

T.C

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BRUSELLOZ TANISINDA KULLANILAN

YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. BURCU UYSAL

KAYSERİ-2012



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BRUSELLOZ TANISINDA KULLANILAN
YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. BURCU UYSAL

Danışman

Doç. Dr. Orhan Yıldız

KAYSERİ-2012

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
HASTALAR VE YÖNTEM.....	24
BULGULAR.....	28
TARTIŞMA	41
SONUÇLAR.....	51
KAYNAKLAR	53
EKLER.....	62
TEZ ONAY SAYFASI.....	64

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocalarıma, birlikte çalıştığım asistan ve hemşire arkadaşlarıma, tüm servis çalışanlarına, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm seroloji ve bakteriyoloji laboratuvarı çalışanlarına, hep yanımda olan anneme, babama, ağabeyime ve eşime, varlığıyla ve sevgisiyle bana mutluluk veren, nöbet sonrası bana küsen canım oğlum Doruk'a sonsuz teşekkürler...

KISALTMALAR

2-ME	: 2-Merkapto Ethanol
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ark.	: Arkadaşları
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CELISA	: Competitive Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay
CRP	: C-Reaktif Protein
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ELISA	: Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay
Ig	: İmmunglobulin
IFT	: İmmünfloresan Test
IFN	: İnterferon
KC	: Karaciğer
Kİ	: Kemik İliği
KFT	: Kompleman Fiksasyon Testi
LPS	: Lipopolisakkarit
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NK	: Natural Killer
NTU	: Novatec-Units
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PrPc	: Hücresel prion proteini
RES	: Retikülo Endotelyal Sistem
RB	: Rose-Bengal
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SF	: Serum Fizyolojik
SR-A	: A sınıfı çöpçü reseptörü
STA	: Serum Tüp Aglütinasyon
SOD	: Süperoksit Dismutaz

TNF : Tümör Nekroz Faktörü
TSI : Üç Şekerli Demirli Besiyeri

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1 : İnsanda enfeksiyon yapan brusella suşlarını ayıran özellikler	6
Tablo 2 : Olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımı	29
Tablo 3 : Olguların olası enfeksiyon kaynağı	29
Tablo 4 : Bruselloz şüpheli hastalarda yakınmalar ve klinik bulgularının dağılımı	30
Tablo 5 : Klinik sınıflamaya göre kültür ve serolojik test sonuçları	32
Tablo 6 : Klinik olarak bruselloz tanısı konulan olgularda kültür ve serolojik testlerin karşılaştırılması.....	33
Tablo 7 : <i>Brucella spp.</i> izolasyonu yapılan hastaların serolojik test sonuçlarının karşılaştırılması.....	33
Tablo 8 : Brusella kültür sonuçlarıyla serolojik testlerin karşılaştırılması	34
Tablo 9 : STA testi referans olarak alındığında diğer testlerin uyumları.....	35
Tablo 10 : STA ve brucellacapt testleri arasındaki korelasyon	36
Tablo 11 : STA negatif olan hastaların klinik sınıflaması ve diğer test sonuçları	37
Tablo 12 : Brucellacapt testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması.....	38
Tablo 13 : ELISA IgG testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması.....	39
Tablo 14 : ELISA IgM testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması.....	39
Tablo 15 : ELISA IgA testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması.....	40

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Şekil 1: Olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	28
Şekil 2: Olguların mevsimsel dağılımı	31
Şekil 3: STA ve brucellacapt testleri arasındaki korelasyon	36

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; akut, subakut veya kronik bruselloz tanısında kullanılan, brucellacapt (immuncapture aglütinasyon) ve “Enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) testleri gibi yeni tanı yöntemleriyle, STA testi ve kültür gibi klasik tanı yöntemlerini karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve metod: Çalışmaya 2010-2012 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniğine başvuran, klinik olarak bruselloz düşünülen, ateş etiyolojisi araştırılan, serum tüp aglütinasyon testi titresi $\geq 1/10$ olan 49 hasta alındı. Kontrol grubu için 30 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Tüm deneklerden kültür, STA testi, brucellacapt testi, ve ELISA IgG, IgM, and IgA testleri çalışıldı. STA titresi 1/160’ın altında olan 28 hastaya coombs testi çalışıldı. Cohen’s kappa analizi kullanılarak testlerin uyumuna bakıldı.

Bulgular: Kırkdokuz hastanın altısında (%12,2) kan kültürü, ikisinde (%4) eklem sıvısı kültürü, 21’inde (%42,8) STA testi, 36’sında (%73,4) brucellacapt testi, 33’ünde (%67,3) ELISA IgG, 33’ünde (%67,3) ELISA IgM ve 31’inde (%61,2) ELISA IgA pozitif idi. Kontrol grubuna ait 30 örneğin hepsinde STA, brucellacapt ve ELISA IgA testleri negatifken, 4 kişide (%13,3) ELISA IgG, 3 kişide (%10) ELISA IgM düşük pozitif bulundu. STA testi referans olarak alındığında duyarlılık sonuçları kültür ile %23,8, brucellacapt testi ile %100, ELISA IgG, IgM ve IgA testleri ile ise sırasıyla %85,7, %90,4 ve %90,4 olarak saptandı. Özgüllükleri ise sırasıyla %98,2, %74,1, %67,2, %67,2 ve %79,3 idi. Hastaların yirmisekizinde (%57,1) STA testi negatif (1/160 ve altında) idi. Bu hastaların ondördünde (%50) brucellacapt titresi 1/320 ve üzeri pozitif bulundu. Klinik bulguların varlığı referans olarak alındığında en yüksek uyum ($\kappa=0,66$) brucellacapt testi ile saptandı.

Sonuç: Bruselloz tanısında STA testinin tek başına yetersiz kaldığı, STA ile birlikte brucellacapt ve/veya ELISA testlerinin kombine olarak kullanılmasının uygun olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, brucellacapt testi, ELISA, standart tüp aglütinasyon testi.

COMPARISON OF DIAGNOSTIC TESTS IN BRUCELLOSIS

ABSTRACT

Aim: The aim of the present study was to compare the new serological tests (Brucellacapt test [immuncapture agglutination], Enzyme-linked immunosorbent assay [ELISA]) and the classical tests (standard tube agglutination (STA) test and the culture) for diagnosis of acute, subacute or chronic brucellosis.

Materials and methods: Forty-nine samples of patients who presented with fever and clinical suspicion of brucellosis. Patients who admitted Infectious Disease Department of Erciyes University Hospital with agglutination (SAT) titers $\geq 1/10$ were collected during 2010 and 2012. And 30 healthy volunteers were enrolled in the study. All samples were subjected to the *Brucella spp.* specific culture, STA test, Brucellacapt test and ELISA for detection of IgM, IgA, and IgG. Coombs test were performed for 28 samples having titers $< 1/160$ as measured by STA. Cohen's kappa test was used to evaluate the agreement between the tests.

Results: Blood culture was positive in 6 (12, 2%), joint fluid culture in 2 (4%), STA test in 21 (42, 8%), Brucellacapt test in 36 (73, 4%), ELISA IgG in 33 (67,3%), ELISA IgM in 33 (67,3%), ELISA IgA in 31 (61,2%) of 49 patients. While STA, brucellacapt ve ELISA IgA tests were negative all of the control group (n=30), in four individuals (%13,3) ELISA IgG, three individuals (%10) ELISA IgM were found low positive. When STA test is taken as the reference method, the sensitivities were found to be 100% in brucellacapt test, 85, 7%, 90, 4%, 90,4% in ELISA IgG, IgM, IgA respectively and 23,8% in blood culture. Spesitivities were 74,1%, 67,2%, 67,2%, 79,3% and 98,2% respectively. When presence of clinical findings are taken as a reference, brucellacapt test were found to be most compatible ($\kappa=0,66$).

Conclusion: STA is unsatisfactory in the diagnosis of brucellosis in patients. Brucellacapt and/or ELISA tests are suggested to be used to verify results of STA.

Key words: Brucellosis, brucellacapt test, ELISA, standart tube agglutination test.

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Bruselloz, ülkemizde oldukça sık görülen ve morbiditesi yüksek olmasına karşın mortalitesi düşük bir zoonotik hastalıktır. Her yıl binlerce insan bu hastalığa yakalanmakta ve hastalık insanlarda fiziksel yetersizliğe ve iş gücü kaybına neden olmaktadır. Semptom ve bulguların özgül olmaması ve mikroorganizmanın izole edilmesindeki güçlüklerden dolayı, tanısı daha çok serolojik yöntemlerle koyulan bir hastalıktır.

Brusellozun serolojik tanısında kullanılan yöntemler; rose Bengal testi, serum tüp aglütinasyon testi (STA), anti-Brucella Coombs testi, brucellacapt ve "Enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA)' dir. Bu testlerden en sık kullanılanı STA testidir. Ucuz ve kolay uygulanabilir olması gibi avantajlarının yanı sıra, iki günden önce sonuç vermemesi, tek başına akut, subakut ve kronik enfeksiyonu ayırt edememesi, blokan antikorlara bağlı yanlış negatif sonuç alınması ve bazı mikroorganizmalarla (*Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Legionella pneumophila* ve *Francisella tularensis* gibi) çapraz reaksiyon göstermesi gibi olumsuz yönleri de vardır.

Brusellozun kesin tanısı, mikroorganizmanın izolasyonu ile olmakla birlikte önceden antibiyotik kullanımının sık olması ve teknik yetersizlikten dolayı çoğu zaman tanıda zorluklar yaşanmaktadır. Brusellozda bakteriyi üretmek için uzun süre beklenmesi, kan kültürü çalışılmasındaki güçlükler, üretme oranlarının değişkenliği nedeniyle serolojik tanı ön plana çıkmaktadır. Brusella türlerine karşı özgül antikorların saptanmasında kullanılan serolojik testlerin duyarlılığı %65-95 arasındadır. Ancak özgüllüğü, brusellozun endemik olduğu bölgelerde sağlıklı

popölasyonunda antikor prevalansının yüksek olarak saptanabilmesinden dolayı düşüktür. Bu nedenle brusellozda kesin tanı sadece aglütinasyon testine dayandırılmamalıdır. Çünkü geçirilmiş enfeksiyonu olanlarda uygun antibiyotik tedavisine karşı olguların %5-72'sinde anlamlı STA testi titrasyonları iki yıla kadar yüksek kalabilmektedir. Brusellozdan kuşkulanılan hastalarda klasik tanı, serum tüp aglütinasyon titresinin 1/160 ve üzerinde olmasıyla veya en az iki hafta arayla alınmış serum örneğinde titrede 3-4 kat artış saptanmasıyla konmaktadır.

Hastaların bir kısmında brusellozun klinik bulgularının olmasına rağmen aglütinasyon titreleri ya negatif ya da düşük titrelerde pozitif saptanmaktadır. Kan kültürlerinde ise üreme olmamaktadır. Klinik tablo brusellozu kuvvetle düşündürdüğü halde STA testi negatif saptanmışsa bu durumda iki olasılıktan söz edilir; hastalığın erken dönemi ve blokan antikorların oluşması. Bu durumlarda kullanılmak üzere geliştirilen yeni yöntemler mevcuttur. Brucella ELISA ve brucellacapt testi bu yöntemlerden ikisidir.

ELISA yöntemi akut ve kronik bruselloz tanısında immunglobulin (Ig) sınıflarının profilini veren, hızlı, duyarlı, özgül ve güvenilir bir yöntemdir ve geniş kitlelerin taranmasında uygundur. Hastalığın seyri sırasında IgG, IgM ve IgA antikor titrelerindeki değışiklikler ELISA yöntemiyle klasik serolojik testlerden daha iyi tespit edilir ve bu test kronik bruselloz tanısında iyi bir seçenektir.

Brucellacapt testi ise coombs testine alternatif olarak kullanılabilen, özellikle komplike ve kronik vakaların tanısında benzer duyarlılık ve özgüllük gösteren bir testtir. En önemlisi coombs testine göre daha hızlı ve kolay uygulanabilir bir testtir.

Bu çalışmada, akut, subakut veya kronik bruselloz tanısında kullanılan, brucellacapt ve ELISA testleri gibi yeni tanı yöntemleriyle, STA testi ve kültür gibi klasik tanı yöntemlerini karşılaştırılması amaçlandı.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. TANIM

Bruselloz, hayvanlardan insanlara bulaşan ve gelişmekte olan ülkelerde hala endemik olarak görülen bir zoonozdur. Özellikle koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi evcil hayvanları etkilemekte ve bu hayvanlardan insanlara direk ve indirek yollarla bulaşmaktadır. İnsanlarda bruselloz pek çok klinik tabloya neden olmaktadır. Belirti ve bulgularının özgül olmaması nedeniyle de pek çok hastalıkla karışabilmektedir (1).

II.2. TARİHÇE

Sir David Bruce 1887 yılında Malta adasında, Malta humması adı verilen hastalıktan ölmüş İngiliz askerlerinin dalağından ilk defa *Brucella melitensis*'i izole etmiştir. *B. abortus* ise 1897 yılında Bang tarafından, Danimarka'da, doğum yapan sığırların uterus duvarı salgısından izole edilmiş, Traum 1914'te ABD'nin Indiana eyaletinde prematüre doğan domuz yavrularının karaciğer, mide ve böbreklerinden *B. suis*'i saptamıştır. Avustralya ve Yeni Zelanda'da epididimitli koçlardan *B. ovis*, ABD'nin Utah eyaletinde çöl sıçanlarından 1950'li yıllarda *B. neotomae* izole edilmiş, insanlarda enfeksiyon yapmayan bu iki türe ek olarak insanlarda nadiren enfeksiyona neden olan ve 1966 yılında köpeklerden izole edilmiş olan *B. canis* genusa katılmıştır (2).

Ülkemizde ilk defa 1915 yılında Hüsametdin Kural ve Mahmut S. Akalın tarafından, Kuleli hastanesinde bir askerde *B. melitensis* saptanmıştır. Daha sonra 1931’de Zühtü Berke sığırlardan; 1943’de Golem, 1944’de ise Köylüoğlu ve Aktan koyun ve keçilerden, brusella cinsi bakterileri izole etmişlerdir (3).

Yıllar boyu brusella türleri altı tip içermekteydi. Bunlardan dördü insan için patojenik kabul edilmekteydi. Bu türlerin bazıları için biovarlar tanımlansa da 1960’lı yılların sonunda tanımlanan *B. neotomae*’ye kadar sınıflandırma neredeyse hiç değişmeden kalmıştır. Fakat 1990’da *Brucella spp.* olarak tanımlanan grup deniz memelilerinde teşhis edildi (4, 5). Bu yeni keşfedilen grup *B. ceti* (özellikle musurgilleri ve yunusgilleri etkiler) ve *B. pinnipedalis* (özellikle ayı balığını etkiler) olarak tanımlandı (6). Bu sınıflama geçicidir ve filogenetik analiz *B. ceti* grubunun daha alt gruplara ayrılmasına neden olabilir. Kesin olan şudur ki bu yeni türler insanları da etkileyebilmektedir ve bu konuda varsayımlar artmaktadır (7). Yeni türlerden *B. microti* merkez Avrupa’da tarla farelerinde ve tilkilerde tanımlanmıştır. Ayrıca dirençli bir toprak kirleticidir (8). İnsanda hastalık oluşturmaya ilgili direkt bilgi yoktur ancak antropozoonotik bir risk teşkil ediyorsa avcılar risk grubunda olabilirler (9).

İki yeni tür de birer olgudan izole edilmiştir. Bunlardan ilki geçici olarak *B. inopinata* olarak adlandırılmıştır (10). Bu yeni tür bir insandaki meme implantından izole edilmiş ve filogenetik olarak *B. ovis* ile ilişkilendirilmiştir. Doğal rezervuarı ve ekolojisi bilinmemektedir. İkinci tür ise kronik akciğer hastalığı olan bir bireyden izole edilmiştir. İzolatın analizi *B. inopinata* ile benzerlik göstermiştir. Şimdiye kadar insanlarda en az iki klinik kompleks patoloji bu türlerle ilişkilendirilmiştir (11).

Son olarak iki babundan izole edilen ve tipik brusella karakteristiği gösteren bir tür gösterilmiştir ve bu babunların ikisi de ölü doğum yapmıştır. Modern taksonomi pratiği mevcut türlerin biovarlarını göstermede yardımcı olmuştur. Bu durum, bazı biovarların çıkarılmasına ve şu an mevcut brusella türleri arasındaki bağlantının daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Aynı zamanda, tipik taksonomi gelişmelerine de neden olmuştur (12). Bunlardan ilki, tüm türlerin *B. melitensis*’in biovarları olduğu düşünüldüğünde brusella monospesifik bir genus mudur? İkincisi ise, brucella kendi başına bir genus mudur yoksa *Ochrobactrum* türü müdür? (9)

Tüm türleri *B. melitensis* olarak sınıflandırmak hayvan rezervuarına bağlı brusellozun anlaşılmasında yanlışlıklara neden olabilir ve bunun sonuçları insanlardaki hastalığın ciddiyetine de yansır. Dahası brusella türlerini *Ochrobactrum* türleri altında sınıflandırmak belirgin insan patojeni olan brusellayı bir bitki patojeni olan ve insanlarda minimal patojeniteye sahip bir grubun şemsiyesi altına almak olacaktır (9, 13).

B. canis'in insan hastalığındaki rolü sınırlı olarak tanımlanır. Ancak bu türe ait küçük salgınların bildirimi gün geçtikçe artmaktadır. Bu türün tanısı diğer insan patojenleri gibi klasik seroloji ile konamamaktadır. *B. suis* biovarlarının rolü de sınırlı olarak tasvir edilmektedir. Ancak, vahşi domuzlarla temasta bulunan veya etlerini yiyen avcılarda bildirilen sayıca artmakta olan raporlar da vardır. *B. suis* daha çok Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde görülmektedir. Avusturalya'dan olgu bildirimleri yoktur. Bunun nedeni vahşi domuzlarda Avusturalya'da epidemiyolojik araştırma yapılmış ve brusella türlerine rastlanmamıştır (rastlantısal olarak leptospira türlerinin bulunmasına neden olmuştur). Şu akılda tutulmalıdır ki Avrupa'da *B. suis* biovar iki vahşi domuzlarda belirgin bir patojendir fakat insanlara etkisiz olarak kabul edilmektedir. Ancak, vahşi domuz avcılarında yapılan bir çalışmada *B. suis* biovar 2'nin izole edildiği ve insanlar için patojen olduğu bildirilmiştir. En son Mısır'dan dikkat çeken bir rapor yayınlanmıştır. *B. melitensis*'in, *Clarias gariepinus* (nil nehrindeki taze su balığı)'tan izole edildiği bildirilmiştir. Bu balıkların nehre yasadışı yollarla boşaltılan enfekte hayvanların etini yemeleri nedeniyle enfekte oldukları öngörülmüştür. Bu balıklar yoluyla patojenin insan besin zincirine yeniden katılmasına neden olabileceği düşünülmüştür (9).

II.3. ETKENİN ÖZELLİKLERİ

Brusella türleri küçük, hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüz olup, 0,5-0,7µm eninde, 0,6-1,5µm boyunda, kok, kokobasil veya kısa çomaklar şeklinde gram negatif bakterilerdir (14). Brusella bakterileri; H₂S üretmeleri, üreyi hidroliz etmeleri, tiyoin ve bazik fuksine dirençli olmalarına göre türlere ayrılırlar. İnsanlar için enfektif olabilen dört tür: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. canis* ve *B. suis*'tir. *B. neotomae* ve *B. ovis* insanlarda hastalık etkeni olarak gösterilememiştir (15). Brusella bakterilerinin ortak biyoşimik özellikleri; katalaz ve çoğu kez oksidaz

olumlu olmaları, indol ve asetil metil karbinol (Voges Proskauer) oluşturmamaları ve metil kırmızısı testinin olumsuz olmasıdır (14). *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis* ayrımı için söz konusu olan özellikler Tablo 1’de verilmiştir (14).

