik brusellozda tek başına IgG veya IgG+IgA birlikte

yükselmektedir (113). Anti–*Brucella* IgA, hastalığın erken döneminde oluşmakta, ilk ay süresince önemli bir yükselme göstermekte, ancak daha sonra IgG'den daha düşük düzeylerde kalmaktadır. *Brucella'*da IgA yanıtı, STA testi düşünüldüğünde minimal öneme sahiptir ve bu konuda yapılan çalışmalar yetersizdir (113,107) Buna karşın akut olgularda, IgM ELISA testinin duyarlılığı % 80 iken, IgG ve IgM'nin birlikte saptanmasının duyarlılığı % 90–100 arasında saptanmaktadır. Subakut olgularda IgM'nin performansı azalırken, IgG daha iyi sonuç vermektedir; bazı olgularda ise her ikisi de negatif olabilir (114). Memish et al. (115) çalışmasında, bakteriyemik olan bruselloz olgularında STA testinin performansı (duyarlılık % 95.6, özgüllük % 100), ELISA yöntemine göre (duyarlılık ve özgüllük IgG için % 45.6 ve % 97.1; IgM için % 79 ve % 100; IgG ve IgM birlikte % 94.1 ve % 97.1) daha iyi bulunmuştur. Yapılan çalışmalar, akut brusellozda IgG1 düzeyinin diğer IgG alt tiplerine göre daha fazla yükseldiğini, kronik olgularda ise IgG4 düzeylerinin diğerlerine göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (132). Dolayısıyla tanının zor olduğu durumlarda, IgG4 dominantlığı yardımcı bir belirleyici olabilir. Akut Bruselloz olgularının % 5–40'ında relaps gelişmekte ve bu olgularda her zaman kültür pozitifliği olmayabilmektedir (181). Bu durumda klinik bulgular ve serolojik testler önem arz eder (117). Yapılan bir çalışmada, relaps olguları Coombs' testi/IgG ile % 83; IgA ile % 58; STA ile % 25 oranında tespit edilmiş, IgM ile tespit edilememiştir. ELISA IgG, IgA ve Coombs' titrelerindeki yükselme relapsın iyi bir göstergesi iken, IgM titresinde yükselme olmamaktadır (113,117). Bazen klinik olarak relaps gelişimi olduğu halde, hiç bir serolojik bulgu saptanmayabilir. Relaps sırasında serolojik değişikliğin meydana gelme zamanı hastadan hastaya değişmektedir. Hastaların % 40'ında relaps zamanında en düşük titre saptanmaktadır, sonrasında serolojik değişiklikler başlamaktadır. Akut hastalığın tedavisinden sonra 1.ve 3. aylarda serolojik takip yapılmalıdır. IgG titresindeki her yükselme relapsın belirtisi olabilir (117). Ariza et al. (113) relaps olgularını izledikleri çalışmalarında, hastalığın ilk 6 ayı içerisinde, ELISA IgG titresinin Coombs' testi ile ELISA IgM'in STA ile benzer olduğu, ELISA IgA titresinin ise IgG ELISA/Coombs' ve IgM ELISA/STA titreleri arasında yer aldığı bildirilmektedir. Kronik olgularda başlangıç titresinden bağımsız olarak IgG düzeyi yüksek kalmaktadır. Klinik olarak iyileşmeye rağmen, IgG titresi uzun süre kalıcı olabilir ve bu sıklıkla başlangıç titresinin yüksekliği ile ilişkilidir. IgG, IgM ve IgA'nın ELISA ile tespiti STA ve 2–ME aglütinasyona göre daha özgüldür. Fokal odaklı hastalarda IgG ve IgA