Tablo 1. İnsanda enfeksiyon yapan brusella suşlarını ayıran özellikler

Test	<i>B.abortus</i>	<i>B.melitensis</i>	<i>B.suis</i>	<i>B.canis</i>
Bazik fuksin	Dirençli	Dirençli	Duyarlı	Duyarlı
Tiyonin	Duyarlı	Dirençli	Dirençli	Dirençli
Üre hidrolizi	>90 dk	>90 dk	<90 dk	<90 dk
H ₂ S oluşumu	2-5 gün	yok	1-6 gün	Yok
Tb fajı ile lizis	+	-	-	-
CO ₂ gereksinimi	+/-	-	-	-

Brusella 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. Her bir brusella türünün biyokimyasal ve fizyolojik özellikleriyle birbirinden ayrılabilen çeşitli biyotipleri vardır. *B. melitensis*’te üç, *B. abortus*’ta yedi ve *B. suis*’te beş biovar ayırt edilmistir (14, 16).

II.3.1. Kültür özellikleri:

Kökenlerin çoğu üreyebilmek için zengin kompleks besiyerlerine ihtiyaç duyarlar ve besiyerine kan veya serumun eklenmesi üremeyi olumlu yönde etkiler. Serum dekstrozu agar veya diğer saydam besiyerlerinde ekimden 48 saat sonra koloniler oluştururlar. Jelozdaki kolonileri küçük, yuvarlak, konveks, saydam, şebnem tanesine benzeyen kaygan ve S tipindedir ancak *B.canis* ve *B.ovis* ilk izolasyonlarında R koloni oluştururlar. Pigment yapmazlar. Zorunlu aerob olup respiratuvar tipte metabolizmaları vardır. Nitratları nitritlere indirgerler. Bazı kökenler (*B.abortus* ve *B.suis*’in birçok biovarı) üreyebilmek için özellikle primer izolasyonlarında CO₂’ye gereksinime duyarlar. Optimal üreme sıcaklıkları 37 °C (20-40 °C) ve optimal pH 6.6-7.4 arasındadır (14).

II.3.2. Antijenik yapı:

B.melitensis, *B.abortus* ve *B.suis*, A (abortus) ve M (melitensis) olarak isimlendirilen, ısıya dayanıklı aglutinasyon reaksiyonlarından sorumlu yüzey antijenlerine sahiptirler. *B. abortus* ve *B. suis*'de A antijeni fazla M antijeni az, *B. melitensis*'de ise M antijeni fazla, A antijeni az miktardadır. Bu miktarlar oran olarak ifade edildiğinde *B. abortus* ve *B. suis*'de A'nın, M'ye oranı 20/1 iken, *B. melitensis*'de bu oran 1/20'dir. Görüldüğü gibi serolojik metodlar ile *B. melitensis*'i *B. abortus* ve *B. suis*'den ayırmak mümkün olmakta, fakat *B. abortus*'u *B. suis*'den ayırt etmek olası görünmemektedir (17). Ayrıca brusellalarda yüzeyel L zarf antijeni de gösterilmiştir. Daha çok *B. abortus* kökenlerinde bulunan L antijeni, yeni tanımlanan bakterilerde var olup, onların immun serumlarla aglutinasyonuna engel olmakta, ancak 100°C'de 30 dakika ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadır. Bu özelliği ile salmonella suşlarındaki Vi antijenine benzerlik göstermektedir (18).

Brucella cinsi bakteri antijenleri *Escherichia coli* 0:116 ve 0:157, *Francisella tularensis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae* ve *Yersinia enterocolitica* 09 gibi bakteriler ile serolojik çapraz reaksiyon verirler (2).

II.3.3. Direnç Özellikleri:

Brusella bakterisi ısı ve dezenfektanlara duyarlıdır. 60 °C'de on dakika, %0,1 fenolde 15 dakikada canlılığını yitirir, elimine olur. Süt içinde 17 gün, tereyağında 142 gün, dondurmada 30 gün, tuzlanmış domuz etinde 3 hafta, % 10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, % 17 tuz içeren salamura peynirde ise bir ay, çeşme suyunda 8 °C 'de 57 gün, 25 °C 'de 10 gün, insan idrarında 7 gün, hayvan dışkısında 100 gün, düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay yaşayabilirler. Mide asit pH'ı mikroorganizmayı öldürmeye yeterlidir. Pastörizasyon ile kolayca yok edilebilir (19, 20).

II.4. EPİDEMİYOLOJİ

Bruselloz, brucella cinsi bakterilerin yol açtığı, sık görülen zoonotik hastalıklardan birisidir. Tüm olgularda doğrudan ya da dolaylı olarak hayvan teması söz konusudur. Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle birlikte Portekiz, İspanya, Güney Fransa, İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Kuzey Afrika ülkelerinin yer aldığı Akdeniz havzası ile Arap Yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir. Tüm dünyada yıllık 500.000 yeni bruselloz olgusu

olduğu tahmin edilmektedir. İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloz eradike olmuştur (31).

Brusella bakterileri hayvanlarda yaşam boyu kalmakta ve kronik enfeksiyona yol açmaktadır. Enfekte hayvanlarla direkt temas, enfekte sekresyonların derideki çatlak ve çiziklerle teması, aerosollerin inhalasyonu ve pastörize edilmemiş süt ve taze peynir, krema gibi süt ürünlerinin tüketimi ile hastalık insanlara bulaşabilir. Yoğurt, sütün kaynatılması ve mayalama işlemi sırasında asidik ortam oluşması nedeniyle bulaş için kaynak oluşturmaz. Yine kaynamış sütle hazırlanan kaşar ve tulum peyniri ile de hastalık oluşmaz. Enfekte hayvanın etinin, özellikle dalak, karaciğer gibi organlarının yeterince pişirilmeden yenmesi ile de enfeksiyon alınabilir ancak ette bakteri sayısı az olduğundan bu oran düşüktür. Brusella bakterisi ile enfekte kan ve sıvıların veya canlı brusella aşısının kaza ile konjunktivaya sıçraması sonucu veya deri bütünlüğünün bozulduğu yerlerden direk temas ile de bulaş olabilir. Nadir olarak kan transfüzyonu, kemik iliği transplantasyonu ile ve plasentadan geçiş söz konusu olabilir (32).

Ülkemizde bruselloz için temel bulaş kaynağı pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimidir. Değişik serilerde bildirilen bruselloz olgularında en fazla görülen enfeksiyon kaynakları hayvancılık ve mesleki temas (%28–90), çiğ süt ve süt ürünlerinin kullanımıdır (%30–%72). Toplumun değişik kesimlerinde yapılmış olan seroepidemiolojik çalışmalarda kasaplar, besiciler, mezbaha ve mandıra çalışanları gibi risk gruplarında %8,6–%25, risk grubunda olmayanlarda %2,8 oranında seropozitiflik saptandığı bildirilmiştir (33).

Endemik bölgelerde insidansın mevsimsel değişiklikler gösterdiği bildirilmektedir. İlkbahar ve yaz aylarında insidans yüksek, sonbahar ve kış aylarında düşüktür. Bu değişiklik daha çok hayvanların yavrulması ve süt üretimi dönemleriyle ilgilidir (34).

Sağlık Bakanlığı 2004 yılı istatistiklerine göre ülke genelinde bildirilen bruselloz olgu sayısı 18.264'tür. Morbidite hızı ise 100.000'de 25.67 olarak belirtilmektedir. Güneydoğu Anadolu bölgesi bruselloz olguları bakımından 6.800 olgu ile ilk sırada yer alırken İç Anadolu bölgesi 4.383 olgu ile ikinci sırada yer almaktadır. Doğu Anadolu bölgesi 4.137 olgu, Akdeniz bölgesi 1576 olgu, Ege bölgesi 846 olgu ve Marmara bölgesi 423 olgu ile bu bölgeleri takip etmektedir (32).

II.5. PATOGENEZ

Brucella türleri fakültatif hücre içi bakteri olduğundan konağın fagositik hücrelerinde canlı olarak kalabilirler. Bunun nedeni ise nötrofillerde miyeloperoksidaz sistemini baskılayan, makrofajlarda fagozom-lizozom füzyonunu engelleyen ve oksidatif hasara karşı koruyan bazı maddeler ve enzimler sentez etmeleridir (14).

Diğer patojenik bakterilerden farklı olarak *Brucella* suşlarında klasik virülans faktörü tanımlanmamıştır. *Brucella* türlerinin virülans elemanları bir takım moleküler belirleyicidirler. Bakteri mukozayı aştıktan sonra submukozal dokularda bulunan fagositler tarafından fagosite edilir (1). Makrofajlarda, hücresel prion proteini (PrPc) ve A sınıfı çöpçü reseptörü (SR-A), *Brucella* antiijenlerinin bağlandığı özel reseptörler vardır (21). Fagosit tarafından hücre içine alındıktan sonra, kendisinin çoğalabileceği özgül bölgeye ulaşır. Hücre içine alınan bakterilerin sadece %15-30'u lizozomla birleşmekten kurtulur ve çoğalabileceği endoplazmik retikulumda ulaşır. Bakteri endoplazmik retikulumda çoğalır (22).

Brucella türleri fagosit içerisinde fagolizozom birleşmesini engelleyerek canlılığını sürdürür. Tam olarak bu korunmanın mekanizması bilinmemektedir. Enfekte makrofajlar tümör nekroz faktörü (TNF) α salgılayarak otokrin ve parakrin olarak enfeksiyonu sınırlandırmaya çalışırlar. Gerek uyarılmış T hücreleri gerekse natural killer (NK) hücrelerden salgılanan interferon (IFN) γ makrofajların antibakteriyel etkinliğini daha da artırır. Makrofaj aktivasyonu reaktif oksijen ve nitrojen bileşenlerinin ortaya çıkmasına, protein sentezinin inhibisyonuna, MHC tip II hücre aktivasyonunun artışına veya apoptozise neden olur. İstirahat halindeki makrofaj hücre içi patojenlerin eliminasyonu konusunda yetersizlik gösterirken, aktive olmuş makrofaj daha etkin bir şekilde patojenleri parçalayabilir (21, 23, 24).

Bakteriler bölgesel lenf bezlerinde ürer ve çoğalan bakteriler hematojen yolla Retikülo Endotelyal Sistem (RES) organlarına yayılır. Yerleştiği başlıca organlar karaciğer (KC), dalak, kemik iliği (Kİ), böbrek, santral sinir sistemi, endokard, testis ve overlerdir. Özellikle KC, dalak, Kİ'nde epitelooid hücreler, plazma hücreleri ve mononükleer hücrelerle çevrili granülomlar *Brucella* karakteristik histopatolojik görünümüne neden olmaktadır (20). Bu organlarda intrasellüler üremelerine devam ederler. Bakterilerin fagositik hücre içerisinde

yaşamasında etkili olduğu düşünülen mekanizmalar; bakterilerin lizozomal enzimlere dirençli olması, fagolizozomu engellemesi, adenin ve 5'-guanozin monofosfat üreterek nötrofillerin H₂O₂ oluşturmalarının engellemesi ve sahip oldukları süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile reaktif oksijen moleküllerini uzaklaştırarak oksidatif yıkıma karşı koymasındır (25, 26).

Brusellozda konağın immün cevabı humoral ve hücrel immün cevabın kombinasyonu şeklindedir. Humoral immünite reenfeksiyona karşı korunmada etkili iken, bakterisidal fazda hücrel immünite daha önemli bir görev almaktadır. Enfeksiyonun kontrolü ve eradikasyonu, T-lenfositlerinden salgılanan lenfokinlerin makrofajları aktive etmesi ile sağlanır. İmmün yanıtın başlamasını takiben, protein yapısındaki brucella antijenlerine karşı gelişen geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu oluşan granümatöz lezyonlar enfeksiyonun sınırlandırılmasında önemli rol oynarlar (2). Bağışıklık sistemi mikroorganizmayla karşılaştığında 7–10 gün içinde IgM antikor cevabı, ardından 7–14 gün sonra IgG antikor cevabı meydana gelir. Daha sonra her iki immunoglobulin birlikte artar ve çoğunluğunu IgG oluşturur. İyileşme döneminde, IgG antikorları aylar içinde düşer; IgM antikorları ise enfeksiyondan sonra 1–2 yıl, bazen de yıllarca serumda düşük seviyede kalabilir. IgG antikor persistansı kronik enfeksiyonu, IgG titresinde ikinci bir artış relapsı gösterir (27, 28). Ig G 'den haftalar sonra Ig A antikor seviyeleri tespit edilebilir düzeye gelir fakat tanısal bir değeri yoktur (2).

Kuluçka süresi alınan bakteri sayısı ve vücuda giriş yoluna göre değişebilir. Bakterinin ağız yoluyla alınması durumunda, mide asidinin yetersizliği bakterinin geçişini kolaylaştırır (14). Ayrıca, bakterinin ağız yoluyla alınması durumunda üreaz üreten suşların üretmeyenlere göre daha dirençli olduğu ve bunun bir virülans faktörü olduğunu vurgulayan yayınlar mevcuttur (29, 30).

II.6. KLİNİK

Brucella türleri konakta birçok organı etkileyebilme yeteneğine sahip olduğu için hastalık oldukça geniş bir klinik spektruma sahiptir. Hastalığın şiddeti; alınan bakterinin sayısı, konağın duyarlılığı, immünitesi ve altta yatan hastalığın olup olmaması ile yakından ilişkilidir. Daha önceki yayınlarda başta *B. melitensis* ve *B. abortus* olmak üzere türler arasında klinik farklılık olması üzerinde durulmasına

rağmen (14, 35) yapılan bir çalışmada *B. melitensis* ve *B. abortus* bakteriyemisi olan hastalar arasında klinik açıdan bir fark bildirilmemiştir (30, 36).

İnkübasyon süresi 2-3 haftadır. Bu süreyi takiben ateş, üşüme, titreme, terleme, halsizlik, miyalji, artalji, baş ağrısı gibi özgül olmayan semptomlar ortaya çıkar (30, 37).

Asemptomatik enfeksiyon, akut enfeksiyon, subakut enfeksiyon, kronik enfeksiyon olmak üzere dört klinik formu vardır. Asemptomatik enfeksiyon yapılan serolojik taramalar sırasında ortaya çıkan ve herhangi bir semptom vermeyen tablodur. Daha çok çiftçi, veteriner gibi hayvanlarla sık teması olan meslek gruplarında karşımıza çıkmaktadır. Semptom olmadığı için bu olgular tedavi edilmelerine gerek yoktur (38).

Akut bruselloz hafiften ağır seyirli tabloya kadar değişen bir spektrum gösterebilir. Ağır seyirli tabloda üşüme, titreme ile yükselen ateş, terleme, yaygın vücut ve eklem ağrıları görülür. Hafif ve orta seyirli vakalarda influenzaya benzer özgül olmayan belirtiler mevcuttur. Semptomların süresi iki aydan fazla ise subakut bruselloz olarak tanımlanır. Akut ve subakut brusellozda sık rastlanan fizik muayene bulguları splenomegali (%20-30), hepatomegali (%20), servikal ve aksiller bölgede hafif lenfadenopatidir (%12-21). Lenfadenopati akut brusellozu gösterir ve genellikle servikal ve aksiler bölgede saptanır.

Hastalığın bir yıldan uzun sürdüğü durumlarda kronikleştiği kabul edilir. Bu durum 40 yaş üstü erişkinlerde sık, çocuklarda nadirdir. Kronik brusellozda halsizlik, yorgunluk, sinirlilik, uykusuzluk, emosyonel labilite, baş ağrısı ve depresyon ön plandadır. Fizik muayene bulguları ateş, hepatomegali, splenomegali, lenfadenopati ile etkilenen sistemlere ait bulgulardır (39).

II.7. KOMPLİKASYONLAR

Bazı kaynaklar komplikasyonları lokalize enfeksiyonlar başlığı altında ayrı bir klinik form olarak kabul eder. Beşyüzotuz olgunun ele alındığı prospektif bir çalışmada fokal komplikasyon oranı %32 olarak saptanırken, 480 olgunun ele alındığı bir başka çalışmada bu oran %27.7 olarak bildirilmiştir (37, 40).

Bruselloz hemen her sistemi tutabilen bir zoonozdur. En sık tutulan sistemler; kas iskelet sistemi ve gastrointestinal sistem olup merkezi sinir sistemi,

 rogenital sistem, hematolojik sistem, kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, deri ve oküler sistemler ise daha az tutulurlar (41).

II.7.1. Kas iskelet sistem tutulumu:

Brusellozda kas iskelet sistem tutulumu hastaların %10-80'inde görülebilmektedir. Artralji, myalji, artrit, sakroileit, bursit, tendinit, spondilit, osteit, osteomyelit gibi klinik formlar görülebilir. Artralji en çok diz, ayak bileği ve omuz eklemlerinde ortaya çıkar (2, 41).

Bruselloz tüm eklemleri tutabilmekle birlikte daha çok sakroiliak, kalça, omuz, diz, el ve ayak bilekleri tutulur. Spondilit brusellozlu hastaların % 10-65'inde görülür (20). Enfeksiyon sırasında periferik artrit de görülebilmektedir (42). Spondilit saptanan olgularda radyolojik olarak vertebralar arası mesafede daralma ve ileri dönemlerde vertebralarda füzyon meydana gelebilir. Yine radyolojik olarak vertebra korpusunun  n üst k sesinde güve yeniği manzarası seklinde osteoporoz (Pedro-pons arazı), osteofit ve sindesmofitler oluşabilir. Bazen subperiosteal ve subkondral apseler görülebilir (20, 43). Brusellozda bursit, tendinit ve fibrozit seklinde tutulumlar da görülebilmektedir. En çok tutulan bursa prepatellar bursa olup genellikle kronik gidi lidir ve antibiyotik tedavisi ile düzelmektedir (41, 42).

Kas iskelet tutulumu gösteren 43 bruselloz olgusuyla ilgili yapılan bir çalışmada, 25 hastada spondilit, 21 hastada periferik artrit, 10 hastada sakroileit ve birer hastada osteomyelit, bursit ve tendinit saptanmıştır (44).

II.7.2. Gastrointestinal sistem tutulumu:

Pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi, gastrointestinal sistemde; istahsızlık, karın ağrısı, bulantı, kusma, kabızlık, ishal gibi semptomlara yol açabilir (45).

Peyer plaklarının inflamasyonu sonucu barsak mukozasında hiperemi oluştuğu bildirilmiştir. *B. melitensis* koliti tanısı konulan hastalarda ileum inflamasyonu radyolojik ve histolojik olarak gösterilmiş olup, literatürde brusella enfeksiyonuna sekonder ileit tanısı ile tedavi edilmiş olan olgular mevcuttur (2).

Karaciğer tutulumu brusellozda sıklıkla görülmekle birlikte karaciğer fonksiyonlarında genellikle hafif derecede bir artış olmaktadır. Brusella hepatitinin en sık görülen şekli granülomatöz hepatittir. *B.abortus* ve *B.canis* olgularında granülomatöz hepatit daha sık görülmektedir (42).