düzeyleri daha yavaş düşmektedir, zira bu hastalarda klinik iyileşme daha yavaş meydana gelmektedir. Hastanın başvurudaki IgG düzeyleri hastalığın süresini belirleyen en önemli faktör olup, tedaviden 12 ay sonrasına kadar relaps gelişmeksizin kanda yüksek titreler tespit edilebilmektedir (117). Serolojik çalışmalardaki en büyük sıkıntılardan birisi çapraz reaksiyonların varlığıdır ve bu durum S–LPS antijeninin kullanıldığı ELISA yöntemi için de geçerlidir. Geliştirilen yarışmalı (kompetitif) ELISA yönteminin özgüllüğü ise daha yüksektir; zira S–LPS'nin O–polisakkaritinde sık olarak yer alan epitopa karşı özgül monoklonal antikorların kullanılmasıyla çapraz reaksiyonların sıklığı azaltılmıştır. Bu yöntemin IgG'yi tespit etmedeki duyarlılığı % 98.3, özgüllüğü % 99.7 olarak bulunmuştur (118). ELISA yöntemi, diğer aglütinasyon yöntemlerine göre daha çok pozitiflik, daha yüksek titreler ve farklı sınıf antikorları tespit etme avantajına sahiptir; ancak katı fazın ve anti–globulinin yapısına bağlı olarak farklı sonuçlar alınabilmektedir. Bu durum yöntemin duyarlılığını, özgüllüğünü ve uygulanabilirliğini etkilemektedir (119). Ayrıca, antikor profili her zaman klinikle uyumlu olmayabilir ve titreler uzun süre pozitif kalabilir. ELISA testleri, aglütinasyon yöntemlerine göre daha pahalı, donanım ve deneyim gerektiren testlerdir. Araj et al. (120) yaptığı karşılaştırmalı bir çalışmada, RBT ve STA yönteminin basit, güvenilir ve ucuz oldukları için akut bruselloz olgularında kullanılabileceği, kronik ve komplike olgularda bu yöntemlerin olguların % 7'sini kaçırabileceği ve dolayısıyla bu hastalarda ELISA yönteminin tercih edilebileceği vurgulanmıştır.

Yöremizde retrospektif olarak yaptığımız çalışmamızda 24343 serumda Rose–Bengal testi ile % 2.5 (n=610), Wright aglütinasyon testi ile % 1,5 (n=382) oranında seropozitiflik belirlendi. Serolojik yöntemlerle (RB,SAT) ile seropozitif olan 87 olgunun serumunda anti – brusella IgG olguların %82 (n=71) sinde ve anti – brusella IgM olguların %63(n=55) inde seropozitiflik belirlenirken olguların %54 (n=47) ünde IgG ve IgM her ikiside seropozitif bulundu. Bu sonuçların klinisyenlere akut ve kronik bruselloz ayrımında katkı sağlayacağı ve tanısal yönden faydalı olacağı kanaatine varılmıştır. Bruselloz düşünülen olgular farklı serolojik yöntemlerle seropozitif çıkan sonuçlarda antikor alt gruplarının varyasyonları her zaman klinikle uyumlu olmayabilir. Serolojik titreler uzun süre pozitif kalabilir. ELISA diğer serolojik yöntemlere göre daha pahalı, donanım ve deneyim gerektiren bir test olmakla birlikte, imkanları olan laboratuvarlar konvansiyonel serolojik testlerle birlikte ELISA testi uygulanmasının yararlı olacağını düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Sözen TH. Bruselloz. Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002. 636–41–425.
2. Edward JY. *Brucella* species. In: Mandell GL, ed.Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE. Principles and Practice of Infectious Diseases 5th ed.Philedelphia: Churchill Livingstone,2000:2386–2393.
3. Foster G, Osterman B.S, Godfroıd J, Jacques I. and Cloeckaert A.: *Brucella* ceti sp. nov. and *Brucella* pinnipedialis sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 2007; 57: 2688–2693.
4. Özsan, M.2000 Bruselloz'un Tarihçe ve Etyolojisi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bruselloz Sempozyumu, 21-29.
5. Madkour MM: Brusellozis. 1st. edition. Butterworths, London, 1989; 990–998
6. Ko J, Splitter GA. Molecular host–pathogen interaction in brusellozis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 65–78.

7. De Ley J, Mannheim W, Segers P, Lıevens M, Denıjn M, Vanhoucke M, AND Gıllıs M. Ribosomal ribonucleic acid cistron similarities and taxanomic neighborhood of *Brucella* and CDC group Vd. Int J. Syst. Bacteriol, 1987; 37 (1): 35–42.

8. Bilgehan H. *Brucella*. Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İZMİR 181–194, 1996.

9. Georgios Pappas: The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats International Journal of Antimicrobial Agents 36S (2010). S8–S11).

10. Eduardo G, Carlos C: *Brucella*. In: Sherwood L, Gorbach MD, John G. Barlett MD, Neil R.Blackow MD. Infectious Diseases Second Edition, Philedelphia: Wb Saunders Company,1998:1837–1845.

11. Meyer ME. Evolutionary development and taxanomy of the genus *Brucella*. In: Adams LG, ed. Advances in Brusellozis Research,1st. Edition. Texas USA: A&MUniversity Pres, Collage Station, 1990:12–35.

12. Arda, M. Minbay, A. Aydın, N. Akay, Ö. İzgür, M. Leloğlu, N., Kahraman, M., İlgaz, A., Diker, K.S. Özel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi No: 26, Ankara, 1997; 110–124.

13. Bilgehan H. Aerob Gram–negatif kucuk basiller, *Brucella*. Bilgehan H, editor. Klinik Mikrobiyoloji Ozel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir: Barış Yayınları Fakulteler Kitabevi, 2000; 199–214.

14. Verger JM, Grimont F, Grayon M. *Brucella*, a monospesific genus as shown by deoxyribonucleic and hybridization. Int J Syst Bacteriol,1985; 35: 292–5.

15. Bilgehan H. *Brucella*. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları 10.baskı. Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi. İzmir. 2000; 199–214.

16. Arslan, A., Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Yayınları, Elazığ, 2002; 101–103.

17. Anonymous, “Joint FAO/WHO expert committee on Brusellozis sixthreport”, WHO technical report series, Geneva, 740 (1986).

18. Corbel, M.J.," Recent advances in the study of *Brucella* antigens and their serological cross–reactions", Vet. Bull., 55 (12): 927–947 (1985).

19. Corbel M.J. Brusellozis prevention and control, Brusellozis epidemiology, Brusellozis complication. Guidelines, World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, IV. World Organisation for Animal Health, 2007 p: 29.

20. Bundle DR, Cherwonogrodky JW, Gidney MAJ, Meikle PJ, Perry MB, Peters T. Definition of *Brucella* A and M epitopes by monoclonal typing reagents and synthetic oligosaaccharides. Infect. Immun 1989;57 (9):2829–2836.

21. Hamsan H. Dokuzoğuz B. Erdoğan H. Türkmen A. Escherichia coli infeksiyonlarına bağlı olarak oluşan antikorlarla *Brucella* antijenleri arasında saptanabilen reaksiyonların değerlendirilmesi. Klimik Dergisi 2000: 13 (3). 98–100.

22. Kittelberger R. Bundesen PG. Cloeckaert A. Greiser–Wilke I. Letesson JJ. Serological cross–reactivity between *Brucella* abortus and Yersinia enterocolitica 0:9: IV. Evaluation of the M and C epitope antibody response for the spesific detection of B. Abortus infections. Veterinary Microbiology 1998: 60: 45–57.

23. Turkcapar N, Kurt H; Bruselloz, Gram Negatif Bakteriler 6, Enfeksiyon HastalıklarıSerisi 2003; 7 (3): 23–28.

24. Lang R, Banai M, Lishner M, Rubistein E. Brusellozisi: İnternational 3–Journal ofMikrobial Agents 1995; 5: 203–208.

25. Young EJ. *Brucella* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disaeses. 6th ed. hiladelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2669–74

26. Baysal B. *Brucella.* Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. baskı Ankara: Öncü Basımevi, 571–577, 1999

27. Sağlık Bakanlığı Temel sağlık hizmetleri genel müdürlüğü zoonotik hastalıklar daire başkanlığı. Zoonotik Hastalıklar Hizmet içi Eğitim Modülü. Zoonotik hastalıklar katılımcı kitabı. Ankara 2011.29–51.

28. Palanduz A, Palanduz S, Guler N. Brusellozis in a mother and her young infant: probable transmission by breast milk. Int J Infect Dis 2000; 4:55–6.

29. Çelebi S, Hacımustafaoğlu M, Yılmaz E. Çocuklarda nöroBruselloz: üç vaka takdimi. Çocuk Sağ Hast Derg. 2004; 47 (1): 46–9.

30. Taşçı, F. Gıda Kaynaklı Brusellozis ve Önemi. Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med. 23 (2004), 1–2–3: 137–142. 47.