B. melitensis enfeksiyonlarında portal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonları mevcuttur. *Brucella suis* enfeksiyonları ise karaciğer ve dalakta süpüratif apselere yol açabilmektedir (2). Bruselloz olgularında splenomegali özellikle akut vakalarda sık görülmektedir (42). Bunların dışında, nadiren akut kolesistit, pankreatit, spontan bakteriyel peritonit de görülebilmektedir (46).

II.7.3. Santral sinir sistemi tutulumu:

Santral sinir sistemi tutulumu olguların % 5'inden azında görülür ve sıklıkla akut veya kronik menenjit şeklindedir. Brusellozda görülen nörolojik komplikasyonlar: menenjit, ensefalit, meningovasküler komplikasyonlar, parankim hasarı, periferik nöropati/radikülopati ve psikoz şeklindedir (20).

II.7.4. Ürogenital sistem tutulumu:

Ürogenital sistem tutulumu vakaların %2-14'ünde görülmektedir. Tek taraflı epididimoorşit en sık görülen ürogenital sistem tutulumu olup interstisyel nefrit, piyelonefrit, glomerülonefrit görülebileceği gibi nadiren de testiküler apse, seminal vezikülit, prostatit görülebilir (2, 47, 48).

Hayvanların plasentasında bulunan eritritol adlı madde bakterinin genital traktusa yerleşmesini kolaylaştırmakta ve klinik tablo abortus ile sonuçlanabilmektedir. İnsanlarda da bruselloz abortusa yol açabilmekle birlikte, diğer enfeksiyon hastalıklarından daha sık abortusa neden olduğu tartışmalıdır. Khan ve ark. (49)'nın, yaptığı bir çalışmada bruselloz tanısı konmuş olan hamile kadınlarda birinci ve ikinci trimesterdeki düşük sıklığının % 43, üçüncü trimesterdeki fetal ölüm sıklığının ise % 2 olduğu bildirilmiştir.

II.7.5. Hematolojik tutulum:

Bruselloza bağlı anemi, lökopeni, trombositopeni gibi hematolojik sistem tutulumu daha sık saptanırken, pansitopeni daha nadir görülmektedir (50). Yapılan bir çalışmada, bruselloz tanısı konulan 233 hastadaki hematolojik bulgular araştırılmış; 128 (%55) hastada anemi, 49 (%21) hastada lökopeni, 59 (%26) hastada trombositopeni, 18 (%8) hastada ise pansitopeni geliştiği bildirilmiştir (51).

Bruselloz olgularında hematolojik tutulum özellikleri açısından pansitopeni tablosu en sık *B. melitensis* enfeksiyonlarında görülmektedir. Pansitopeni nadir görülmekle birlikte, kemik iliğinde granülom oluşumu, hemofagositoz ve hipersplenizm ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (52).

Steroid tedavisi veya splenektomi gerektirecek kadar ciddi düzeyde trombositopeni görülebilmektedir. İdiopatik trombositopenik purpura tanısıyla takip edilen birçok olgunun brusella enfeksiyonuna bağlı olduğu anlaşılmıştır (53).

II.7.6. Kardiyovasküler sistem tutulumu:

Brusellozda kardiyak komplikasyonlar endokardit, miyokardit, perikardit ve aort kökü apsisi olarak sıralanabilir. Endokardit en sık görülen kardiyak tutulum şekli olmakla birlikte tüm vakaların % 2'sinden azında görülebilmektedir (2). Buna karşın bruselloza bağlı ölüm sebepleri arasında endokardit önemli bir yer tutmaktadır. En sık aort kapağı daha sonra ise mitral kapak tutulmaktadır. Brusella endokarditi olgularında genellikle antimikrobiyal tedavi ile birlikte cerrahi girişim gerekmektedir (20).

II.7.7. Solunum sistemi tutulumu:

Bakteri inhalasyon veya bakteriyemi yoluyla akciğerlere ulaşarak solunum sistemi bulgularına yol açmaktadır. Solunum sistemi semptomları öksürük, balgam, dispnedir. Radyolojik olarak parankimal nodüller, lobar pnömoni, paratrakeal lenfadenopati, plevral effüzyon saptanabilir (54).

II.7.8. Deri tutulumu:

Hastalığın yüksek ateşle seyrettiği toksik dönemde nadir olgularda makülopapüler veya eritematöz deri döküntüleri görülebilir. Deri lezyonları eritem, papül, ürtiker, peteşi, impetigo, ekzema benzeri raş, eritema nodosum, derialtı apseleri veya kütanöz vaskülit şeklinde olabilir. Düşük yapan hayvanların plasentasını çıkartmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının özellikle ön kol gibi temas bölgelerinde görülebilir (2).

II.7.9. Oküler tutulum:

Üveit, optik nevrit, papil ödemi, korneal tutulum, kronik iridosiklit, ve koroidit gibi göz tutulumları bildirilmiştir. Üveit dolaşan immunkomplekslerin varlığı ile açıklanır ve nonenfeksiyözdür. Topikal ve sistemik kortikosteroid tedavilerine yanıt vermektedir (55).

II.8. TANI

Sağlık Bakanlığı'nın klinik tanımlaması: Bir kişide hayvancılıkla uğraş, mesleki temas veya enfekte hayvana ait ürünlerin (özellikle taze peynir başta olmak üzere süt ve süt ürünleri) tüketilmesi öyküsü ile birlikte; akut veya sinsi başlangıçlı, devamlı ya da değişken süreli intermittan veya düzensiz ateş, yorgunluk, iştahsızlık, kilo kaybı, baş ağrısı, özellikle geceleri yoğun terleme, vücutta yaygın kas ve eklem ağrılarıyla karakterize hastalıktır (56).

Tanı için laboratuvar kriterleri:

Destekleyici;

Serum örneklerinden Rose-Bengal testi ile antikor pozitifliği

Doğrulayıcı;

Klinik örneklerden *Brucella spp*'in izolasyonu,

Daha önce tedavi almamış olguda, tek serum örneğinde STA ile antikor titresinin >1/160 olması,

En az iki hafta ara ile alınan çift serum örneğinde *Brucella* STA titresinin 3-4 kat artışı

Vaka sınıflaması:

Olası vaka: Klinik tanımlamaya uyan ve destekleyici laboratuvar testi ile pozitif bulunan vaka.

Kesin vaka: Klinik tanımlamaya uyan ve doğrulayıcı laboratuvar kriterlerinden en az biri pozitif olan vaka (56).

Bruselloz şüphesi olan hastalara tanı koymak için, anamnez, fizik muayene, rutin hematolojik ve biyokimyasal laboratuvar testler, radyolojik incelemeler ve en önemlisi var olan veya yeni kullanıma giren brusellaya özgü kültür, serolojik ve moleküler testlerin birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Bruselloz tanısı için kullanılan rutin hematolojik incelemeler, başlıca tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı ve karaciğer fonksiyon testleridir. Genellikle bu testlerin sonuçları değişkendir ve insan brusellozu tanısı için özgül değildir (57).

Tanı testleri direkt ve indirekt yöntemler olmak üzere iki ana başlık altında toplanır.

II.8.1. Direkt Tanı Testleri:

A. Kültür

B. Moleküler testler

1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)
2. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

II.8.2. İndirekt Tanı Testleri:

- A. Hızlı aglutinasyon testleri
- B. Tüp aglutinasyon testleri
- C. ELISA
- D. Kompleman fiksasyon testi
- E. Brucellacapt testi
- F. Brusella dipsitik test
- G. Floresan polarizasyon deneyi
- H. İmmünfloresan test (IFT)
- İ. Deri testleri

II.8.3 Radyolojik Tanı Yöntemler:

II.8.1. DİREKT TANI TESTLERİ

Bruselloza neden olan suşun kültürden izolasyonu ya da antijenlerinin ve nükleer materyallerinin moleküler tekniklerle gösterilmesi temeline dayanan testlerdir.

A. KÜLTÜR

Altın standart yöntemdir. Brusella şüpheli örnekler iki saat içinde ekilmeli, mümkün değilse 2-8°C’de saklanmalıdır. Alternatif olarak -20°C’de saklanabilirler. Etken en sık olarak kan ve kemik iliği kültürlerinden izole edilir. Dalak, karaciğer biopsi materyalleri, apseler, eklem sıvısı, BOS gibi örneklerden de etken izole edilebilir. Kültür için solid (katı) ve sıvı besiyerleri kullanılır. *Brucella spp.* kanlı agar, çikolata agar ve tripticase soy agarda ürer. Kan kültürleri sadece sıvı ortamlarda ve bifazik ortamlarda yapılabilir. Tüm ekimler çift yapılarak biri %5-10 CO₂’li ortamda 37 °C’de enkübe edilmelidir. Otomatik sistemlerin üreme uyarı sistemleri mevcuttur. BACTEC (Becton Dickinson), BACT/ALERT (Bio-Merieux) brusella türlerinin üretilmesi için yeterli özelliklere sahiptir (58, 59).

B. MOLEKÜLER TESTLER

1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

PZR, Brusellozun tanısında kültür ve serolojik testlerden daha duyarlıdır. Tüm materyaller için uygun bir testtir ayrıca tanı amaçlı kullanılabileceği gibi, bakteri tiplendirmesi ve epidemiyolojik çalışmalarda da kullanılabilir (60).

Son yıllarda kullanıma giren PZR testi duyarlılığının yüksek olması, hızlı olması, herhangi bir vücut dokusunda uygulanabilmesi ve bulaştan 10 gün sonra bile pozitif sonuç verebilmesi açısından önemli bir gelişme olmuştur. PZR teknikleri ve ekstraksiyon yöntemleri hem hayvan hem de insan *Brucella* enfeksiyonlarının tespitinde de kullanılmaktadır (22, 61, 62).

PZR çok az sayıda bulunan *brucella* bakterilerini bile tespit edebildiği için, özellikle nüks olguların değerlendirilmesi ve tedavi sonrası izlemde çok değerlidir (63). Bruselloz tanısında real time PZR kullanımıyla ilgili ilk çalışma Redkar ve ark. tarafından yapılmıştır (64). Bu yöntemle, klinik örneklerden *brucella* bakterisinin direk tespit edilmesinde duyarlılık %50-%100, özgüllük ise %60-%98 olarak tespit edilmiştir (57, 65).

2. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP):

Türe özel RFLP, *genus*ün üyelerini ayırmada kullanılabilecek moleküler testlerden biridir (60). Bu yöntem çeşitli organizmaların DNA'larının özel restriksiyon enzimleri (Restriksiyon Endonükleazları: RE) kullanılarak kesilmesi sonucunda, türlere ve hatta bazen suşlara özgü farklı uzunluklarda DNA parçaları oluşması ile karakterize DNA modellerinin elde edilmesidir. Elde edilen modellere, belli bir popülasyona ya da bireye özgü olduğu için "DNA parmakizi" (DNA fingerprinting–DNA profiling) denir. Restriksiyon enzimleri DNA'yı 4–6 bp'lik özel tanıma bölgelerinden keserler. Daha sonra ortaya çıkan DNA parçalarının uzunlukları jel elektroforezi yoluyla görüntülenir (66).

Son yıllarda *Brucella* suşlarının tür/biyovar tayini amacıyla RFLP analizi ve AMOS-PCR (*abortus melitensis ovis suis*) gibi çeşitli teknikler denenmiş, ancak karşılaşılan sorunlar nedeniyle çok fazla kullanım alanı bulamamıştır (67).

II.8.2. İNDİREKT TANI TESTLERİ (SEROLOJİK TESTLER)

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 (alerji) ‘deri testleri’ ile araştırılmasına dayanan tanı yöntemleridir.

A. HIZLI AGLÜTİNASYON TESTLERİ

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

1. Rose Bengal Testi: En hızlı ve duyarlı tarama testidir. Duyarlılığı %96 ile %100 arasında değişir. Akut brusellozda göreceli olarak iyi sonuçlar vermesine rağmen, kronik ve komplike vakalarda yanlış negatif sonuç verebilir (57).

2. Lam Aglütinasyon Testi: Tam kan kullanılarak yapılan lam aglütinasyon deneyi (SPOT testi), özellikle kitle taramalarında bir ön deney olarak kullanılır.

3. Mikroaglütinasyon Testi: Daha kısa inkübasyon zamanı ve daha az antijen gerektiren bir testtir.

4. Kart Test: Esas olarak hayvan serumunu test etmek için hazırlanmış, tamponlanmış, boyanmış bakteri süspansiyonunun kullanıldığı makroskopik bir aglütinasyon testidir (68).

B. TÜP AGLÜTİNASYON TESTLERİ

1. Serum Tüp Aglütinasyon Testi (Wright Testi):

Bruselloz tanısında kullanılan standart serolojik test Serum Tüp Aglütinasyon (STA) testidir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır. Uzun yıllardır kullanılmasına rağmen brusellozun serolojik tanısında hala en önemli testtir (57). *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, lipopolisakkarit (LPS) benzerliğinden dolayı *B. abortus*, *B. suis* ve *B. melitensis*’e karşı oluşmuş antikorlar tarafından aglütine edilir. Bruselloz tanısı için, titrenin 1/160 den fazla olması veya bir iki hafta sonra titrenin 3-4 kat yükselmesi anlamlıdır. Üç haftalık bir hastalık süresinden sonra hastaların %97’sinden fazlasında enfeksiyon serolojik olarak saptanabilir.

STA testinin düşük özgüllüğü diğer proteinlerle olan çapraz reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Romatoid faktör aktivitesi ile oluşan IgM, STA testindeki özgüllüğün düşüklüğünden sorumludur. STA testi uygun tedavi protokolünün

seçiminde ve hastalığın seyrini göstermede önemli olan farklı immunglobulin sınıflarını ayırt etmez (68). Bu testte yalancı negatiflik sonuçları prezon fenomeni, hastalığın erken döneminde olması ve blokan antikor varlığında gözlenebilir. Prezon fenomeninde aglütinasyon serumun düşük dilüsyonunda ve özellikle serumun yüksek titrede antikor içerdiği durumlarda maskelenebilir. Sıklıkla 1/20 dilüsyonda görülür; 1/80 ve üstü dilüsyonlarda nadirdir (22, 69). 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 (22). Yalancı pozitif ve negatif sonuçlar 1/320 veya daha yüksek dilüsyonların yapılmasıyla önlenabilir (2).

Bu testin en büyük dezavantajı hastalıktan sonra uygun antibiyotik tedavisine karşın olguların %5-72'sinde anlamlı STA testi titrasyonları iki yıla kadar yüksek kalabilmektedir. Bu nedenden dolayı hasta takibinde kullanılamamasıdır. Bu testin diğer bir olumsuzluğu *B.canis* enfeksiyonu tanısında kullanılamamasıdır (22).

2. Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) ve 2-Mercapto Ethanol'lı 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'nin 2-merkaptto ethanol (2-ME) ve rivanole duyarlılığından faydalanılır. Bu testler; IgM pentamerinin disülfid bağlarının 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 tespit eder (58). 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 (70).

3. Coombs Testi:

Klinik olarak bruselloz belirtileri olduğu halde yapılan aglütinasyon deneylerinin olumsuz olması, brusellozda sık rastlanan bir durumdur. Bunun nedeni

antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglütinasyon reaksiyonu oluşturmamasını engelleyen bir mekanizmanın bulunmasıdır. Bloke edici ya da blokan antikorlar olarak tanımlanan bu tip immunglobulinlerin varlığında, antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon meydana gelmemektedir. 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 da ortaya çıkabilir. Özellikle serum yüksek titrede antikor içerdiği zaman aglütinasyon düşük serum dilüsyonlarında maskelenebilir. Bu duruma 'antikor fazlalığı zone' veya 'prezon' adı verilir. Serum örneklerinin daha yüksek dilüsyonlarıyla çalışılmasıyla prezon olayı önlenir (22).

C. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

ELISA klinik olarak bruselloz düşünülen, ancak diğer tanısal testlerin negatif olduğu, komplike, lokal ve kronik vakalarda seçilebilecek bir testtir. Total ve özgül immunglobulinleri (IgG, IgM, IgA), 4-6 saat gibi hızlı bir sürede, yüksek duyarlılık ve özgüllük ile saptayabilir (57). Özellikle nörobruselloz vakalarında beyin omurilik sıvısında (BOS) antikor aramak için ELISA testi uygun bir yöntemdir (58). Ayrıca nüksü ve kronikleşmeyi belirlemede ELISA ile IgG titresinin ölçümü çok önem taşımaktadır. Çünkü nüks olgularında IgM genellikle negatif iken, IgG artan titrelerde pozitif bulunmuştur. ELISA duyarlılığı ve özgüllüğü ile çoğu testten üstün olmasına rağmen pahalı oluşu en büyük dezavantajıdır (71).

Son zamanlarda geliştirilen 'Competitive Enzyme Immunoassay (CELISA)' testinin özgüllüğü %96.5-100 ve duyarlılığı %94.8-100 arasında bulunmuştur. İnsan brusellozunun tanısında uygun bir test olduğu ve bir doğrulama testi olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (72).

D. KOMPLEMAN FİKSASYON TESTİ (KFT)

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 aşılmalarda KFT önemli bir tanı yöntemidir (2).

Hastalığın ileri evrelerinde veya kronik hastalarda predominant olan IgG antikorlarının tanısında; 1/64 ve üzerindeki titreler önemlidir (68). Antikomplementer aktivitenin ortaya çıkması, kompleman gibi kararsız reaktiflerin kullanılması, hastalığın başlangıç dönemlerinde kompleman fiksasyonuna yanıtın tespit edilmesindeki yetersizlik ve teknik gereksinimler gibi dezavantajlara sahiptir (58, 73).

E. BRUCELLACAPT TESTİ

Son zamanlarda geliştirilen bu test "Sandwich ELISA" sistemine dayalı, mikro plakların kullanıldığı, STA ve coombs bir arada yapıldığı bir immünocapture aglütinasyon yöntemidir. Kuyucuklar insan kaynaklı IgA, IgM ve IgG antikorlarına karşı coombs antikorları ile kaplıdır. Bu nedenle brusellaya karşı oluşan her üç antikor da saptanabilir. Bu testte titrasyonlar 1/40 ile 1/5120 arasında olup, hem blokan hem diğer antikorlar tespit edildiği için titrasyon sonuçları STA ve coombs testine göre daha yüksektir (71). İncelenen serumda brusella antikorları yoksa antijenler kuyucuk duvarındaki antikorlara bağlanmaz dibe çöker. Kuyucuk dibinde mavi bir nokta görünümü oluşur ve sonuç negatiftir. Ama serumda brusella antikorları varsa antijenler duvardaki antikorlar tarafından tutularak homojen bir mavilik meydana gelir. Bu durumda sonuç pozitif olarak değerlendirilir. Bruselloz için 1/320 ve üzeri titreler daha anlamlı kabul edilir. Bu testin en önemli avantajları STA ve coombs testinin bir arada yapılması ve brusellozun tüm evrelerinde STA ve Rose-Bengal (RB) testine göre daha güvenli olmasıdır. Yalancı negatifliğin STA ve RB testine göre çok daha az olmasına karşın, bu testlerdeki yalancı pozitiflik oluşturabilecek durumların brucellacapt testinde de geçerli olması en büyük dezavantajıdır (74).

F. BRUCELLA DİPSİTİK TEST

Brusella spesifik IgM antikorlarının araştırılması için yararlıdır. Uygun laboratuvar şartları olmayan yerlerde hızlı tanı testi olarak kullanılabilir (75).

G. FLORESAN POLARİZASYON DENEYİ

Floresan depolarizasyon deneyinin sığır, domuz, koyun, keçi ve bizon gibi hayvanlarda brusellozunun serolojik tanısında uygun olduğu kabul edilmektedir (76).

H. İMMÜNFLORESAN TEST (IFT)

Konvansiyonel metodlarla karşılaştırıldığında farklı antikor sınıflarını saptamada kullanılır (68). Birkaç saatte sonuç verebilen hızlı bir testtir. ELISA ile karşılaştırılabilen sonuçlar verir. Ancak değerlendirilmesi görecelidir, IgA tespitinde başarısızdır ve değişik üretici firmalara bağlı farklı antijen reaksiyonları görülebilir (57).

İ. DERİ TESTLERİ

Brusellozda alerjik deri testleri, tamamlayıcı test olarak yararlı olmaktadır. En sık kullanılan ise 'Brucallergen' deri testidir. Brucallergen bir nükleoprotein kompleksi olup deri içine şırınga edildikten sonra 24 saat içerisinde enjeksiyon yerinde kızarıklık, ödem ve endurasyon oluşması, kişinin brusella bakterilerine karşı aşırı duyarlı olduğunu gösterir (77).

II.8.3. RADYOLOJİK TETKİKLER

Osteoartiküler sistem tutulumlarında sintigrafi kullanılabilir. Sintigrafi bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG)' ye göre daha ucuz olması daha az radyasyon maruziyetine neden olması, daha iyi anatomik lokalizasyon sağlaması ve daha kısa sürede sonuç alınması gibi avantajlara sahiptir. Ancak diğer yöntemlere göre özgül olmayışı ve enfeksiyonun erken evrelerinde bulgu vermemesi nedeniyle kullanımı sınırlıdır. MRG, kas-iskelet sistemi enfeksiyonlarının görüntülenmesinde, direkt grafiler ve bilgisayarlı tomografiden daha duyarlıdır. Reaktif kemik değişikliklerinin gelişmesi aşamasında, özellikle hastalığın erken evresinde sintigrafiden daha üstündür (78, 79).

II.9. TEDAVİ

Brusellozda hastalığın doğal gidişini kısaltmak, komplikasyon oluşmasını ve relapsları azaltmak amacıyla tedavi yararlıdır. Kullanılan anntibiyotiklerin invitro aktivitesinin ve hücre içine geçişinin iyi olması gerekmektedir (80). Bruselloz

tedavisinde en etkili antibiyotikler tetrasiklinlerdir (özellikle doksisisiklin ve minosiklin). Bu ilaçlarla yapılan randomize çalışmalarda tüm yaş gruplarında güvenli bulunmuştur. Tedaviyle genellikle semptomlar 2-7 günde hızla azalır ancak tedavinin altıncı haftasından sonra iyileşme daha yavaş olur. Tedavi başarısızlığı %1-5, relaps %5-10, kür oranları ise %80'in üzerindedir. Tetrasiklinler genellikle rifampisin, aminoglikozitler, trimetoprim-sulfametaksazol veya kinolonlar ile kombine edilirler. Tedavi süresi en az 6 hafta olmalıdır. Ancak sakroileit ve endokardit gibi komplikasyonların varlığında tedavi süresi uzatılmalıdır (81).

Relaps, tedavi tamamlandıktan sonra ilk bir yıl içerisinde hastalığın semptom ve bulgularının tekrarlaması ve/veya tedaviden sonra yeni bir pozitif kan kültürü olması şeklinde tanımlanır. Tedavi edilen olgularda %5'in üzerinde relaps görülür ve akut hastalıktan 3-6 ay sonra gelişir. Tedavili veya tedavisiz iyileştikten sonra yeniden akut olarak başlar. Relaps ve reenfeksiyonun ayırt edilmesi zordur. Relapsda klinik ve laboratuvar bulguları başlangıç hastalığından daha hafif seyirlidir. Genellikle antibiyotik tedavisinin tekrarlanmasına cevap verirler (2).

Kronik brusellozda gün aşırı 80 mg levamizolün 6 hafta süre klasik antibiyoterapi kombinasyonlarına eklenmesi ile artralji, terleme ve halsizlik gibi semptomların daha erken geçtiği, ayrıca C-reaktif protein (CRP), sedimantasyon ve lenfomonositozun anlamlı olarak daha hızlı düzeldiği görülmüştür (82).

II.10. KORUNMA

Bruselloz esas olarak vahşi ve evcil hayvanların hastalığıdır ve insanlara hastalık doğrudan veya dolaylı olarak hayvanlardan bulaşmaktadır. Bu nedenle hastalıktan korunmada asıl önemli olan, hayvanlardan insanlara bulaşmayı önlemektir. Süt ve süt ürünlerinin pastörize edilmesi, hayvanların aşılması, brusellozdan korunmada en önemli faktörlerdir. Laboratuvar çalışmaları sırasında olabilecek bulaşmaların önlenmesi için Seviye 3 Biyogüvenlik kurallarına uyulmalıdır (2).

III. HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışma 2010-2012 yılları arasında prospektif olarak yapıldı. Çalışma protokolü Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Fonu ve Etik Kurulu tarafından onaylandı (Proje numarası: TSU-10-3054).

Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran ve klinik olarak akut, subakut veya kronik brucelloz düşünülen (ateş, terleme, halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, yaygın kas ve eklem ağrısı gibi), ateş etiyolojisi araştırılan veya serum tüp aglütinasyon testi titresi 1/10 ve üzeri olan hastalar alındı. Eşlik eden enfeksiyonu, ağır sistemik hastalığı olan ve 16 yaşın altındaki hastalar çalışmaya alınmadı.

Kontrol grubuna meslek, yaş ve cinsiyet açısından benzerlik gösteren herhangi bir akut ya da kronik hastalığı olmayan ve yapılan değerlendirmelerde herhangi bir semptomu ve patolojik fizik muayene bulgusu olmayan kişiler alındı. Hastalar ve kontrol grubu benzer demografik özelliklere sahip kişilerden seçildi.

Olguların demografik verileri, meslekleri, çiğ süt ve süt ürünleri (özellikle çiğ süttten yapılmış peynir) tüketimi veya hayvancılık öyküleri, başvuru yakınmaları ve süresi, önceki tanı ve tedavileri, fizik muayene ve laboratuvar bulguları kaydedildi. Hasta takip kayıt formu Ek Tablo 1'de gösterilmiştir.

Şikayet süresi sekiz haftadan kısa olanlar akut brucelloz, sekiz hafta ile 52 hafta arasında olanlar subakut brucelloz, bir yıldan daha uzun süreli olanlar kronik brucelloz olarak değerlendirildi (39). Yapılan ilk değerlendirmede brucelloz tanısı konan hastaların tedavileri kendi hekimlerince düzenlendi.

Başlangıçta hastalardan ve kontrol grubundan 15-20 ml venöz kan alındı. Kan örneğinin 8-10 ml'si ile öncelikle standart kültür şişelerine ekim yapıldı, kalan kısmı 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de (devir/dakika) 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Kullanılan serumların hemolizli ve lipemik olmamasına dikkat edildi. Serum örnekleri temiz serolojik tüplere alınarak STA, coombs, ELISA, brucellacapt testleri çalışılmak üzere -20 °C' de saklandı.

Kan kültürleri otomatize "BACT/ALERT 3D" (BioMerieux, Fransa) cihazında 10 gün inkübe edildi. "BACT/ALERT 3D" (BioMerieux, Fransa) cihazında pozitif sinyal alınan kan kültürü şişelerinden kanlı ve çikolatamsı agar (Oxoid, England) besiyerine iki ayrı pasaj yapıldı. Pasajlardan birisi aerob, diğeri %5-10 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakıldı. Besiyerinde 48 saatlik inkübasyon sonucunda üreyen kolonilerden gram boyama, katalaz, oksidaz ve hızlı üreaz testi yapıldı. Gram negatif kokobasil şeklinde görülen, katalaz ve oksidaz pozitif, üre agar base'de (Oxoid, England) üreaz aktivitesi gösteren bakteriler *Brucella spp.* olarak tanımlandı (59).

Serum tüp aglütinasyon (Wright) testi uygulama yöntemi:

Dokuz adet steril tüpün ilkinde 900 µL ve diğerlerine 500 µL serum fizyolojik (SF) dağıtıldı. İlk tüpe hasta serumundan 100 µL konuldu ve karıştırıldı. Bu tüpten ikinci tüpe 500 µL aktarıldı ve aynı işleme diğer tüplerle devam edildi. Son olarak dokuzuncu tüpten 500 µL sıvı dışarı atıldı. Böylece seri serum sulandırımı her tüpte birer kat artırılmış oldu. Sonra bütün tüplere 500 µL bakteri süspansiyonu (standart anti-*B.abortus* serumla standardize edilmiş *B.abortus* S99, Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İstanbul) konuldu. Tüpler, 37°C'de 16 saat inkübe edilmek üzere etüve kaldırıldı. Üstteki sıvının berraklığı ve oluşan çökeltinin derecesine göre pozitif titreler kaydedildi. Aglütinasyon tüpleri çalkalanmadan okundu, özellikle üstte kalan sıvının bulanıklık derecesine göre değerlendirildi. Serumun sulandırma derecesine göre 1. tüp 1:10, 2. tüp 1:20, 3. tüp 1:40..... 9. tüp 1:2560 olarak değerlendirildi. Aglutinasyon titresi 1:40 ve 1:80 olan serumlar prezon fenomenini dışlamak amacıyla coombs testi yapılmak üzere ayrıldı (18).

Coombslu brucella testinin uygulama yöntemi:

Aglütinasyon vermeyen tüpler 2000 rpm de 20 dk. santrifüj edilerek antijen çöktürüldükten sonra üstteki sıvı döküldü. Her tüpe yeniden 0,5 cc SF konulduktan sonra tüp vortekslenerek süspansiyonun karışması sağlandı. Tekrar santrifüj edilerek üç defa bu işlem tekrarlandıktan sonra her tüpe 450 µL SF ve 50 µL insan antiglobulin (coombs) serumu eklendi. Tüpler karıştırıldı ve 37°C'de 16 saat bekletildikten sonra aglütinasyon okundu. En son aglütinasyon görülen tüpün titresi pozitif değer olarak kabul edildi (22).

Brucellacapt testinin uygulama yöntemi:

Brucellacapt kiti (Viracell SL, Granada, Spain) ve bütün reaktifler kullanmadan önce oda sıcaklığına getirildi (18-25°C). Kullanılacak sayıda strip folyodan çıkarıldı. A kuyusuna 100 µl, diğer kuyulara 50 µl dilüent koyuldu. A kuyusuna 5 µl serum pipetlendi ve karıştırıldı. Bu kuyudan 50 µl karışım alındı ve B kuyusuna pipetlenerek karıştırıldı. B'den 50µl alınarak C'ye pipetlendi. En son kuyudan 50 µl dışarı atıldı. Bu şekilde istenen titrede dilüsyon gerçekleştirildi. Bütün kuyulara 50 µl brucella antijeni ilave edildi. A kuyusu 1/40, B kuyusu 1/80, C kuyusu 1/160...H kuyusu 1/5120 titrasyonlara getirilmiş oldu. Kuyucuklar kutuda bulunan koruyucu bant ile kapatıldı ve plak dikkatlice çalkalandı. Kuyucuklarda bulunan sıvının kurumaması ve gerekli reaksiyonun gerçekleşmesi amacıyla plak nemli ortamda 24 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda striplerin üzerindeki koruyucu bant çıkarıldı. Kuyucukların dibinde mavi nokta oluşması, negatif sonuç olarak değerlendirildi. Kuyucukların duvarında homojen bir mavi renk oluşması ise pozitif sonuç olarak değerlendirildi (71).

ELISA IgG- IgM testi uygulama yöntemi:

İnkübatör 37±1°C'ye ayarlandı. *Brucella* IgG-IgM ELISA (NovaTec Immundiagnostica GmbH, Dietzenbach, Germany) kiti ve bütün reaktifler kullanmadan önce oda sıcaklığına ulaşması için 1 saat bekletildi. Tüm bileşenler çalkalandı ve teste başlamadan önce tüm örnekler 1/100 olacak şekilde, 10 µl serum ve 1 ml dilüent ile karıştırıldı. Her serum örneğinden 100 µl karışım alınarak bir kuyucuğa sırasıyla konuldu ve 37 °C' de 60 dakika inkübe edildi. Sonra 300 µl yıkama solusyonuyla dört defa yıkandı ve 100 µl konjugat (brucella anti-IgG veya

IgM) eklendi. Oda ısısında ve karanlık ortamda 30 dakika bekletildi. Tekrar yıkama solusyonuyla dört defa yıkandı ve 100 µl substrat alınarak bütün kuyucuklara konuldu. Oda ısısında 15 dakika karanlık ortamda bekletildi. 100 µl bitirme solusyonundan eklenerek 30 dakika içinde 450/620 nm’de okundu. Sonuçlar üretici firmanın önerisiyle "NovaTec-Units=NTU" birimine dönüştürüldü. “Cut-off” değeri 10 NTU olarak alındı, >11 NTU pozitif, <9 NTU negatif, 9-11 NTU gri zon olarak kaydedildi (57).

ELISA IgA testi uygulama yöntemi:

İnkübatör 37±1°C’ye ayarlandı. *Brucella* IgA ELISA (Genzyme-Virotech GmbH, Rüsselsheim, Germany) kiti ve bütün reaktifler kullanmadan önce oda sıcaklığına ulaşması için 1 saat bekletildi. Tüm bileşenler çalkalandı ve teste başlamadan önce tüm örnekler 1/100 olacak şekilde, 10 µl serum ve 1 ml dilüent karıştırıldı. Her serum örneğinden 100 µl karışım alınarak bir kuyucuğa sırasıyla konuldu ve 37 °C’ de 30 dakika inkübe edildi. Sonra 350-400 µl yıkama solusyonuyla dört defa yıkandı ve 100 µl konjugat (brucella anti-IgA) eklendi. Örnekler 37 °C’ de 30 dakika inkübe edildi. Tekrar yıkama solusyonuyla dört defa yıkandı ve 100 µl substrat alınarak bütün kuyucuklara konuldu. Örnekler 37 °C’ de 30 dakika inkübe edildi. Elli µl bitirme solusyonundan eklenerek 30 dakika içinde 450/620 nm’de okundu. Sonuçlar üretici firmanın önerisiyle "NovaTec-Units=NTU" birimine dönüştürüldü. “Cut-off” değeri 10 NTU olarak alındı, >11 NTU pozitif, <9 NTU negatif, 9-11 NTU gri zon olarak kaydedildi (57).

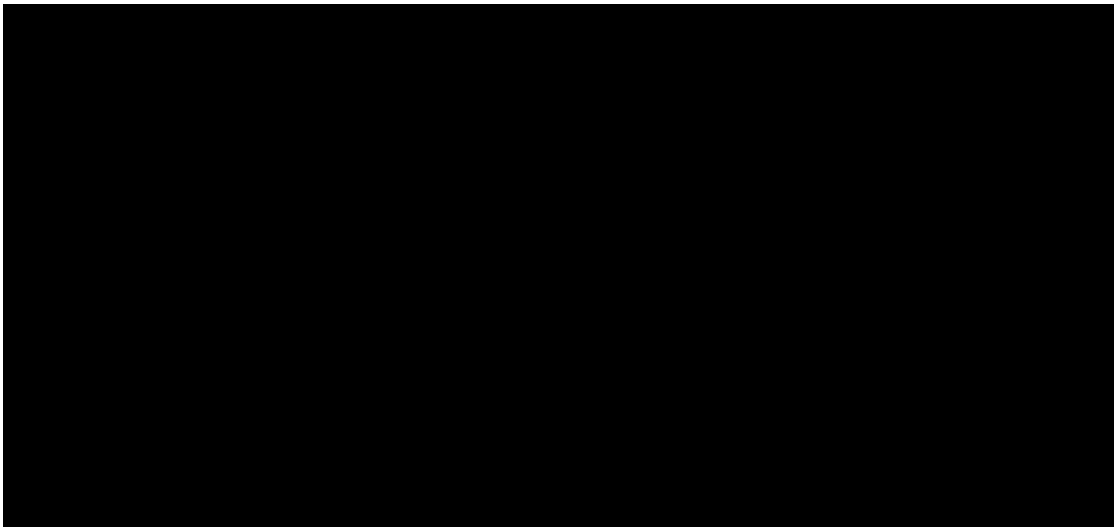
İstatistiksel analiz:

Değişkenler arasındaki uyum değerlendirilmesinde Cohen’s kappa analizi yapıldı. Kappa değerleri; <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum olarak değerlendirildi. Duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer hesaplandı. p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

IV. BULGULAR

Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran ve klinik olarak akut, subakut, kronik bruselloz veya relaps düşünülen, ateş etiyolojisi araştırılan, serum tüp aglütinasyon testi titresi $\geq 1/10$ olan 49 hasta ve kontrol grubu için 30 sağlıklı gönüllü alındı.

Çalışmaya alınan klinik olarak bruselloz düşünülen 49 hastanın %53 (n=26)'ü kadın, %47'si erkek ve kontrol grubuna alınan 30 gönüllünün ise %50'si erkek idi. Hastaların ortalama yaşı $40,8 \pm 16,8$ (16-77) yıl ve ortanca yaşı 38 yıl idi. Kontrol grubunun ortalama yaşı $35,2 \pm 13,6$ yıl olup, hasta grubuyla arasında fark yoktu. Bruselloz en sık 16-45 (n=33, %67,3) yaş grubunda ve en az 65 yaş ve üzeri (n=5, %10,2) yaşlarda görüldü. Olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımı Şekil 1'de gösterildi.



Şekil 1. Olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Tablo 2. Olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş grubu	Cinsiyet		Sayı (n)	Yüzde (%)
	Erkek	Kadın		
16-25	4	6	10	20,4
25-35	7	5	12	24,5
35-45	4	7	11	22,4
45-55	2	3	5	10,2
55-65	2	4	6	12,2
65-75	3	0	3	6,1
75-85	1	1	2	4,1
Toplam	23	26	49	100,0

Hastaların %42,8 (n=21)'inde bruselloz için mesleki risk saptandı. Olguların %38,8 (n=19)'i tarım ve hayvancılık ile uğraşırken, ev hanımı, memur ve öğrenci gibi bruselloz için bir risk oluşturmamayan meslek grupları ise olguların %57,2 (n=28)'sini oluşturmaktaydı. Pek çok enfeksiyon hastalığı için önemli bir risk grubunu oluşturan sağlık çalışanlarında ise bruselloz oranı %4 (n=2) idi. Ayrıca olgularımızın %67,3 (n=33)'ü kırsal alanda, %33,7 (n=16)'si ise kentlerde yaşıyordu.

Hastalarımızın %69,2 (n=34)'sinde bruselloz için olası bir enfeksiyon kaynağı saptandı. Buna göre olguların %44,8 (n=22)'inde taze süt ve süt ürünlerinin tüketimi, %24,4 (n=12)'ünde hayvan temas öyküsü varken, %30,8 (n=15)'inde kaynak saptanamadı. Olası enfeksiyon kaynağı saptanan 34 hastanın %18,3 (n=9)'ünde aile içi bruselloz öyküsü mevcuttu.