31. Öngör, H. Muz, A. Çetinkaya, B. Atık Yapmış Koyularda Brucellozis'in Teşhisinde ELİSA İle Diğer Serolojik Testlerin Karşılaştırılması. Türk J. Vet. Anim. Sci. 25 (2001). 221–26.

32. Solmaz, H. Tütüncü, M. Gülhan, T. Ekin, İ.H. Taşal, İ. Van Yöresi Süt Sığırlarında Brucellozis'in İnsidensi Üzerine İncelemeler. YYÜ. Vet. Fak. Derg. 2002, 13 (1–2): 54–56.

33. OIE (2008). Bovine Brusellozis. Chapter 2.4.2. p:611–623. Terrestrial Manual.

34. Georgios P., Photini P., Nikolaos A., Leonidas C., Epameinondas V T., 'The new global map of human brucellosis' Lancet Infect Dis 2006; 6: 91–99.

35. T.C. Sağlık Bakanlığı İstatistikler / Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı. Ankara: Sağlık Bakanlığı, 2004 (www.saglik.gov.tr).

36. Yüce A, Alp–Cavus S; Turkiye'de Bruselloz: Genel Bakıs, Klimik Derg., 2006; 19 (3): 87–97.

37. Çetin ET, Çoral B, Bilgiç A, et al. Türkiye'de insanda Bruselloz insidansının saptanması. Doğa–Turk J Med Sci 1990; 14: 324–34.

38. Irmak H. 3. Türkiye Zoonotik Hstalıklar Sempozyumu. Brusellozun kontrolü amacıyla Sağlık Bakanlığınca yapılan çalışmalar katılımcı kitabı 2010;53,57 Ankara.

39. Brusellozis in humans and animals WHO/CDS/EPR/2006. (NLM classification: WC 310). Principal author: M.J. Corbel. © World Health Organization 2006.

40. Gotuzzo E, Cellillo C. *Brucella.* In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Diseases. 2nd Editon. W.B. Saunders Co., Philadelphia 1992; 1513–1521.

41. Dilmener M. Bruselloz'un klinik prezentasyonları. Klimik Derg. 3:23–25, 1990

42. Chu MC, Weyant RS: Francisella and *Brucella.* Eds: Murray Patrick R. Manuel of clinical microbiology. 8th ed. ASM pres. Washington DC. 2003;789–808.

43. Baysal B. *Brucella.* Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. baskı Ankara: Öncü Basımevi, 571–577, 1999.

44. Aktaş O. Brusellozda mikrobiyolojik tanı. ANKEM Derg. 2003; 17: 336–9.

45. Gedikoğlu S, Helvacı S, Özakın C, Gökırmak F, Kılıçturgay K. Detection of *Brucella* melitensis by Bactec NR 730 and Bactec 9120 system. Eur J Epidemiol 1996; 12: 649–50.

46. Baysallar M, Aydogan H, Kiliç A, Küçükkaraaslan A, Senses Z, Dogancı L. Evaluation of the Bact/Alert and BACTEC 9240 automated blood culture systems for growth time of *Brucella* species in a Turkish tertiary hospital. Med Sci Monit. 12 (7):235–8, 2006.

47. Özkurt Z, Erol S, Tasyaran MA, Kaya A. Detection of *Brucella* melitensis by the Bact/Alert automated system and *Brucella* broth culture. Clin icrobiolİnfect.8 (11):749.

48. Cesur S. Birengel S. Sözen TH. Tekeli E. Brusellozlu olguların incelenmesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 1998:32: 123–126.

49. Çırak MY. Hızel K. Brusellozisin tanısında iki farklı gen bölgesini hedefleyen polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin değeri. Mikrobiyoloji Bülteni 2002: 36: 271–276.

50. Bricker BJ. Polymerase Chain Reaction as a diagnosis tool for Brusellozis. Veterinary Microbiology 2002: 90: 435–446.

51. Redkar R, Rosa S, Bricker B, DelVecchio V. Real–time detection of *Brucella* abortus, *Brucella* melitensis and *Brucella* suis. Mol Cell Probes. 2001; 15: 43–52.

52. Al Dahouk S, Tamaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory–based diagnosis of brusellozis–A Review of literature. Part 1:Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. Clin Lab. 2003; 49: 487–505.

53. Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds). Intracellular Bacterial Pathogens. In: Basic and Clinical Immunology. 8th edition. Appleton and Lange Co, Connecticut 1994; 633–5.

54. Tümtürk A, Yetkin MA, Tülek N, Kılıç D. Brusellozun tanı ve takibinde serum aglütinasyon testi ve "enzyme–linked immunosorbent assay" yönteminin yeri. Klimik Derg.2004; 17 (2): 107–112.

55. Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K: Competitive enzyme immunoassay for diagnosis of human brucellosis, J Clin Microbiol 1999; 37: 3245.

56. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M100–S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087–1898 USA, 2007.

57. Smits HL, Basahi MA, Diaz R, Marrodan T, Dauglas JT, Rocha A, Veerman J, Zheludkov MM, Witte OWM, deJong J, Gussenhoven GC, Goris MGA, Vander Hoom MAWG. Development and evaluation of a rapid dipstick assay for serodiagnosis of acute human brucellosis. J Clin Microbiol. 1999; 37 (12): 4179–4182.

58. Nielsen K, Gall D: Fluorescence polarization assay fort he diagnosis of brusellozis: a review, J Immunoassay Immunochem 2001; 22: 183–186.

59. Arda M. Hayvanlarda Brusellozis. 24. Türk Mikrobiyolojisi Kongresi Erciyes Üniversitesi Matbaası. Kayseri 1990 s. 89–103.

60. Evrensel N. *Brucella* Klinik İzolatlarının Tiplendirilmesi ve Çeşitli Antimikrobiyal Kombinasyonlara İnvitro Duyarlılıkları. Uzmanlık Tezi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı. Kayseri.1996.

61. Limet JN, Bosseray N, Garin–Bastuji B, Dubray G, Plommet M. hümoral immunity in mice mediated by monoclonal antibodies against the A and M antigens of *Brucella.* J. Med. Microbiol 1989;30:37–43.

62. Corbel MJ. Microbiology of the genus *Brucella.* In:Young EJ, Corbel MJ, ed Brusellozis: clinical and Laboratory Aspects, Florida USA: Crc Pres Inc, 1989: 54–67.

63. İyisan A. Akmaz Ö. Düzgün SG. Eskiizmirliler S. Güler L (ve ark). Türkiye'de sığır ve koyunlarda Brusellozisin sero–epidemiyolojisi. Türkiye Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Veteriner Kontrol ve Araştırma Müdürlüğü yayınları. Pendik. İstanbul. 1997:1–32.

64. Dolapçı Gİ. Göz M. Karaarslan A. Cengiz AT. Bir grup lokanta ve yemekhane çalışanında *Brucella* antikorlarının wright aglütinasyonu ile araştırılması. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 1998: 51 (2): 67–70.

65. Özbakkaloğlu B. Tünger Ö. Dinç G. Borand H. Orhon H (ve ark.). Manisa ilindeki riskgruplarında Bruselloz seroprevalansı. Turkish Journal of Infection 1998: 12 (4). : 453–457.

66. Martin NL, Hancock REW. Function and structure of the major components of the outer membrane of gram negative bacteria *Brucella.* In: Adams LG, ed.Advances in Brusellozis Research 1st Edition, Texas USA: A&M University Pres College Station, 1990:55–75.

67. Koneman EN, Allen SD, Janda WM, et. al: Other Miscellaneous Fastidious Gram Negatif Bacteria, in Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th Ed.Lippincott–Williams and Wilkins, 2006; 482–491.

68. Bilgehan H: Bruselloz Tanısında Aglutinasyon, Klinik Mikrobiyoloji Tanı. 3.baskı, Barıs Yayınları Fakulteler Kitabevi, izmir, 2002; 223–227. :475–478.

69. Esendal ÖM, Yardımcı H, Yıldırım M, İlhan Z,Altay G, Özgür M. *Brucella* türlerinin identifikasyonunda boya emdirilmiş disklerin kullanılması, III. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 23–25 Eylül 1998, U.Ü. Veteriner Fakültesi, Bursa,1998:9–10.