Tablo 3. Olguların olası enfeksiyon kaynağı

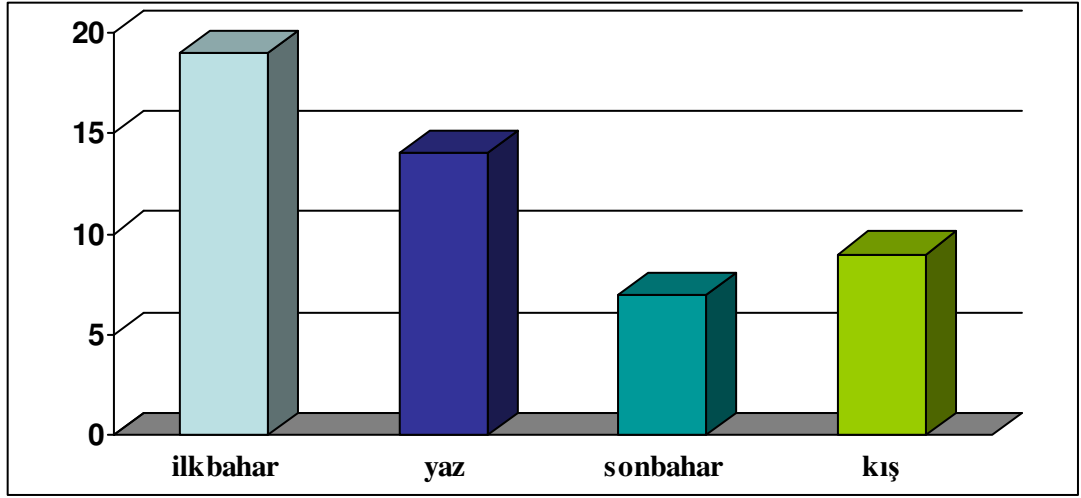
Olguların olası bruselloz kaynağı	Sayı (n)	Yüzde (%)
Taze süt ve süt ürünleri tüketimi	22	44,8
Şüpheli hayvan teması	12	24,4
Kaynak saptanamadı	15	30,8

Hastalarda saptanan en sık şikayet halsizlik (%75,5), eklem ağrısı (%65,3) kas ağrısı (%61,2) olup, en sık saptanan klinik bulgu ise artrit (%8,1) ve lenfadenopati (%8,1) idi. Bu şikayetler kronik bruselloz düşünülen hastalara oranla akut ve subakut bruselloz düşünülen hastalarda daha fazla saptandı. Hastaların yakınmaları klinik bulguları görülme sıklıklarına göre Tablo 4'te verildi.

Tablo 4. Bruselloz şüpheli hastalarda yakınmalar ve klinik bulgularının dağılımı

Yakınmalar	Sayı (%)	Klinik Bulgular	Sayı (%)
Halsizlik	37 (75,5)	Artrit	4 (8,1)
Eklem ağrısı	32 (65,3)	Lenfadenopati	4 (8,1)
Kas ağrısı	30 (61,2)	Hepatomegali	3 (6,1)
Ateş	27 (55,1)	Splenomegali	3 (6,1)
Üşüme-titreme	27 (55,1)	Menenjit	3 (6,1)
İştahsızlık	27 (55,1)	Spondilit	2 (4,0)
Terleme	25 (51)	Endokardit	2 (4,0)
Sırt ağrısı	19 (38,7)	Sakroileit	1 (2,0)
Kilo kaybı	15 (30,6)		
Baş ağrısı	15 (30,6)		
Bulantı	14 (28,5)		
Kusma	7 (14,2)		
Karın ağrısı	7 (14,2)		

Mevsimsel değişiklikler açısından değerlendirildiğinde; olguların %38 (n=19)'inde semptomlar ilkbahar aylarında görülürken, % 28 (n=14)'i yaz aylarında, %32 (n=16)'si sonbahar ve kış aylarında saptandı (Şekil 2). Akut ve subakut bruselloz olarak sınıflandırılan hastaların %72,7 (n=24)'sinin ilkbahar ve yaz aylarında başvurduğu, relaps olan hastaların ise %60 (n=6)'ının sonbahar ve kış aylarında başvurduğu belirlendi.



Şekil 2. Olguların mevsimsel dağılımı

Toplanan 49 hasta ve 30 kontrol serum örneğinden STA, brucellacapt ve ELISA IgG, IgM, IgA testleri çalışıldı. STA titresi 1/160'ın altında olan 28 hastaya coombs testi çalışıldı. Bu hastaların ikisinde coombs titresi 1/160 ve kalan 26 hastada 1/160'ın altındaydı.

Hastalar semptomlarının süresine göre sınıflandırıldığında; %42,8 (n=21)'i akut, %24,4 (n=12)'ü subakut, %12,2 (n=6)'si kronik bruselloz ve %20,4 (n=10)'ü relaps olarak kabul edildi. Klinik sınıflama ile testlerin uyumuna bakıldığında akut evrede en yüksek uyum STA ile ($\kappa=0,25$), subakut evrede kültür ($\kappa=0,20$) ile uyum saptanırken, kronik ve relaps düşünülen olgularda testler arasında uyum saptanmadı. Klinik sınıflamaya göre test sonuçları Tablo 5'te gösterildi.

Klinik olarak bruselloz düşünülen ve tedavi başlanan hastalardaki testlerin uyumu incelendiğinde en yüksek derecece uyum brucellacapt testi ile gösterildi ($\kappa=0,66$). Klinik altın standart alındığında duyarlılığı (%89,4) en yüksek test brucellacapt idi. Klinik olarak bruselloz tanısı konulan olgularda kültür ve serolojik testlerin karşılaştırılması Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 5. Klinik sınıflamaya göre kültür ve serolojik test sonuçları

		Kültür		STA		Brucellacapt		ELISA IgG		ELISA IgM		ELISA IgA	
		pozitif n(%)	negatif n(%)	pozitif n(%)	negatif n(%)	pozitif n(%)	negatif n(%)	pozitif n(%)	negatif n(%)	pozitif n(%)	negatif n(%)	pozitif n(%)	negatif n(%)
Klinik bruselloz	Var n=49	6(12,2)	43(87,8)	21(42,8)	28(57,2)	36(73,4)	13(26,6)	33(67,3)	16(32,7)	35(71,4)	14(28,6)	31(63,2)	18(36,8)
	Yok n=30	0(0)	30(100)	0(0)	30(100)	0(0)	30(100)	4(13,3)	26(86,7)	3(10)	27(90)	0(0)	30(100)
Akut n=21	pozitif	3(6,1)	18(36,7)	12(24,4)	9(18,3)	15(30,6)	6(12,2)	14(28,5)	7(14,2)	15(30,6)	6(12,2)	13(26,5)	8(16,3)
	negatif	3(6,1)	25(51,0)	9 (18,3)	19(38,7)	21(42,8)	7(14,2)	19(38,7)	9(18,3)	20(40,8)	8 (16,3)	18(36,7)	10(20,4)
K (p)		0,039(0,001)		0,25 (0)		-0,032 (0,001)		-0,011		0		-0,02	
Duyarlılık		14,2		57,1		71,4		66		71,4		61,9	
Özgüllük		89,2		67,8		25		32		28,5		35,7	
PPV		50		57,1		41,6		42,4		42,8		41,9	
NPV		58		67,8		53,8		56,2		57,1		55,5	
Subakut n=12	pozitif	3(6,1)	9(18,3)	7(14,2)	5(10,2)	11(22,4)	1(2,0)	9(18,3)	3(6,1)	9(18,3)	3(6,1)	9(18,3)	3(6,1)
	negatif	3(6,1)	34(69,3)	14(28,5)	23(46,9)	25(51,0)	12(24,4)	24(48,9)	13(26,5)	26(53,0)	11(22,4)	22(44,8)	15(30,6)
K (p)		0,20 (0)		0,16(0)		0,14(0)		0,06		0,02		0,10	
Duyarlılık		25		58,3		91,6		75		75		75	
Özgüllük		91,8		62,1		32,4		35,1		29,7		40,5	
PPV		50		33,3		30,5		27,2		25,7		29,0	
NPV		79		82,1		92,3		81,2		78,5		83,3	
Kronik n=6	pozitif	0(0)	6(12,2)	1(2,0)	5(10,2)	3(6,1)	3(6,1)	4(8,1)	2(4,0)	4(8,1)	2(4,0)	4(8,1)	2(4,0)
	negatif	6(12,2)	37(75,5)	20(40,8)	23(46,9)	33(67,3)	10(2,0)	29(59,1)	14(28,5)	31(63,2)	12(24,4)	27(55,1)	16(32,6)
K (p)		-0,13(0)		-0,14(0)		-0,08(0)		0,002(0,001)		-0,017		0,013	
Duyarlılık		0		16,6		50		66,6		66,6		66,6	
Özgüllük		86,0		53,4		23,2		32,5		27,9		37,2	
PPV		0		4,76		8,3		12,2		11,5		12,9	
NPV		86		82,1		76,9		87,4		85,2		88,8	
Relaps n=10	pozitif	0(0)	10(2,0)	1(2,0)	9(18,3)	7(14,2)	3(6,1)	6(12,2)	4(8,1)	7(14,2)	3(6,1)	5(10,2)	5(10,2)
	negatif	6(12,2)	33(67,3)	20(40,8)	19(38,7)	29(59,1)	10(2,0)	27(55,1)	12(24,4)	28(57,1)	11(22,4)	26(53,0)	13(26,5)
K (p)		-0,18(0)		-0,29(0)		-0,02(0,001)		-0,049(0,001)		-0,0093(0,001)		-0,093(0)	
Duyarlılık		0		10		70,0		60,0		70,0		50,0	
Özgüllük		84,6		48,7		25,6		30,7		28,2		33,3	
PPV		0		4,76		19,4		18,1		20,0		16,1	
NPV		76,7		67,8		76,9		75,0		78,5		72,2	

K: kappa değeri, K <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

Tablo 6. Klinik olarak bruselloz tanısı konulan olgularda kültür ve serolojik testlerin karşılaştırılması

	Kültür		STA		Brucellacapt		ELISA IgG		ELISA IgM		ELISA IgA	
Klinik	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
var	6	32	21	17	34	4	29	9	29	9	27	11
yok	0	11	0	11	2	9	4	7	6	5	4	7
K (p)	0,07(<0,001)		0,35(<0,001)		0,66(<0,001)		0,34(<0,001)		0,19(<0,001)		0,28(<0,001)	
Duyarlılık	15,7		55,2		89,4		76,3		76,3		71,0	
Özgüllük	87,7		100		81,8		63,6		45,5		63,6	
PPV	100		100		94,4		87,8		82,8		87,1	
NPV	25,5		39,2		69,2		43,7		35,7		38,8	

K: kappa değeri, K <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

Alınan 49 kan kültürü örneğinin %12,2 (n=6)'sinden ve iki hastanın (%4) eklem sıvı örneğinde *Brucella spp.* izole edildi. Kontrol grubuna ait hiçbir kan kültüründe üreme olmadı. Kan kültürü ve eklem sıvısında üremesi olan birer hastanın STA titresi 1/40 (negatif) iken, brucellacapt ve ELISA testleri pozitif sonuç verdi. *Brucella* kültürü pozitif olan hastaların serolojik test sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 7’de görülmektedir.

Tablo 7. *Brucella spp.* izolasyonu yapılan hastaların serolojik test sonuçlarının karşılaştırılması

	Hasta no	STA	Brucellacapt	ELISA Ig G	ELISA Ig M	ELISA Ig A
Kan kültürü (n=6)	4	1/2560	1/5120	+	+	+
	16	1/640	1/5120	+	+	+
	25	1/320	1/5120	-	+	+
	29	1/2560	1/5120	+	+	+
	34	1/40	1/640	+	+	+
	40	1/640	1/5120	+	+	+
Eklem sıvısı kültürü (n=2)	9	1/40	1/640	+	-	+
	41	1/160	1/5120	+	+	+

Kültür pozitifliği (eklem+kan) altın standart olarak kabul edilirse STA, brucellacapt, ELISA IgG, IgM, IgA testlerinin duyarlılıkları sırasıyla %62,5, %87,5, %75, %75, %87,5, özgüllükleri ise sırasıyla %77,4, %59,1, %56,3, %54,9, %66,2 idi. STA sekiz olgunun altısında pozitif (%75), ikisinde ise negatif bulundu.

Sadece kan kültürü pozitifliği dikkate alındığında, testlerin duyarlılıkları; STA için %83,3, brucellacapt için %100, ELISA IgG için %83,3, ELISA IgA için %100, ELISA IgM için %100 olarak hesaplandı. Kan kültürü ile serolojik test sonuçları karşılaştırıldığında STA (κ :0,28) ve ELISA IgA ile orta derecede uyum (κ :0,22) saptanırken, diğer testlerle istatistiksel olarak zayıf derecede saptandı ($p<0.001$).

Tablo 8. Brusella kültür sonuçlarıyla serolojik testlerin karşılaştırılması

	STA		Brucellacapt		ELISA IgG		ELISA IgM		ELISA IgA	
Kültür	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
Pozitif n=6	5	1	6	0	5	1	6	0	6	0
Negatif n=73	16	57	30	43	32	41	32	41	25	48
κ (p)	0,28 (<0,001)		0,17(<0,001)		0,11(<0,001)		0,16(<0,001)		0,22(<0,001)	
Duyarlılık	83,3		100		83,3		100		100	
Özgüllük	78,0		58,9		56,1		56,1		65,7	
PPV	23,8		16,6		13,5		15,7		19,3	
NPV	98,2		100		97,6		100		100	

κ : kappa değeri, $\kappa < 0$ uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

Toplam 49 hastanın 21'inde (%42,8) STA testi, 36'sında (%73,4) brucellacapt, 33'ünde (%67,3) ELISA IgG, 33'ünde (%67,3) ELISA IgM ve 31'inde (%61,2) ELISA IgA ile pozitiflik saptandı. STA 28 hastada negatif iken, brucellacapt 13 hastada negatif bulundu. STA testinin pozitiflik oranı diğer testlerle karşılaştırıldığında oldukça düşüktü. STA testi ile pozitif bulunan serumdaki titreler,

brucellacapt ile daha yüksek saptandı. Kontrol grubuna ait 30 örneğin hepsinde STA, brucellacapt ve ELISA IgA testleri negatifken, dört kişide (%13,3) ELISA IgG, üç kişide (%10) ELISA IgM düşük pozitif bulundu.

STA testi altın standart olarak alındığında ve bu testle diğer testler arasındaki uyum (birlikte pozitif ve birlikte negatif sonuç verme oranı) irdelendiğinde brucellacapt testinin duyarlılığı %100, ELISA IgG, IgM ve IgA test duyarlılıkları ise sırasıyla; %85,7, %90,4 ve %90,4, kültür duyarlılığı ise %23,8 idi. İstatistiksel olarak kappa değeri göz önünde bulundurulduğunda STA testi ile brucellacapt, ELISA IgG, IgM ve IgA testleri arasında yüksek derecede uyum olduğu görüldü. Bu testlerin uyumu Tablo 9’da gösterildi.

Tablo 9. STA testi referans olarak alındığında diğer testlerin uyumları

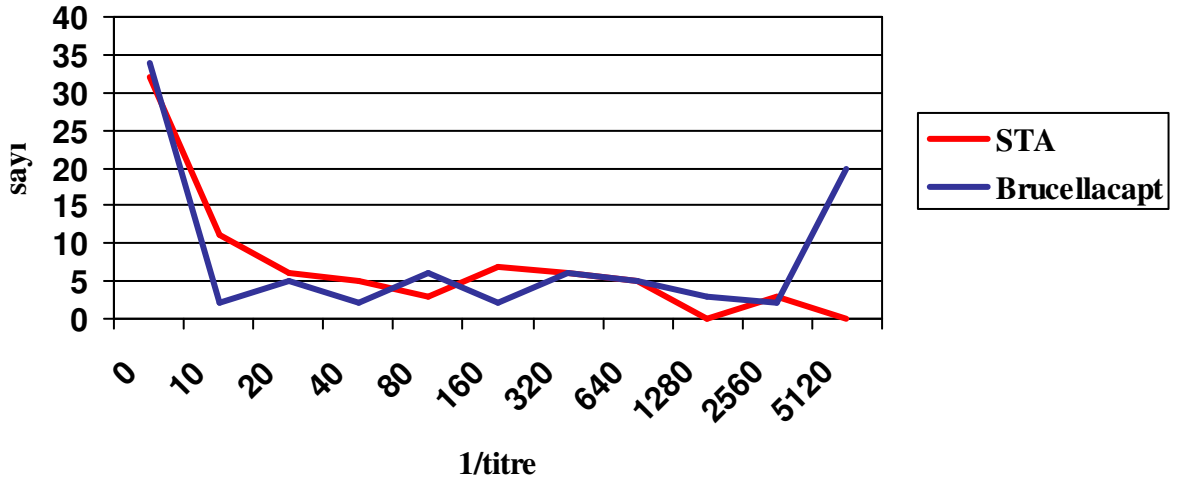
	Kültür		Brucellacapt		ELISA IgG		ELISA IgM		ELISA IgA	
STA	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
Pozitif n=21	5	16	21	0	18	3	19	2	19	2
Negatif n=58	1	57	15	43	19	39	19	39	12	46
K (p)	0,28 (<0,001)		0,60 (<0,001)		0,42 (<0,001)		0,45(<0,001)		0,60(<0,001)	
Duyarlılık	23,8		100		85,7		90,4		90,4	
Özgüllük	98,2		74,1		67,2		67,2		79,3	
PPV	83,3		58,3		48,6		50		61,2	
NPV	78,0		100		92,8		95,1		95,8	

K: kappa değeri, K <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

Hastaların %57,1 (n=28)’inde STA testi negatifken (1/160 ve altında), bu hastaların %50 (n=14)’sinde brucellacapt titresi 1/320 ve üzeri pozitif bulundu, bu hastaların hepsinde ELISA testlerinden bir ya da daha fazlasıyla pozitiflik saptandı. STA titresi 1/40 ve 1/80 olan iki hastada coombs testi ile 1/160 titrede pozitif idi. STA ve brucellacapt testlerinin sonuçlarının korelasyonu Tablo 10’da ve Şekil 3’te görülmektedir. STA testi negatif olan tüm hastaların diğer serolojik test sonuçları tablo 11’de ayrıntılı olarak sıralandı.

Tablo 10. STA ve brucellacapt testleri arasındaki korelasyon

	STA										
Brucellacapt	0	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	Toplam
0	32	2	0	0	0	0	0	0	0	0	34
1/40	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
1/80	0	4	1	0	0	0	0	0	0	0	5
1/160	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
1/320	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	6
1/640	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	5
1/1280	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	3
1/2560	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
1/5120	0	1	0	0	1	6	5	4	0	3	20
Toplam	33	11	6	5	3	7	6	5	0	3	79



Şekil 3. STA ve brucellacapt testleri arasındaki korelasyon

Tablo 11. STA testi negatif olan hastaların klinik sınıflaması ve diğer test sonuçları

Hasta no	Klinik sınıflama	STA	Coombs	Brucellacapt	ELISA IgG	ELISA IgM	ELISA IgA
1	Kronik	1/20	1/20	1/160	+	+	+
2	Kronik	1/40	1/80	1/640	+	-	+
3	Subakut	1/80	1/80	1/640	-	+	-
4	Kronik	1/10	1/20	1/320	-	+	-
5	Akut	1/10	1/10	1/40	+	+	+
6	Subakut	1/40	1/40	1/640	+	-	+
7	Subakut	1/10	1/10	-	-	+	-
8	Subakut	1/40	1/40	1/320	-	+	-
9	Kronik	1/20	1/20	1/160	+	+	+
10	Akut	1/10	1/20	1/80	+	-	+
11	Kronik	1/10	1/20	1/320	+	-	+
12	Kronik	1/20	1/20	1/80	-	-	-
13	Akut	1/20	1/20	1/80	-	-	-
14	Akut	1/10	1/10	1/80	-	+	-
15	Akut	1/10	1/10	1/40	-	-	-
16	Akut	1/10	1/20	1/80	-	+	-
17	Subakut	-	-	1/320	-	-	-
18	Kronik	1/80	1/160	1/5120	+	+	+
19	Subakut	1/20	1/20	1/320	+	+	-
20	Akut	-	-	-	+	-	-
21	Subakut	1/20	1/80	1/2560	+	-	+
22	Akut	1/10	1/20	-	-	-	-
23	Subakut	1/40	1/160	1/1280	-	+	-
24	Akut	-	-	-	-	-	-
25	Akut	1/40	1/80	1/640	+	+	+
26	Akut	1/80	1/80	1/5120	+	+	+
27	Subakut	1/40	1/80	1/1280	-	+	-
28	Subakut	1/40	1/40	1/160	-	+	-

Brucellacapt testi altın standart olarak alındığında kültür, STA testi, ELISA IgG, IgM ve IgA testlerinin duyarlılıkları sırasıyla %16, %58,3, %77,7, %80,5, %75 olarak bulundu. Kappa değerleri göz önünde bulunarak testlerin uyumuna bakıldığında brucellacapt ile STA testi, ELISA IgG, IgM ve IgA testleri arasında yüksek derecede uyum saptandı (Tablo 12).

ELISA IgG, IgM, IgA testlerinin birbiriyle uyumuna bakıldığında en yüksek derecede uyumun ELISA IgG ve IgA arasında olduğu görülmüştür (κ :0,74). (Tablo 13,14,15)

Tablo 12. Brucellacapt testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması

	Kültür		STA		ELISA IgG		ELISA IgM		ELISA IgA	
Brucellacapt	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
Pozitif n=36	6	30	21	15	28	8	29	7	27	9
Negatif n=43	0	43	0	43	9	34	9	34	4	39
K (p)	0,17(<0,001)		0,60(<0,001)		0,56(<0,001)		0,59(<0,001)		0,66(<0,001)	
Duyarlılık	16,0		58,3		77,7		80,5		75	
Özgüllük	100		100		79,1		79,1		90,7	
PPV	100		100		75,6		76,3		87,1	
NPV	58,9		74,1		80,9		82,9		81,2	

K: kappa değeri, K <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

Tablo 13. ELISA IgG testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması

	Kültür		STA		Brucellacapt		ELISA IgM		ELISA IgA	
ELISA IgG	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
Pozitif n=37	5	32	18	19	28	9	27	10	29	8
Negatif n=42	1	41	3	39	8	34	11	31	2	40
K (p)	0,11(<0,001)		0,42(<0,001)		0,56(<0,001)		0,46(<0,001)		0,74(<0,001)	
Duyarlılık	13,5		48,6		75,6		72,9		78,3	
Özgüllük	97,6		92,8		80,9		73,8		95,2	
PPV	83,3		85,7		77,7		71,0		93,5	
NPV	56,1		67,2		79,0		75,6		83,3	

K: kappa değeri, K <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

Tablo 14. ELISA IgM testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması

	Kültür		STA		Brucellacapt		ELISA IgG		ELISA IgA	
ELISA IgM	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
Pozitif n=38	6	32	19	19	29	9	27	11	24	14
Negatif n=41	0	41	2	39	7	34	10	31	7	34
K (p)	0,16(<0,001)		0,45(<0,001)		0,59(<0,001)		0,46(<0,001)		0,46(<0,001)	
Duyarlılık	15,8		50,0		76,3		71,0		63,1	
Özgüllük	100		95,1		82,9		75,6		82,9	
PPV	100		90,4		80,5		72,9		77,4	
NPV	56,1		67,2		79,0		73,8		70,8	

K: kappa değeri, K <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

Tablo 15. ELISA IgA testinin diğer serolojik testler ve kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması

	Kültür		STA		Brucellacapt		ELISA IgG		ELISA IgM	
ELISA IgA	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
Pozitif n=31	6	25	19	12	27	4	29	2	24	7
Negatif n=48	0	48	2	46	9	39	8	40	14	34
K (p)	0,22(<0,001)		0,60(<0,001)		0,66(<0,001)		0,74(<0,001)		0,46(<0,001)	
Duyarlılık	19,3		61,2		87,1		93,5		77,4	
Özgüllük	100		95,8		81,2		83,3		70,8	
PPV	100		90,4		75,0		78,3		63,1	
NPV	65,7		79,3		90,7		95,2		82,9	

K: kappa değeri, K <0 uyum yok, 0,0-0,20 zayıf derecede uyum, 0,21-0,40 orta derecede uyum, 0,41-0,60 yüksek derecede uyum, 0,61-0,80 çok yüksek derecede uyum, 0,81-1,00 mükemmel uyum, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer

V. TARTIŞMA

Bruselloz *Brucella* cinsi bakterilerle oluşan sistemik bir enfeksiyon hastalığı olup, ülkemizde endemik olarak görülmektedir. Gerek klinik gerekse laboratuvar bulguları ile diğer enfeksiyon hastalıkları ve bazı enfeksiyon dışı sistemik hastalıklar ile karışabilmektedir. Yine bu nedenle hastalar, İç Hastalıkları, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, Nöroloji, Beyin Cerrahi kliniklerine başvurmaktadırlar (83). Eklem ağrıları ve ateş şikayeti olan hastaların öncelikle başvurdıkları birinci basamak sağlık kuruluşlarında üst solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla antibiyotik tedavisi verilmesi ve ayırıcı tanıda brusellozun düşünülmemesi hastalığın kronik ya da lokalize enfeksiyona dönüşmesine neden olabilmektedir (84, 85, 86).

Brusellozun tanısında da, diğer tüm hastalıklarda olduğu gibi iyi bir öykü, fizik muayene ve uygun laboratuvar testlerinin istenmesi ve yorumlanması şarttır (87). Tanıda altın standart, kan veya diğer doku örneklerinde (kemik iliği gibi) etkenin üretilmesidir, ancak *Brucella* türlerinin kültürde üretilmesi her zaman mümkün olamamaktadır. Bunun başlıca nedenleri; hastaya yanlış tanı konulması ve dolayısıyla özgül olmayan tedaviler verilmesi, hastalığın geç döneminde konabilmesi ve laboratuvar olanaklarının sınırlı olması sayılabilir (88). Tüm bu gerekçeler serolojik tanı yöntemlerini ön plana çıkarmaktadır.

Epidemiyolojik açıdan irdelendiğinde, brusellozun genç erişkinlerde daha sık görüldüğü ve kadın/erkek oranının benzer olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda da genel olarak brusellozun genç ve orta yaşlarda daha sık görüldüğü belirtilmektedir (35, 80). Bu çalışmada hastaların 26'sı (%53) kadın, 23'ü (%47) erkek idi ve 33 olgunun (%67,3) 16-45 yaş aralığındaydı. Olguların sadece %10,2'sinin 65 yaş ve

üzerinde olduğu belirlendi. Bu nedenle ülkemizin de içinde bulunduğu endemik bölgelerde bruselloz, üretken yaş grubunu etkileyerek önemli morbidite ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Yapılan çalışmalarda brusellozun hayvan bakıcıları, veteriner, mezbaha işçileri, kasap ve çobanlarda daha sık görülmesi mesleki risk faktörlerini ön plana çıkarmıştır (2). Bu çalışmada da olguların %38,7'si (n=19) tarım ve hayvancılık ile uğraşmaktaydı. Bruselloz genellikle enfekte hayvanların etleri, süt ve süt ürünleri, idrar gibi vücut sıvıları, enfekte hayvanın gebelik materyali ile insanlara bulaşabilmektedir. Ülkemizde bruselloz en sık çiğ süttten yapılan taze peynir, krema ve yağ tüketimi ile bulaşmaktadır (20). Taşova ve ark. (88) 238 bruselloz olgusunda bulaş yolları ile ilgili yaptıkları bir çalışmada taze süt ve süt ürünlerinin tüketimini %53, hayvan temasını ise %31 oranında bulmuşlardır. Olguların %16'sında ise kaynak bulunamamıştır. Bu çalışmada ise taze süt ve süt ürünlerinin tüketimi %44,8, hayvan teması ise %24,4 oranında bulundu. Olguların %30,8'inde ise kaynak saptanamadı.

Bruselloz tanısı alan hastaların aile üyelerinde seropozitiflik oranı %13-20 iken, akut bruselloz gelişme oranı %10-12 olarak bildirilmiştir (89). Bu çalışmada olası enfeksiyon kaynağı tespit edilen 34 hastanın 15'inde (%18,3) aile içi bruselloz öyküsü mevcuttu. Yapılan bir çalışmada da bruselloz tanısı konan kişilerin ailelerinde bruselloz seropozitifliği %18 olarak bulunmuş ve aile taramasının erken tanı konmasında faydalı olabileceği üzerinde durulmuştur (90).

Brusellozda semptomlar özgül olmamakla birlikte hastalar en sık ateş yüksekliği, halsizlik, terleme, eklem ağrıları ve iştahsızlık yakınmaları ile başvurmaktadır (33). Ülkemizde yapılan birçok çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir. Büke ve ark. (91) yaptıkları bir araştırmada en sık görülen yakınmalar sırasıyla; kas ve eklem ağrısı, terleme ve baş ağrısı olarak bildirilmiştir. Çağatay ve ark. (92) yaptıkları çalışmada en sık görülen bulguların ateş, kas ve eklem ağrısı, gece terlemesi ve halsizlik olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada ise hastalarda saptanan en sık şikayet halsizlik (%75,5), eklem ağrısı (%65,3), kas ağrısı (%61,2) idi.

Türkiye'de hastalık yılın tüm aylarında görülebilmekle birlikte insanların kırsal kesime seyahat etmesi, koyunların yavrutlama dönemi olması ve taze peynir yapımının ve tüketiminin artması nedeniyle ilkbahar ve yaz aylarında daha sık

görülür (93). Bu çalışmada olguların %72,7'si ilkbahar ve yaz mevsiminde başvurmuştu.

Bruselloz, semptomların başlama zamanına göre akut, subakut ve kronik olarak evrelendirilebilir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada vakaların %65'inin akut, %25'inin subakut ve %10'unun kronik olduğu belirtilmektedir (94). Bu çalışmada olguların %42,8'i akut, %24,4'ü subakut, %6'sı kronik bruselloz idi. Hastaların %10'u ise relaps olarak değerlendirildi.

Bruselloz hemen her organı ve sistemi tutabilen bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda brusellozda en sık görülen komplikasyonlar %14-68 oranı ile kas-iskelet sistemine ait olduğu belirtilmiştir (95). Ülkemizde yapılan 4204 hastanın değerlendirildiği geniş çaplı bir araştırmada en sık osteoartikuler tutulum (n=1839, %43,7), hematolojik sistem (n=1401, %33,3) ve sinir sistemi tutulumu (n=413, %9,8) olduğu bildirilmiştir (96). Bu çalışmada ise hastaların %32,4'ünde (n=11) en az bir tutulum saptandı. Bu komplikasyonlar spondilodiskit (n=4, %8,2), santral sinir sistemi tutulumu (n=3, %6,1), endokardit (n=2, %4,1) ve septik artrit (n=2, %4,1) idi.

Brusellozun tanısında diğer enfeksiyon hastalıklarda olduğu gibi etkenin izole edilmesi altın standart olarak kabul edilmektedir, fakat bu yöntemin duyarlılığının düşük olması ve geç sonuç vermesi nedeniyle daha hızlı tanı yöntemlerine gereksinim duyulmaktadır. Bu çalışmada olgularımızın %16,3 (n=8)'ünde kan/eklem sıvısı gibi materyallerden kültür pozitifliği elde edildi. Literatürde brusellozda kültür pozitifliğinin %10-70 arasında değiştiği ve bu oranın bakterinin cinsi, klinik tip, kültür alım teknikleri, laboratuvar koşulları ve özellikle antibiyotik kullanımı ile yakından ilişkili olduğu belirtilmektedir (2). Kan kültürü duyarlılığının lizis santrifügasyon yönteminin kullanılması ile arttırılabileceği ile ilgili yayınlar mevcuttur (97). Espinosa ve ark. (98) yaptıkları çalışmada ise brusellozun bütün evrelerinde, klasik kültür yöntemine göre lizis santrifügasyon yöntemi kullanılmasıyla duyarlılıkların %35,2'den %43,2'ye çıktığını göstermişlerdir. "Castaneda" yöntemi ile karşılaştırıldığında pozitiflik oranı daha yüksek bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada ülkemizde 1990 ve 2009 yılları arasındaki insan brusellozu ile ilgili literatürün incelenmesi sonucunda toplam 306 bildiri ve 4204 hasta irdelendirilmiş ve 1019 hastanın (%24,2) kan kültüründe *Brucella spp.* izole edildiği bildirilmiştir (96). Çalışmamızda ise bu oran %12,2 (n=6/49) idi. Bu oranın düşük olması, hastalarımızın %48,9'unun (n=24) daha önce farklı sağlık kuruluşlarına başvurarak antimikrobiyal tedavi almış olmalarına bağlandı.

Yapılan çalışmalarda kan kültürünün daha çok akut ve subakut olgularda pozitif olduğu gösterilmiştir. Yine yapılan bir çalışmada kan kültürü pozitifliklerinin akut, subakut, kronik ve relaps olan olgularda sırasıyla %48, %58, %22 ve %17 olduğu gösterilmiştir (98). Bu çalışmada da benzer şekilde kan kültürü pozitifliği olan altı hastanın hepsini akut ve subakut evredeki hastalar oluşturmaktaydı.

Sarıgüzel ve ark. (99)'nın yaptığı bir çalışmada kan kültüründe *Brucella melitensis* izole edilen 21 hasta değerlendirmiş, bu hastaların 15'inde (%71,4) STA, 18'inde (%85,7) coombs ve 20'sinde (%95,2) brucellacapt testleri pozitif, kontrol grubunda (n=20) bu testler negatif bulunmuş. Kültür yöntemi referans alınarak yapılan değerlendirmede STA testinin duyarlılığı %41,6, coombs testinin duyarlılığı %85,7, brucellacapt testinin duyarlılığı %95,2 olarak belirlenmiş ve özgüllük oranları üç test için de %100 bulunmuştur. Brucellacapt testinin bruselloz tanısında yüksek performansa sahip olduğu gösterilmiştir.

Alişkan ve ark. (100)'nın yaptığı çalışmada, kan kültürlerinden *Brucella melitensis* izolasyonu yapılan 25 brusellozlu hasta ile 31 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 56 kişi dahil edilmiştir. Tüm bireylerden alınan serum örnekleri, STA, coombs ve brucellacapt testleri ile çalışılmış ve sınır titre değeri 1/160 olarak alınmıştır. Sonuç olarak kültür pozitif hastaların %40'ında (10/25) STA, %92'sinde (23/25) ise hem coombs hem de brucellacapt testleri pozitif ($\geq 1/160$) bulunmuştur. Kontrol grubunun hiçbirisinde bu testlerden herhangi birisi ile pozitiflik saptanmamıştır. Coombs ve brucellacapt test sonuçlarının %100 uyum gösterdiği belirlenmiş ve kültür yöntemi referans alındığında brucellacapt testinin duyarlılığı %92 (23/25), özgüllüğü ise %100 (31/31) olarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada kültür pozitifliği (eklem+kan) altın standart olarak kabul edildiğinde, STA duyarlılığı %62,5, brucellacapt testi duyarlılığı %87,5, ELISA IgG, IgM, IgA testleri duyarlılığı sırasıyla %75, %75, %87,5 olarak bulundu. Kan kültürü ve eklem sıvısında üremesi olan birer hastanın STA titresi 1/40 (negatif) olarak tespit edilmesine rağmen brucellacapt ve ELISA testleri pozitif sonuç verdi. Kan kültürü altın standart olarak alındığında en yüksek uyum STA ($\kappa=0,28$) ve ELISA IgA ($\kappa=0,22$) ile saptanmasına rağmen brucellacapt, ELISA IgM ve ELISA IgA testlerinin duyarlılıkları %100 olarak bulundu.

Çeşitli faktörlere bağlı olarak kültürden *Brucella spp.* izolasyon oranının düşük olması, brusellozun tanısında serolojik yöntemlerin kullanımını ön plana çıkarmaktadır. İzolasyon başarısızlığı durumunda, klinik bulgular ve semptomlar

varlığında 1/160 ve üzeri (hatta yüksek endemik ülkelerde 1/320 ve üzeri) titrelerde STA pozitifliği bruselloz tanısında yardımcıdır. *Brucella* serolojisinde yalancı negatif sonuçlara yol açan blokan antikorların ortaya çıkma sıklığı ise göz ardı edilemeyecek düzeydedir. Bu nedenle STA testinin coombs serumu kullanılarak tekrar edilmesi ya da diğer yöntemlerin kullanılması (örn. ELISA) önerilmektedir (100).

Ruiz-Mesa ve ark. (101)'nin yaptığı çalışmada bruselloz düşünülen hastalarda % 62,6 oranında kültür pozitifliği saptanmış iken kültür negatif olan % 37,4'lük hasta grubunun tanılarını ise klinik ve serolojik verilere dayalı olarak konulduğunu bildirmiştir.

Dahouk ve ark. (68)'nin yaptığı çalışmada rose bengal ve STA testlerinin güvenilir olduğu ve %90'ın üzerinde bir duyarlılığa sahip olduğu rapor edilmekle birlikte klinik evrelere göre bu oranın değişebileceği, ancak akut bruselloz bulgu ve belirtileri olan hastaların taranmasında uygun bir test olduğu vurgulanmaktadır. Bu çalışmada STA testi olguların klinik evrelerine göre değerlendirildiğinde akut olguların %24,4'ünde, subakut olguların %14,2'sinde, kronik ve relaps olguların ise %2'sinde pozitif bulunmuş olup duyarlılıkları ise sırasıyla %57, %58, %16, %10 saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen bu sonuçlar Dahouk SA. ve ark. yaptığı çalışma ile korelasyon göstermiştir.

Mert ve ark. (102), brusella standart tüp aglütinasyon testini $\geq 1/160$ titrede %100 özgül ve duyarlı bulmuşlardır. Mantur ve ark. (103), $< 1/160$ titreleri de, hastanın klinik belirtilerini ve titre artışını takip etmeden negatif olarak değerlendirmenin yanlış olacağını belirtmiştir. Çalışmalarında başlangıçta 1/20 titrede pozitif olan dört vakanın takibinde titre artışı olduğu ve bu vakaların ikisinin kan kültüründe üreme olduğu belirtilmiştir.

STA ve ELISA testinin karşılaştırıldığı bir çalışmada 280 bruselloz şüpheli hastanın serumları alınarak STA, coombs, 2ME, ELISA IgG ve IgM testleri ve kültür çalışılmış. Hiçbir hastanın kan kültüründe üreme saptanmazken 143 hastada STA ve ELISA ile pozitiflik saptanmış. 31 hastada ise STA negatif tespit edilirken ELISA ile pozitif sonuç alınmış. STA ile karşılaştırıldığında ELISA daha duyarlı olarak bulunmuş (104).