70. Kültür ve Turizm Bakanlığı Isparta İl Kültür Turizm Müdürlüğü www.ispartakulturturizm.gov.tr/

71. Duran Tok Ömer Coşkun Ağrı İlinde *Brucella* Seroprevalansına Ait Bir Çalışma TAF Prev Med Bull 2009; 8 (6):485–488.

72. Gülay YETKİN, Meryem IRAZ Malatya ilinde bir yıllık sürede laboratuar verilerine göre Bruselloz seroprevalansı ANKEM Derg. 2006;20 (3):156–158.

73. Murat Mehli, Tekin Karslıgil, Efgan Doğan Gayyurhan, Fatma Ebru Özgür Akın Brucellozda standart tüp aglütinasyon titreleri ve Rose Bengal testi sonuçlarının biyokimyasal parametrelerle ilişlkisi Türk Mikrobiyol Cem Derg. (2008). 38 (1). : 16–22.

74. Kosar A, Aygündüz M, Yaylı G; iki yüz seksen Bruselloz Olgusunda Farklı iki Tedavinin Karşılaştırılması, Infekt Derg. 2001; 15 (4): 433–437.

75. Kaya O, Akçam FZ, Avşar K, Yaylı G Bruselloz: 65 olgunun değerlendirilmesi klimik 2005 XII. Türk klinik mikrobiyoloji ve infeksoyon hastalıkları kongresi kongre kitabı 2005–250.

76. Buzgan T. et all. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brusellozis: a retrospective evaluation and review of the literature International Journal of Infectious Diseases 14 (2010). e469–e478.

77. Geyik MF, Mendes H, Kokoğlu OF, Ayaz C, Hoşoğlu S: Brusellozlu 145 hastanın Değerlendirilmesi. infeksiyon Hastalıkları Kongresi, Adana, 15–19 Ekim, 2001.

78. Çağatay AA, Küçükoğlu S, Berk H, Özsüt H, Eraksoy H, (ve ark.): 36 Bruselloz olgusunun değerlendirilmesi. infeksiyon Hastalıkları Kongresi, Adana, 15–19 Ekim, 2001.

79. Buzğan T, Irmak H, Karahocagil MK, Evirgen O, Yıldız O, (ve ark.): 534 Bruselloz Olgusunun Değerlendirilmesi. infeksiyon Hastalıkları Kongresi, Adana, 15–19 Ekim, 2001.

80. Cetinkaya Z, Aktepe O, Ciftçi I, Demirel R; Seroprevalence of Human brucellosis in a Rural Area of Western Anatolia, Turkey, J Halth Popul utr 2005; 23 (2): 137–141.

81. Ünsal A, Metintaş S, Dinçer K, Ünlüoğlu İ, Işıklı B; Eskişehir ili Kırsal Alanında Bruselloz Yaygınlığı, Sağlık ve Sosyal Yardım Vakfı Dergisi 1996; 1: 5–12. 222–9–95.

82. Tansel O, Yavuz M, Kuloğlu F, Akata F; Trakya Üniversitesi Hastanesine başvuran 40 Bruselloz Olgusunun Değerlendirilmesi, Infekt Derg. 2003; 17 (1): 1–4.

83. Demirdağ K, Özden M, Kalkan A, Çelik I, Kılıç S: Bruselloz, 146 Olgunun Retrospektif Değerlendirilmesi. infeksiyon Hastalıkları Kongresi, Adana, 15–19, Ekim192.

84. Doyuk E, Özgüneş I, Usluer G, Çolak H, Nayman S: Bruselloz Komplikasyonları, 61 Olgunun incelenmesi. İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Adana, 15–19 Ekim, 2001.

85. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K ve ark. Complications of brusellozis in different age groups: A study of 283 cases in Southeastern Anatolia of Turkey. YonseiMedical Journal 2003; 44: 33–44.

86. Dabanlıoğlu B, Halef O D, Kılıç H,Erzincan ilinde Bruselloz Seroprevelansı ve Rose–Bengal, Wright Aglütinasyon Test ve Sonuçlarının Karşılaştırılması, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Dergisi 16 (3). 152–158,2007.

87. Sümer Z, Sümer H, Poyraz O; Eğerci Beldesi Erişkin Nüfusunda Bruselloz Seropozitifliği, Infekt Derg. 2000; 14 (1): 65–67.

88. Taşova Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, İnal S. Bruselloz: 238 erişkin olgunun klinik, laboratuar ve tedavi özelliklerinin değerlendirilmesi. Turkish J Infect 1998–12.12 (3): 307.