Standart tüp aglütinasyon testi ve ELISA testinin duyarlılık ve özgüllüğünün karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada ELISA testinin tek başına özgül IgG veya IgM için duyarlılığı standart tüp aglütinasyon testinden düşük bulunmuştur. Ancak IgG ve IgM antikorları birlikte değerlendirildiğinde duyarlılık ve özgüllüğü standart tüp

aglutinasyon testine benzer sonuçlar elde edilmiştir (105). Diğer yandan ELISA testinin, STA testinden daha duyarlı ve daha özgül olduğunu belirten yayınlar da mevcuttur (22).

Bu çalışmada ise STA testi altın standart olarak alındığında brucellacapt testinin duyarlılığı %100, ELISA IgG, IgM ve IgA test duyarlılıkları ise sırasıyla; %85,7, %90,4 ve %90,4, kültür duyarlılığı ise %23,8 olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak kappa değeri göz önünde bulundurulduğunda STA testi ile brucellacapt, ELISA IgG, IgM ve IgA testleri arasında yüksek derecede uyum olduğu görülmüştür.

STA testi, brusellozun serolojik tanısında en sık tercih edilen yöntem olmasına rağmen, blokan antikorların saptanmasında yetersiz kalmakta bundan dolayı yalancı negatifliklere neden olabilmektedir. Coombs testi blokan antikorları ortadan kaldırarak STA testinin duyarlılığını artıran bir yöntemdir, ancak bu yöntem de zaman alıcı olduğundan rutin olarak laboratuvarlarda yapılmamaktadır. Bunun yerine son zamanlarda daha pratik olan ve coombs testi gibi blokan antikorların engeline takılmaksızın brusellozda ortaya çıkan total antikorların saptanmasında kullanılmakta olan brucellacapt (immunocapture) testi geliştirilmiştir.

Bu çalışmada hastaların 28 (%57,1)'inde STA testi negatifken (1/160 ve altında), bu hastaların 14 (%50)'ünde brucellacapt testi titresi 1/320 ve üzeri pozitif bulundu, bu hastaların hepsinde ELISA testlerinden bir ya da daha fazlasıyla pozitiflik saptandı. STA testi titresi 1/40 ve 1/80 olan iki hastada coombs testi ile 1/160 titrede pozitif idi. Yanlış negatiflikleri önlemek için yapılan coombs testi zahmetli ve zaman alıcı olduğundan brucellacapt testi bu açıdan da daha avantajlı görünmektedir ve pratikte tercih edilebilecek bir yöntemdir.

Alişkan ve ark. (71)'nin yaptığı çalışmada brucellacapt testinin inkomplet ve blokan antikorları da tespit ettiği ve bu nedenle olguların %99'unda titre sonuçlarının STA testinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada olgularımızın %91,8'inde (n=45) brucellacapt testinin titrasyon sonucu STA titrasyon sonucuna göre 3-4 kat daha yüksekti. Geri kalan %8,2 (n=4) olgunun brucellacapt ile STA testinin titrasyonları eşit ve negatifti. STA testinin pozitiflik oranı diğer testlerle karşılaştırıldığında oldukça düşük olarak bulundu. STA testi ile pozitif bulunan serumdaki titreler, brucellacapt testi ile daha yüksek saptanmış, bu uyumsuzluğun sebebinin de blokan (inkomplet) antikorlar olduğu düşünülmüştür.

Casao ve ark. (106)'nın yaptığı çalışmada brucellacapt testinin STA'ya uyumu düşük bulunmuş olup benzer şekilde brucellacapt testinde daha yüksek titrasyonlar

olduğunu bildirmişlerdir. Ardıç ve ark. (74), pozitiflik saptama oranını STA testinde % 80, brucellacapt testinde ise % 87 bulmuşlardır. Bu çalışmada ise hastaların 21'inde (%42,8) STA testi, 36'sında (%73,4) brucellacapt testi ile pozitif sonuç elde edilmiştir. Özdemir ve arkadaşları (107) da brucellacapt testi ile pozitiflik saptama ve titre yüksekliğinin STA testinden fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Ordun ve ark. (108)'nin yaptığı bir çalışmada, brucellacapt testinin duyarlılığını % 95,1, STA testinin ise % 65,8 olarak bulmuş olup, serum titrasyon değerlerinin de brucellacapt testinde daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Böylece STA ile saptanamayan hastalar brucellacapt testi ile saptanmış olup tanıda brucellacapt testinin STA testine üstünlüğü vurgulanmıştır.

Tüm bu çalışmaların sonuçlarına göre bruselloz tanısında STA testinin tek başına kullanılmasının uygun olmayacağı anlaşılmaktadır. Çünkü STA testi, blokan antikorları saptayamamaktadır ve bu durum yalancı negatif sonuçlara yol açabilmektedir. STA testiyle karşılaştırıldığında serum örneklerinde en yüksek titre veren yöntemin brucellacapt testi olduğu görülmüştür. Bu test, inkomplet (blokan) antikorları da yakalayarak yüksek titrede antikor saptamakta ve brusellozun tanısında güvenle kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda tanıda kullanılan serolojik testlerin duyarlılıklarının brusellozun klinik evrelerine göre farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Özgüneş ve ark. (109)'nin yaptığı çalışmada brucellacapt testinin akut ve subakut brusellozda rose bengal ve STA testleri ile aynı duyarlılıkta olduğu kronik brusellozda ise bu testlerden daha duyarlı olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada ise olguların klinik evrelerine göre brucellacapt pozitifliğinin STA ve ELISA testleriyle karşılaştırıldığında, özellikle akut ve subakut bruselloz olan hastalarda daha yüksek oranda pozitiflik saptandı.

Bu çalışmada hastaların kliniği göz önünde bulundurulduğunda klinik olarak bruselloz düşünülen ve tedavi başlanan hastalardaki testlerin uyumu incelendiğinde en yüksek derecece uyum brucellacapt ile gösterildi ($\kappa=0,66$). Bu gruptaki toplam 38 hastanın 17'sinde STA, 4'ünde ise brucellacapt testi ile negatif sonuç elde edildi. Bu durumda en yüksek duyarlılık (%89,4) yine brucellacapt testinde saptandı.

Yapılan bir diğer çalışmada da STA testinde pozitif saptama oranı % 42,2 iken bu oran brucellacapt testinde % 73,2 olarak saptanmıştır. Brucellacapt testinin sonuçları, STA ile zayıf uyumlu ($\kappa=0,422$), ELISA IgM ile orta düzeyde uyumlu ($\kappa=0,569$), Rose Bengal ($\kappa=0,846$) ve ELISA IgG ($\kappa=0,744$) ile de iyi uyumlu olarak

bulunmuştur. Ayrıca özgüllük ve duyarlılık değerleri sırasıyla STA testi için %96, %94, brucellacapt testi için %95, %100, ve ELISA IgM, IgG için ise >%95 ve >%95 olarak bulunmuştur (110).

Her ne kadar brucellacapt titrelerinin brusellozda uzun süre yüksek olduğu, bu nedenle hasta takibinde pek uygun olmadığını bildirilse de (108, 110) yapılan bir çalışmada brucellacapt testinin takipte kullanılabileceği gösterilmiştir. Aynı çalışmada, tedavi edilmiş bruselloz olan 104 hasta ve persistan hastalığı olan 28 hasta 15 ay boyunca brucellacapt testi ile takip edilmiş. Birinci gruptaki hastaların 4. ve 15. aylarda sırasıyla %27 ve %90 hastada brucellacapt titresinin 1/320'nin altına düştüğü görülmüş. Persistan hastalığı olan hastalarda ise titre düşüşünün daha yavaş olduğu gösterilmiş. Bu grupta tedavinin 4. ve 15. aylarında titrelerde %4 ve %14 oranlarında 1/320 pozitiflik tespit edilmiş. Hastaların hiçbirinde 1/320'den düşük titre saptanmamış. İyileşen ve persistan hastalığı olan kişiler brucellacapt testi ile değerlendirildiğinde, tedavinin üçüncü ayında önemli derecede farklılık gözlenmiş. Zamanla brucellacapt titrelerinin klinik göstergelerle birlikte kullanılarak değerlendirilmesiyle, bruselloz aktivitesini gösteren pratik bir test olacağı sonucuna varılmıştır (111).

Bu çalışmada tedavi öncesi serumlarına ek olarak üç hastanın ikinci ve altıncı ay, sekiz hastanın ise ikinci ay serumları alınarak aynı testler çalışıldı. Sekiz hastada ikinci ayda STA titresinde düşme gözlenirken (üç hastada <1/160), bir hastada brucellacapt testi titresini 1/5120'den 1/2560' düşerken bir hastada ise 1/320 titreden negatifleşme görüldü. Benzer şekilde diğer bir hastada ise ELISA IgM, IgA testinde negatifleşme gözlemlendi. Bu nedenle hasta takibinde serolojik testlerle birlikte klinik belirti ve bulgularının değerlendirilmesinin daha faydalı olacağı düşünülmüştür.

Casanova ve ark. (112)'nin yaptığı çalışmada brucellacapt testi diğer serolojik testlerle karşılaştırılmıştır. Coombs testi altın standart olarak alındığında duyarlılığı %91,6, özgüllüğü %95,9 olarak bulunmuş. Çalışmaya alınan 40 hastanın ortalama 18 aylık izleminde brucellacapt ve coombs testi titrelerinde yavaş bir düşüş izlenmiş. Tedaviden sonraki onikinci ayda pozitiflik oranları brucellacapt testi için %80, coombs testi için %87 olarak bulunmuştur. Brucellacapt testinin insan brusellozu tanısında kullanılabilecek duyarlı, özgül ve kolay uygulanabilir bir test olduğu vurgulanmıştır.

Brucellacapt testinin duyarlılığı ve özgüllüğü kan kültürü pozitifliği altın standart olarak alındığında ise sırasıyla %100 ve %58,9 olarak saptandı. Pozitif ve

negatif prediktif değerleri ise sırasıyla %16,6 ve %100 olarak bulundu. Kappa değeri göz önünde bulundurularak iki testin uyumuna bakıldığında ise (κ :0,17) zayıf derecede uyum olduğu görüldü.

Tüm bu çalışmalar, bruselloz tanısında brucellacapt testinin STA testinden daha üstün olduğunu göstermektedir. Bu nedenle klinik olarak bruselloz düşünölen ancak STA testi negatif olan hastalarda brucellacapt testinin kullanılması, yanlış negatif sonuçlarla hastalığın tedavi edilmemesi engelleyecektir.

Yapılan çalışmalarda ELISA testinin aynı anda çok sayıda hasta serumuyla çalışılabilmesi, hasta izleminde gerekli olan IgM ve IgG ayırımında daha duyarlı bulunması ve blokan antikorlardan etkilenmemesi gibi avantajları olması nedeniyle kullanılması önerilmektedir.

ELISA, özellikle klinik şüphenin yüksek olduğu ve diğer testlerin negatif olduğu komplike, fokal ve kronik vakalarda tercih edilebilecek bir testtir. Bu test spesifik immunglobinleri (IgG, IgM, IgA) 4-6 saat gibi kısa bir sürede, yüksek duyarlılık ve özgüllük ile saptayabilen bir testtir. Hasta izleminde kullanılabilecek mükemmel bir yöntemdir (57).

Brusellozda ELISA testi ile yapılan çok sayıda çalışmada bu yöntemin akut olguları belirlemede en uygun teknik olduğu gösterilmiştir. Yeni bir enfeksiyonda spesifik IgM düzeyi olguların %99'unda yüksek değerde belirlenmiştir. Kronik olguların tamamında ise IgG antikorları belirlenmektedir. ELISA tekniği özellikle kronik brusellozun tanısında STA ve RB testinden daha uygun sonuçlar vermektedir. Bazı araştırmacılar akut olgularda önce IgM ve daha sonra IgG artışına bağlı iki pik şeklinde artış gösteren ELISA pozitifliği saptarken, kronik olgularda tamamen IgG'den oluşan antikor varlığına değinmişlerdir. Brusellozlu olgularda yüksek titrelerde IgG antikor pozitifliğinin bir yıldan fazla sürmesi her zaman kronikleşme bulgusu olarak düşünölmemelidir. Çünkü başlangıçta IgG titrelerinin çok yüksek olduğu olgularda etkin tedaviye rağmen IgG antikor pozitifliği bir yıldan uzun sürebilmektedir (28). Bu çalışmada ise klinik evrelerle uyumuna bakıldığında ELISA testleri ile uyumsuz sonuçlar alınmıştır. ELISA IgG, IgM, IgA testlerinin birbiriyle uyumuna bakıldığında en yüksek derecede uyumun ELISA IgG ve IgA arasında olduğu görölmüştür.

Osoba ve ark. (113) ELISA IgM ve IgG testlerinin duyarlılığını % 96, özgüllüğünü % 100, pozitif ve negatif prediktif değerlerinin ise sırasıyla % 100 ve % 94 olduğunu bildirmişlerdir. Memish ve ark. (105) brusella bakteriyemisi olan

hastalarda, ELISA IgM ve IgG duyarlılığını STA testinden daha düşük bulmuşlardır. Bu çalışmada kültür altın standart olarak alındığında ELISA IgG, IgM, IgA duyarlılıkları sırasıyla %83,3, %100, %100, özgüllükleri ise %56,1, %56,1, %65,7 olarak bulundu.

Yapılan bir çalışmada ELISA'nın özellikle serolojik testlerin negatif olduğu nörobrusellozlu hastalarda daha güvenilir bir yöntem olduğu vurgulanmıştır (114). Bu çalışmada üç hastaya nörobruselloz tanısı konmuş olup bir hastanın BOS STA testi 1/80, serum STA 1/640, brucellacapt 1/5120, ELISA IgG, IgM, IgA testleri pozitif olup, ikinci hastanın ise BOS STA negatif, serum STA 1/40, coombs 1/80, brucellacapt 1/640, ELISA IgG, IgM, IgA testleri pozitif idi. Üçüncü hastanın ise BOS STA negatif, serum STA 1/640, brucellacapt 1/1280, ELISA IgG pozitif iken IgM, IgA testleri negatif idi.

Yapılan bir çalışmada STA ile ELISA IgG ve IgM testleri karşılaştırılmış; ELISA IgG ve IgM duyarlılıkları oldukça düşük (%56, %77) bulunmuştur. Endemik olmayan bölgelerde ELISA testinin kullanılmasının yanlış pozitif sonuçlar vererek gereksiz antibiyotik kullanımına bağlı yan etki, antibiyotik direnç gelişimi ve maliyet artışına neden olabileceği üzerinde durulmuştur (115). Ancak ELISA ile brusella IgM ve IgG ölçümleri klinik durumun yorumlanmasını kolaylaştırmakta ve STA testinde rastlanılan yalancı pozitif ve negatifliklerin ortaya çıkarılmasında da kolaylıklar sağlamaktadır (71).

Sonuç olarak bu çalışmada bruselloz tanı ve takibinde kullanılmakta olan bu serolojik testlerin özgüllük ve duyarlılıklarının farklı oluşları, brusellozun tanı ve takibinde kültür yapılamayan hastalarda STA'nın tek başına yetersiz olduğu, bu test ile birlikte brucellacapt ve/veya ELISA (IgM, IgG) testlerinin kullanılmasının uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Bu çalışmadaki sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda en duyarlı ve özgül test brucellacapt olmuştur. Klinik olarak bruselloz düşünülen ancak STA negatif olgularda yapılabilecek alternatif test olarak STA ve coombs testinin birlikte kullanılmasına göre daha kolay uygulanabilir ve daha kısa sürede sonuç veren testin brucellacapt olduğu görülmüştür. Ayrıca hastalığın aktivitesini gösteren ve takipte STA ve coombs testinden daha hızlı titre düşüşü nedeniyle takipte kullanılabileceği düşünülmüştür, ancak daha geniş ve kapsamlı çalışma grupları kullanılarak, alınacak sonuçlarla bulgularımızın desteklenmesine gereksinim vardır.

VI. SONUÇLAR

- Bu çalışmada saptanan bulgular doğrultusunda; bruselloz tanı ve takibinde kullanılan serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin farklı olması, kültür yapılamayan hastalarda STA'nın tanısal bir test olarak tek başına kullanımının yetersiz olduğunu düşündürmüştür.
- STA testi altın standart olarak alındığında kan kültürünün özgüllüğü %98,2, duyarlılığı ise %23,8 idi.
- Hastaların 28 (%57,1)'inde STA testi (1/160 ve altında) negatif idi. Bu hastaların 12'sinde (%48) brucellacapt titresini 1/320 ve üzeri pozitif bulundu, bu hastaların hepsinde ELISA testlerinden bir ya da daha fazlasıyla pozitiflik saptandı. STA titresini 1/40 ve 1/80 olan iki hastada coombs testi ile 1/160 titrede pozitif idi.
- Bruselloz tanı ve takibinde STA testi ile birlikte brucellacapt ve/veya ELISA (IgM, IgG, IgA) testlerinin kullanılmasının daha uygun olacağı sonucu elde edildi.
- ELISA IgM, IgG, IgA testlerinin brusellozun klinik evrelere göre tanısal değeri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.
- Brusella bakteriyemisi olan hastalarda ELISA IgM, IgA ve brucellacapt testlerinin duyarlılığı %100 olarak saptandı.
- Bu çalışmadaki sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda en duyarlı ve özgül test brucellacapt testi idi.
- Klinik olarak bruselloz düşünülen, ancak STA negatif olgularda alternatif tanı testi olarak STA ve coombs testinin birlikte kullanılmasına göre brucellacapt

testi daha kolay uygulanabilir, kısa sürede sonuç veren, özgül ve duyarlı bir test olduğu saptandı.

- Brucellacapt testi bruselloz aktivitesini göstermesi açısından STA ve coombs testlerine göre daha hızlı titre düşüşü nedeniyle hasta izleminde de kullanılabileceği düşünülmüştür, ancak bu bulguları destekleyecek geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Doğanay M, Aygen B. Human Brucellosis: an overview. Int J Infect Dis 2003;7:173-182.
2. Young EJ. *Brucella* species. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R(eds). Principles and Practice of Infectious Disease. Sixth edition Pennsylvania: Churchill Livingstone, Vol 2, 2005, pp. 2669-2673.
3. Baysal B. *Brucella*. Ustaçelebi S(ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. baskı Ankara: Öncü Basımevi, 1999, 571-577.
4. Ross HM, Foster G, Reid RJ, Jahans KL, MacMillan AP. Brucella species infection in sea-mammals. Vet Rec 1994;134:359.
5. Ewalt DR, Payeur JB, Martin BM, Cummins DR, Miller WG. Characteristics of a Brucella species from a bottle nose dolphin (*Tursiops truncatus*). J Vet Diagn Invest 1994;6:448-52.
6. Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckert 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;57:2688-93.
7. Whatmore AM, Dawson CE, Groussaud P, Koylass MS, King AC, Shankster SJ, et al. Marinemammal Brucella genotype associated with zoonotic infection. Emerg Infect Dis 2008;14:517-8.
8. Scholz HC, Hubalek Z, Sedlacek I, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, et al. Brucella microti sp. nov., isolated from the common vole Microtus arvalis. Int J Syst Evol Microbiol 2008;58:375-82.
9. Pappas G, The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats. Int J antimicrob Agents 2010;36 Suppl 1:8-11.
10. Scholz HC, Nockler K, Gollner C, Bahn P, Vergnaud G, Tomaso H, et al. Brucella inopinata sp. nov., isolated from a breast implant infection. Int J Syst Evol Microbiol 2010;60:801-8.

11. Tiller RV, Gee JE, Lonsway DR, Gribble S, Bell SC, Jennison AV, et al. Identification of an unusual *Brucella* strain (BO2) from a lung biopsy in a 52 year old patient with chronic destructive pneumonia. *BMC Microbiol* 2010;10:23.
12. Schlabritz-Loutsevitch NE, Whatmore AM, Quance CR, Koylass MS, Cummins LB, Dick Jr EJ, et al. A novel *Brucella* isolate in association with two cases of still birth in non-human primates—first report. *J Med Primatol* 2009;38:70-3.
13. Lebuhn M, Bathe S, Achouak W, Hartmann A, Heulin T, Schlöter M. Comparative sequence analysis of the internal transcribed spacer1 of *Ochrobactrum* species. *Syst Appl Microbiol* 2006;29:265–75.
14. Alp E, Doğanay M. Bruselloz; Willke A, Söyletir G, Doğanay M (eds). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2008, 2237-43.
15. Moyer N.P. and Holcomb L.A. *Brucella*. In: Murray P.R, Baron E.J, Pfaller M.A, Tenover F.C, Tenover R.H.(eds), *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM press, 1995, pp. 549- 555.
16. Bilgehan H. *Brucella*. *Klinik Mikrobiyoloji*. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 1996, 181-194.
17. Baysal B: *Brusella*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji (Ed. Ustacelebi S). Güneş Kitabevi, Sıhhiye, Ankara, 1999, 371-377.
18. Bilgehan H: *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonlar*, Barış Yayınları, İzmir, 1994;157-68.
19. Baysal B. *Brucella*. Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (yazarlar). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999, 571-577.
20. Sümerkan B. *Brucella Türleri*. Willke A, Söyletir G, Doğanay M (eds). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2008, 897-909.
21. Celi J. Surviving inside a macrophage: The many ways of *Brucella*. *Res Microbiol* 2006;157:93-8.
22. Pappas G, Akritidis N, Basilkovski M, Tisianos E. Review article Brucellosis. *N Engl J Med* 2005;352:2325-36.
23. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis Review. *Lancet Infect Dis* 2007;7:775-86.

24. Young EJ. An overview of human brucellosis. Clin Infect Dis 1995;21:283-90.
25. Yingst S, Hoover DL. T cell immunity to Brucellosis. Crit Rev Microbiol 2003;29:313-31.
26. Göral G. Hücre içi bakterilerin yaptığı hastalıkların immunopatogenezi. 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Antalya 1998. Kongre Kitabı;111-4.
27. Pellicer T, Ariza J, Foz A, Pallares R, Gudiol F: Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. J Infect Dis, 1988;157(5):918-924.
28. Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F: Specific antibodies profile in human brucellosis. Clin Infect Dis, 1992;14:131-140.
29. Sangari FJ, Seoane A, Rodriguez MC, Agüero J, Garcia Lobo JM. Characterization of the urease operon of *Brucella abortus* and assessment of its role in virulence of the bacterium. Infect Immun 2007;75:774-80.
30. Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human Brucellosis. Indian J Med Microbiol 2007;25:188-202.
31. Yüce A, Alp Çavuş S; Türkiye’de Bruselloz Genel Bakış, Klimik Derg 2006; 19(2):87-97.
32. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı. <http://www.saglik.gov.tr> / İstatistikler, İstatistik Yıllıkları, 2004.
33. Ayaz C: Brusellozun Türkiye’deki Durumu. Klimik 2005 XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 16-20 Kasım, Belek-Antalya, 2005.
34. Boschhiroli ML, Foulongne V, O’Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis. Current Opinion Microbiology 2001;4:58-64.
35. Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sanchez-De-Mora D, Delgado M, et al. Complications associated with *Brucella melitensis* infection: A study of 530 cases. Medicine (Baltimore), 1996;75;29:195-211.
36. Dokuzoğuz B, Ergönül O, Baykam N, Esener H, Kılıç S, Çelikbaş A, et al. Characteristics of *B. melitensis* versus *B. abortus* bacteraemias. J Infect 2005;50:41-5.
37. Aygen B, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O, Kayabaş Ü. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: an evaluation 480 patients. Med Mal Infect 2002;32:485-93.

38. Ariza J, Corredoira J, Pallares R, Viladrich PF, Rufi G, Pujol M, Gudiol F. Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. Clin Infect Dis 1995;20:1241-9.
39. Aygen B, Sümerkan B, Kardaş Y ve ark. Bruselloz: 183 olgunun değerlendirilmesi. Klimik Derg 1995;8:13-16.
40. Ariza J, Pujol M, Valverde J. Brucellar sacroileitis: Findings in 63 episodes and current relevance. Clin Infect Dis 1993;16:761-5.
41. Dilmener M. Brusellozun klinik prezentasyonları. Klimik Derg 1990;3:23-25.
42. Gotuzzo E, Carillo C. *Brucella*. Gorbach S.L., Bartlett J.G, Blacklow N.R (eds). Infectious Diseases.2.ed.Pennsylvania:W.B. Saunders Company, 1998,pp.1837-45.
43. Sözen TH. Bruselloz. Tuna N(ed). Romatizmal hastalıklar Hacettepe Taş, Ankara 1993.
44. Gilgil E, Bütün B. Brusellozun osteoartiküler komplikasyonları. Romatizma 2002;17(2):77- 82.
45. Al Aska AK. Gastrointestinal manifestations of brucellosis in Saudi Arabian patients. Trop Gastroenterol 1989;10:217-19.
46. Gürsoy S, Başkol M, Özbakır Ö, Güven K, Patıroğlu T. Spontaneous bacterial peritonitis due to *Brucella* infection. Türk Gastroenterology 2003;14:145-47.
47. Alapont Alacreu JM, Gomez Lopez L, Delgado F, et al. Brucellar orchiepididymitis. Actas Urol Esp 2004;28(10):774-6.
48. Karahocagil M, Ceylan K, Bilici A, ve ark. Orsiyektomiye giden Brusella orsiti: bir olgu sunumu Van Tıp Dergisi 2007;14 (1):38-40.
49. Khan MY, Mah MW, Memish ZA. Brucellosis in pregnant woman. Clin Infect Dis 2001;15;32(8):1172-7.
50. Ertek M, Yazgı H, Kadanalı A, Özden K, Taşyaran M. Erişkinlerde brusella enfeksiyonlarının komplikasyonları: 18 Yıllık retrospektif değerlendirme. Türk J Med Sci 2006;36(6): 377-81.
51. Akdeniz H, Irmak H, Seçkinli T, Buzgan T, Demiröz AP. Hematological manifestations in brucellosis cases in Turkey. Acta Med Okayama 1998;52(1):63-5.
52. Türkçapar N, Kurt H. Bruselloz. Uzun Ö, Ünal S(editörler). Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları Cilt 2. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2002, 1015-24.

53. Akıncı E, Bodur H, Erbay Ç, ve ark. Ağır trombositopeni ile seyreden bruselloz olgusu. *Turkish Journal of Haematology* 2003;20(1):43-45.
54. Hatipoğlu CA, Bilgin G, Tülek N, Koşar U. Pulmonary involvement in brucellosis. *J Infect* 2005;51(2):116-9.
55. Mamıkoğlu L. Bruselloz. Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D (editörler). Gram negatif bakteri enfeksiyonları. 1.Baskı Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2004, 327-343.
56. <http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-7509/a04-bruselloz.html?vurgu=bruselloz>
57. Araj GF. Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36 Suppl 1:12-7.
58. Aktaş O. Brusellozda mikrobiyolojik tanı. *ANKEM Derg* 2003;17: 336-9.
59. Mantur BG, Mangalgi SS. Evaluation of conventional Castaneda and lysis centrifugation blood culture techniques for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2004;42:4327-8.
60. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D: Laboratory-based diagnosis of Brucellosis-A review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. *Clin Lab* 2003;49: 487-505.
61. Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4(1):115-123.
62. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, Forootan A, Jonak J, Lind K, Sindelka R, Sjoback R, Sjogreen B, Strombom L, Stahlberg A, Zoric N. The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine* 2006;27:95-125.
63. Queipo-Ortuno MI, Morata P, Ocan P, Manchado P, Calmenero JD. Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral blood PCR assay. *J Clin Microbiol* 1997;35:2927-30.
64. 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.
65. Katar MM, Zallou PA, Araj GF, Samaha-Kfoury J, Shbaklo H, Kanj SK, et al. Development and evaluation of real-time polymerase chain reaction assays on whole blood and paraffin-embedded tissues for rapid diagnosis of human brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59:23–32.
66. ISCID Encyclopedia of Science and Philosophy
<http://www.iscid.org/encyclopedia/RFLP>

67. Al Dahouk S, Tomaso H, Prenger-Berninghoff E, et al. Identification of *Brucella* species and biotypes using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Crit Rev Microbiol 2005;31(4):191-6.
68. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D: Laboratory-based diagnosis of Brucellosis-A review of the literature. Part II: Serological test for brucellosis. Clin Lab 2003;49:577-89.
69. Yaylı G. Brusellozun Laboratuvar Tanısında Sorunlar. 11. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı. 2003;211-213.
70. 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.
71. Alışkan H. et al. The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis. Mikrobiyol Bul 2008;42(1):185-95.
72. Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K: Competitive enzyme immunoassay for diagnosis of human brucellosis, J Clin Microbiol 1999;37:3245.
73. Garin-Bastuji B, Blasco JM, Marin C, Albert D. The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. Small Ruminant Research 2005;62:63-70.
74. Ardıç N, Özyurt M, Sezer O et al. Comparison of coombs and immunocapture agglutination tests in the diagnosis of brucellosis. Chin Med J; 2005;118:252-4.
75. Altuğlu I, Zeytinoğlu A, Bilgiç A, Kancıoğlu S, Karakartal G, Smiths H, Evaluation of Brucella dipstick assay for the diagnosis of acute brucellosis. Diag Microbiol Infect Dis 2002;44:241-243.
76. Nielsen K, Gall D: Fluorescence polarization assay for the diagnosis of brucellosis: a review, J Immunoassay Immunochem 2001; 22: 183-186.
77. Bilgehan H. Bruselloz Tanısında Aglütinasyon. Klinik Mikrobiyolojik tanı. İzmir: Barış Yayınları 2002; 223-8.
78. Franco MP, Mulder M, Smits HL. Persistence and relapse in brucellosis and need for improved treatment. Trans R Soc Trop Med Hyg 2007; 101: 854-55.
79. Bayindir Y, Sonmez E, Aladağ A, Büyükberber N. Comparison of five antimicrobial regimens for the treatment of brucellar spondylitis: a prospective, randomized study. J Chemother 2003; 15: 466-71.
80. Solera J, Martínez-Alfaro E, Espinosa E. Recognition and optimum treatment of brucellosis. Drugs 1997;53:245–56.

81. Solera J. Update on brucellosis: therapeutic challenges. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36 Suppl 1:18-20.
82. Irmak H, Buzgan T, Karahocagil MK, Evirgen O, Akdeniz H, Demiröz AP. The effect of levamisole combined with the classical treatment in chronic brucellosis. *Tohoku J Exp Med* 2003;201(4):221-8.
83. Çiftçi C, Öztürk F, Öztekın A ve ark. Brusellozisin Laboratuvar Tanısında Kullanılan Serolojik Testlerin Karşılaştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2005; 39:291-299.
84. Geyik MF, Kokoğlu OF, Hosoglu S, Ayaz C. Brusellozlu 154 hastanın değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, 2002; 29: 1-2.
85. Ataman-Hatipoğlu C, Kınıklı S, Tülek N ve ark. Bir eğitim hastanesinin enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji kliniğinde izlenen 202 bruselloz olgusunun epidemiyolojik verilerinin izlenmesi. *Klimik Dergisi* 2005; 18(3): 94-8.
86. Gül HC, Coşkun O, Turhan V, Beşirbellioğlu BA ve ark. Bruselloz:140 olgunun geriye dönük olarak irdelenmesi. *TSK Koruyucu hekimlik Bülteni*, 2007; 6(4): 249-252.
87. Cesur S, Birengel S, Sözen TH, Tekeli E: Brusellozlu Olguların İncelenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2000, 32: 123-126.
88. Taşova Y, Saltoğlu N, Şahin G, Osteoarthicular Involvement of brucellosis in Turkey. *Clin Rheumatol* 1999;18:214-9.
89. Sharifi-Mood B, Metanat M, Alavi-Naini R. Screening of the family members of patients with acute brucellosis in Southeast Iran. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 176-77.
90. Tabak F, Hakko E, Mete B, Ozaras R, Mert A, Ozturk R. Is family screening necessary in brucellosis? *Infection*. 2008 Dec;36(6):575-7. Epub 2008 Nov 14.
91. Büke C, Çiçeklioğlu M, Erdem İ, ve ark. Süt Ürünleri İşleyicilerinde Bruselloz Prevalansı ve Brusellozu Bilme Durumu. *Turkish J Infect* 2000; 14(3): 321-332.
92. Çağatay A, Küçükoglu S, Berk H, Özsüt H ve ark. Otuzaltı bruselloz olgusunun değerlendirilmesi. *Klimik Derg* 2002;15(1):19-21.
93. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K ve ark. Complications of brucellosis in different age groups: A study of 283 cases in Southeastern Anatolia of Turkey. *Yonsei Medical Journal* 2003; 44: 33-44.

94. Geyik MF, Gür A, Nas K, Çevik R, Saraç J, Dikici B, et al. Musculoskeletal in brucellosis in different age groups: a study of 195 cases. *Swiss Med WKLY* 2002; 132: 98-104.
95. Serter G, Karakartal G, Günhan C, Büke M, Yüce K, Dreli D. Clinical Picture in adult Brucellosis typical and unusual. In: Tümbay E, Hilmi S, Anğ Ö, Ed. *Brucella and Brucellosis in man and animals*, İzmir: Publication of the Turkish Mic. S. 1991;16:101-7.
96. Çalık Ş, Gökengin A. Human Brucellosis İn Turkey: A Review Of The Literature Between 1990 And 2009. *Turk J Med Sci* 2011;41 (3): 549-555.
97. Yakupsky P. Detection of *Brucellae* in blood cultures. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3437-42.
98. Espinosa BJ, Chacaltana J, Mulder M et al. Short Report: Comparison of Culture Techniques at Different Stages of Brucellosis. *Am J Trop Med Hyg* 80(4), 2009, pp. 625–627.
99. Sarıgüzel FM, Kayman T, Çelik İ et al. Comparison of Standard Tube Agglutination, Coombs' and Brucellacapt Tests in the Diagnosis of Brucellosis. *The New Journal of Medicine* 2011;28(2):113-115.
100. Alişkan H, Çolakoğlu Ş, Turunç T ve ark. Kısa Bildiri: Brusellozun Tanısında Brucellacapt Testinin Değerinin Araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41: 591-595.
101. Ruiz-Mesa JD, Sánchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martín L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(3): 221-5.
102. Mert A, Özaras R, Tabak F, et al. The sensitivity and specificity of Brucella agglutination tests. *Diag Microbiol Infect Dis* 2003;46:241-3.
103. Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, et al. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years' experience in an endemic area. *J Med Microbiol* 2006;55:897-903.
104. Heydari F, Mozaffari N, Tukmechi A. Comparison of Standart Seroagglutination Tests and ELISA for Diagnosis of Brucellosis in West Azerbaijan Province, İran. *Reserch Journal of Biological Sciences* 2008;3(12): 1460-1462.
105. Memish ZA, Almuneef M, Mah M, Qassem LA, Osaba A. Comparison of the brucella standart agglutination test with the ELISA IgG and IgM in patients with brucella bateremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44(2): 129-132.

106. Casao MA, Navarro E, Solerab J. Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis. *J Infect* 2004; 49: 102–8.
107. Özdemir M, Doğan M, Baysal B. Brusellozun serolojik tanısında yeni bir yöntem: İmmuncapture aglutinasyon testi. *Genel Tıp Derg* 2007; 17(1): 9-13.
108. Ordun A, Almaraz A, Prado A, Purificacio M, Gutierrez N, Garcia-Pascual A, et al. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38(11): 4000-5.
109. Özgüneş I, Çolak H, Usluer G, et al. Comparasion of the wright, İmmuno capture and rose bengal methods for the diagnosis of chronic brucellosis. *Mikrobiol Bul* 1992 Jan;26(1):56-60.
110. Güzelant A, Kurtoğlu MG, Kaya M, Keşli R, Terzi Y, Baysal B. Brusellozis'in tanısında brucellacapt'in diğer serolojik testler ile karşılaştırılması *Selçuk Tıp Derg* 2009;25 (3):125-131.
111. Bosilkovski M, Spasovska K, Sopova Z, Vidinic I. The role of Brucellacapt test for follow-up patients with brucellosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2010; 33: 435–442.
112. Casanova A, Ariza J, Rubio M et al. Brucellacapt versus classical tests in the serological diagnosis and management of human brucellosis. *Clin Vaccine Immunol* 2009;16(6): 844-851.
113. Osoba AO, Balkhy H, Memish Z, Khan MY, Al-Thagafi A, Al Shareef B et al. Diagnostic value of Brucella ELISA IgG and IgM in bacteremic and non-bacteremic patients with brucellosis. *J Chemother* 2001; 13(1): 54-9.
114. Araj GF, Enzyme-linked Immunosorbent Assay, not Agglutination, is the test of choice fort he diagnosis of serodiagnosis neurobrucellosis. *Clin Infect Dis* 1997;25(4):939.
115. Ryan J. Welch, Christine M. Litwin, A comparison of brucella IgG and IgM ELISA assays with agglutination methodology. *J Clin Lab Anal* 2010; 24:160-162.

Ek Tablo 1. BRUSELLOZLU HASTA İZLEM FORMU (No:)

Ad Soyad:

Meslek:

Yaş:

Dosya no:

Cinsiyet:

Başvuru tarihi:

Adres:

Telefon no:

YAKINMALAR

Ateş:

Sırt ağrısı:

Terleme:

Bulantı:

Halsizlik:

Kusma:

İştahsızlık:

Zayıflama:

Artralji:

Karın ağrısı:

Miyalji:

Baş ağrısı:

Diğer:

Şikayet süresi:

Daha önce doktora gidip gitmediği:

Antibiyotik kullanımı:

Ailesinde brucelloz tanısı ile tedavi gören var mı?

Olası bulaş yolu:

FİZİK MUAYENE

Genel durum:

Ateş:

Nabız:

Kan basıncı:

Solunum sayısı:

Anormal bulgular:

LABORATUVAR BULGULARI:

CBC:

Biyokimya:

ESR:

CRP:

Serum Tüp Aglutinasyonu:

Brucellacapt:

ELISA IgG: IgM: IgA:

Kültür:

KOMPLİKASYONLAR

Kas ve iskelet sistemi:

Sinir sistemi:

Kardiyovasküler sistem:

Gastrointestinal sistem:

Genitoüriner sistem:

Klinik Evre: Akut Subakut Kronik Relaps

KONTROLLER

Altıncı hafta:

Altıncı ay:

TC.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. BURCU UYSAL' a ait BRUSELLOZ TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI adlı çalışma, jürimiz tarafından ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

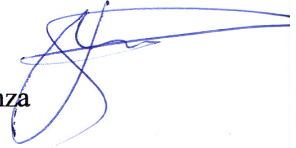
Tarih:06.06.2012

İmza

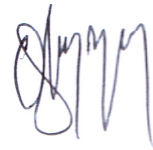
Başkan.....Prof. Dr. Mehmet Doğanay.....İmza



Üye.....Prof. Dr. Kürşad Ünlühizarcı.....İmza



Üye.....Doç. Dr. Orhan Yıldız.....İmza



Üye.....Doç. Dr. Gökhan Metan.....İmza



Üye.....Doç Dr. Asiye Kanbay.....İmza