89. Kaleli I, Koçoğlu T, Özen N, Aksit F; The Prevalence of Brusellozis in the Denizli Region, Turkish J Infect 1999; 13: 231–233.

90. Al–Sekait MA; Seroepidemiology Survey of Brusellozis Antibodies in Saudi Arabia. Ann Saudi Med 1999; 19 (3): 219–22.

91. Savaş L, Önlen Y, Savaş N, Yapar AF, Aydın M, Önder T. Prospective evaluation of 140 patients with brusellozis in the southern region of Turkey. Infect Dis Clin Pract 2007; 15:83–8.

92. Lulu AR, Araj GF, Khateeb MI, Mustafa MY, Yusuf AR, Fenech FF. Human brucellosis in Kuwait: a prospective study of 400 cases. Q J Med 1988;66:39,54.

93. Hasanjani Roushan MR, Mohrez M, Smailnejad Gangi SM, Solemani Amiri MJ, Hajiahmadi M. Epidemiological features and clinical manifestations in 469 adult patients with brusellozis in Babol, Northern Iran. Epidemiol Infect 2004;132:1109–14.

94. 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.

95. Altındiş M. Afyon bölgesi besicilerinde, kasaplarda, süt ürünleri toplayıcısı ve imalathane çalışanlarında Bruselloz seropozitifliği. Turkish Journal of Infection 2001: 15 (1). : 11–15.

96. Özbakkaloğlu B. Tünger Ö. Dinç G. Borand H. Orhon H (ve ark.). Manisa ilindeki riskgruplarında Bruselloz seroprevalansı. Turkish Journal of Infection 1998: 12 (4). : 53–457.

97. Kalkan A. Felek S. Akbulut A. Papila Ç. Demirdağ K (ve ark.). Bruselloz için risk taşıyan kişilerde mesleklerinde çalışma süresinin *Brucella* seropozitifliği ve aglütinasyon titresi üzerine etkisi. Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi 1998: 3 (2): 107–112.

98. Dolapçı Gİ. Göz M. Karaarslan A. Cengiz AT. Bir grup lokanta ve yemekhane çalışanında *Brucella* antikorlarının wright aglütinasyonu ile araştırılması. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 1998: 51 (2): 67–70.

99. Çelebi S. Babacan M. Tuncel E. Ayyıldız A. Erzurum yöresinde inaparan Bruselloz prevalansı. İnfeksiyon Dergisi 1991:5:175–176.

100. Özaras R. Çelik AD. Demirel A. Acute hepatitis due to brusellozis in a laboratory technician. European Journal of Internal Medicine 2004: 15: 264 242–29.

101. Hatipoğlu, Ç.A., Kınıklı, S., Tülek, N., Koruk, S.T., Arslan, S., Ertem, G.T., Koruk, İ., Demiröz, A.P.: Bir Eğitim Hastanesinin İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinde İzlenen 202 Bruselloz Olgusunun Epidemiyolojik Verilerinin İrdelenmesi. Klimik Dergisi., 2005; 18: 3, 94–98.

102. Isparta il merkezi pazar yerlerinde satılan süt ve süt ürünlerine hijyenik bakış Reha Demirel, Malik Doğan, Meral Kişioğlu, Ertan Uzun, Mustafa Öztürk S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2007:14 (4)/ 19–21.

103. Taşdelen N. Baykam N. Esener H. Erbay A. Dokuzoğuz B. *Brucella* spp. İzole edilenolguların epidemiyolojik ve klinik özellikleri. İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. P–26/05. 15–19 Ekim 2001.Adana.

104. Özer S, Oltan N, Gencer S. Bruselloz. 33 Olgunun Değerlendirilmesi. Klimik Derg. 1998; 11:82–84.

105. Gül HC, Coflkun Ö, Turhan V, et al. Bruselloz 140 Olgunun Geriye Dönük Olarak irdelenmesi. TSK Kor Hek Bült. 2007;6:249–252.

106. Öngör, H. Muz, A. Çetinkaya, B. Atık Yapmış Koyularda Brucellozis'in Teşhisinde ELİSA İle Diğer Serolojik Testlerin Karşılaştırılması. Türk J. Vet. Anim. Sci. 25 (2001). 221–26.

107. Çiftçi C, Öztürk F, Öztekin A, et al. Comparison of the serological tests used for the laboratory diagnosis of brusellozis. Mikrobiyol Bul 2005; 39: 291–9.

108. Bercovich Z, Güler L, Baysal B, Schreuder BEC, van Zijderveld FG. Evaluation of the currently used diagnosis procedures for the detection *Brucella* melitensis in sheep. Small Rum Res, 1998; 31 (1):1–6.

109. Sırmatel F, Turker M, Bozkurt AI. Evaluation of the methods used for the serologic diagnosis of brusellozis. Mikrobiyol Bul 2002; 36: 161–7.

110. Apan T, Yıldırım M, İstanbullooğlu E. Seroprevalence of brusellozis in human, sheep, and cattle populations in Kırıkkale (Turkey). TUBİTAK, Türk. J. Vet. Anim. Sci. 2007; 31 (1): 75–78.4.

111. Sippel JE, El–Marsy NA, Farid Z. Diagnosis of human brucellosis with ELISA. Lancet, 1982; 2: 19–21.

112. Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brusellozis in human beings. J Hyg 1986; 97: 457–69.

113. Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. Clin Infect Dis 1992; 14: 131–40.

114. Osoba AO, Balkhy H, Memish Z et al. Diagnostic value of *Brucella* ELISA IgG and IgM in bacteremic and non–bacteremic patients with brusellozis. J Chemother 2001;13: 54–9.

115. Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the *Brucella* standard agglutination test with the ELISA IgG and IgM in patients with *Brucella* bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44: 129–32

116. Profiles of *Brucella*–specific immunoglobulin G subclasses in sera of patients with acute and chronic brusellozis. Serodiag Immunother Infect Dis 1988; 2: 401–10.

117. Pellicer T, Ariza J, Foz A, Pallares R, Gudiol F. Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. J Infect Dis 1988; 157: 5.

118. Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K. Competitive enzyme immunoassay fordiagnosis of human brucellosis. J Clin Microbiol 1999; 37: 3245–8.

119. Lang R, Dagan R, Potamsan I, et al. Failure of ceftriaxone in the treatment of acute brusellozis. Clin Infect Dis 1992; 14: 506.

120. Araj GF, Kattar MM, Fattouh LG, Bajakian KO, Kobeissi SA. Evaluation of the PANBIO *Brucella* immunoglobulin G (IgG). and IgM enzyme–linked immunosorbent assays for diagnosis of human brucellosis. Clin Diagn Lab Immunol 2005;12: 1334–184.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı	: ORHAN AKPINAR
Uyruğu	: Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri	: 15Mart 1968, Kahramanmaraş
Medeni Durumu	: Evli (3çocuk)
Tel	: +90 246 211 5000
Fax	: +90 246 223 78 31
e–mail	: orhanakpnr@mynet.com
Yazışma Adresi	: Isparta Devlet Hastanesi ISPARTA

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Doktora	EÜ Sağlık Bilimler Enstitüsü	2012
Lisans	EÜ Tıp Fakültesi Kayseri	1993
Lise	Y.Kemal Beyatlı lisesi İstanbul	1986

İŞ DENEYİMLERİ

2011–Halen	Isparta Devlet Hastanesi	Tabip
2008–2011	Isparta Eğirdir Kemik Eklem Hastalıkları Tedavi ve Rehabilitasyon Hastanesi	Baştabip Yardımcısı
2004–2008	Isparta Devlet Hastanesi	Tabip
2003–2004	Kayseri Sağ. Müd. Eczacılık Şube Müdürlüğü	Tabip
2003–2003	Kayseri Sağ. Müd. Bulaşıcı Hast. Şube Müdürlüğü	Şube Müdürü
2003–2003	Kayseri Sağ. Müd. Eczacılık Şube Müdürlüğü	Tabip
2003–2003	Kayseri Melikgazi Gültepe B.Somyürek Sağlık Ocağı	Tabip
2000–2003	Kayseri Kocasinan Refik Saydam Sağlık Ocağı	Tabip
1993–2000	Kayseri Kocasinan Refik Saydam Sağlık Ocağı	Tabip
1993–1993	Kahramanmaraş Türkoğlu Merkez Sağlık Ocağı	Tabip

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR