T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BRUCELLA TANISINDA; DECOY RECEPTOR 3, LİPOPOLYSACCHARİDE-BİNDİNG PROTEİN, SFİNGOZİN 1 FOSFAT GİBİ ENFLAMATUAR BİYOBELİRTEÇLERİN ROLÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. ÜLKİYE YETİM

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2022

T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BRUCELLA TANISINDA; DECOY RECEPTOR 3, LİPOPOLYSACCHARİDE-BİNDİNG PROTEİN, SFİNGOZİN 1 FOSFATGİBİ ENFLAMATUAR BİYOBELİRTEÇLERİN ROLÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ

DR. ÜLKİYE YETİM

TIPTA UZMANLIK TEZİ

PROF. DR. RECEP TEKİN
DANIŞMAN

DİYARBAKIR-2022

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve destek olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Recep Tekin'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Asistanlık eğitimim süresi boyunca destek olan, bilgi ve deneyimlerini paylaşan çok değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mustafa Kemal Çelen'e değerli hocalarım Prof. Dr. Saim Dayan'a ve Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem Mermutluoğlu'na teşekkür ederim.

Kan örneklerinin çalışılması sırasında kıymetli destekleri için Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Revşa Evin Canpolat Erkan'ave değerli çalışanlarına, verilerimizin istatistiği kısmında destekleri ve sabrı için Doç. Dr. İsmail Yıldız'a,tez süresi boyunca bilgisine başvurduğum ve desteğini her anlamda aldığım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Nida Özcan'a,tez çalışmamı gözden geçirerek düzenlenmesine katkı sağlayan Dr. Elif Zelal Çiftçi'yeve tezin hazırlanmasında katkıları olan, birlikte çalıştığım Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda çalışan tümpersonele teşekkürlerimi sunuyorum.

Asistanlık serüvenimin başından bu yana her anlamda yanımda olan, yeri gelince bir öğretmen gibi bana yol gösteren tez sürecimde desteğini hep hissettiren, kardeşim Mervenur'a, desteklerini hayatımın tüm aşamalarında esirgemeyen kıymetli aileme çok teşekkür ediyorum. Son bir yıldır hayatıma giren, her gün yeni bir şeyler öğrendiğim ve paylaştığım kedim Mecnun'a teşekkür ediyorum. Sizleri çok seviyorum.

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından Tıp.22.004 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Dr. Ülkiye YETİM

Diyarbakır-2022

ÖZET

Amaç:İnflamatuar bir hastalık olan brusellozda beyaz küre (WBC) ve C- reaktif protein (CRP) gibi laboratuvar parametreleritanıyı destekleme ve tedavi yanıtını değerlendirmedekullanılmaktadır. Bu çalışmada, yeni inflamatuarbiyobelirteçlerden olandecoy reseptör 3 (DcR3), lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP) vesfingozin1fosfatın (S1P)brusellatanısındakirolünü araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmaya 01.08.2021 ve 01.12.2021 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servisinde yatan ve/veya polikliniğine başvuran bruselloz tanılı 50 hasta ve kontrol grubu olarak 30 sağlıklı birey dahil edildi. Bireylerden alınan kanlar biyokimya tüplerine alınıp santrifüj edildi, serumları ayrılarak -80ºC derecede saklandı.Çalışmada enzim-linkedimmunosorbentassay (ELİSA) yöntemi kullanıldı. Serum DcR3, LBP, S1P seviyeleri Human DcR3, Human LBP, Human S1P (SunredBiologicalTechnology, Shanghai,Çin) ticari kitleri ile BioTek ELx50 MicroplateWasher ve BioTek ELx800 Microplate Reader (BioTek Instruments Inc, USA) cihazları kullanılarak saptandı.

Bulgular: Brusella hastalarında ölçülen DcR3, LBP, S1P değerleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu(p=0,000, p=0,000, p=0,001). Hasta grubunda ölçülen DcR3, LBP, S1P değerleri arasında pozitif korelasyon mevcuttu.DcR3, LBP, S1P düzeyleri ile WBC ve CRP düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Sonuç: Yeni keşfedilen biyobelirteçler olan DcR3, LBP ve S1P bruselloz tanısında faydalı olabilir. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız, bu biyobelirteçlerinbruselloz tanısındaki rolüne ilişkin ilk çalışmadır. Bu açıdan bulgularımız önemlidir.Yaptığımız çalışmadan yola çıkarak brusellatanısında DcR3, LBP, S1P'ın etkinliğinin net ortaya konması için daha ileri prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, DecoyReceptor 3, Lipopolysaccharide-Binding Protein, Spingozin 1 Fosfat

ABSTRACT

Aim: Laboratoryparameterssuch as whitebloodcell (WBC) and C-reactive protein (CRP) areusedtosupportthediagnosisandevaluatethetreatmentresponse in brucellosis, which is an inflammatorydisease. Inthisstudy, it wasaimedtoinvestigatethe role of newinflammatorybiomarkers -DecoyReceptor 3 (DcR3), LipopolysaccharideBindingProtein (LBP) andSpingosine1 Phosphate (S1P)- in thediagnosis of brucella.

MaterialsandMethods: Thestudyincluded 50 patientswithbrucellosiswhowereadmittedtothe Dicle UniversityMedicalFacultyHospitalInfectiousDiseasesandClinicalMicrobiology service oroutpatientclinicbetween 01.08.2021 and 01.12.2021, and 30 healthyindividuals as thecontrolgroup. Thebloodsamples of theindividualsweretakenintobiochemistrytubesandcentrifuged, theirserumswereseparatedandstored at -80ºC. Enzyme-linkedimmunosorbentassay (ELISA) methodwasused in thestudy. Serum DcR3, LBP, S1P levelsweredeterminedusingcommercialkits Human DcR3, Human LBP, Human S1P (SunredBiologicalTechnology, Shanghai, China) withBioTek ELx50 MicroplateWasherandBioTek ELx800 Microplate Reader (BioTek Instruments, Inc. USA).

Results: DcR3, LBP, S1P valuesmeasured in Brucellapatientswerefoundto be statisticallysignificantlylowerthanthecontrolgroup (p=0.000, p=0.000, p=0.001). Therewas a positivecorrelationbetween DcR3, LBP and S1P valuesmeasured in thepatientgroup. Therewasnostatisticallysignificantcorrelationbetween DcR3, LBP, S1P levelsand WBC and CRP levels.

Conclusion: DcR3, LBP and S1P, whicharerecentlydiscoveredbiomarkersdiscoveredmay be useful in diagnosingbrucellosis. Toourknowledge, this is thefirststudyregardingthe role of thesebiomarkers in thediagnosis of brucellosis. Inthisrespect, ourfindingsareimportant. Based on ourstudy,

furtherprospectivestudiesareneededtoclearlydemonstratetheeffectiveness of DcR3, LBP, S1P in thediagnosis of brucella.

Keywords: Brucellosis, DecoyReceptor 3, Lipopolysaccharide-Binding Protein,Spingosine 1 Phosphate

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR I

ÖZET II

ABSTRACT III

İÇİNDEKİLER IV

TABLOLAR LİSTESİ VII

ŞEKİLLER LİSTESİ VIII

KISALTMA LİSTESİ IX

1. GİRİŞ ve AMAÇ 2

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1.Bruselloz Tanımı 3

2.2. Tarihçe 3

2.3. Epidemiyoloji 4

2.4 Bulaş Yolları 6

2.5 Bakteriyolojik Özellikleri 7

2.5.1 Bakterinin türleri 7

2.5.2. Mikrobiyolojik Özellikleri 8

2.6. Patogenez 12

2.7. Klinik Belirti ve Bulgular 13

2.8. Relaps veya Reenfeksiyon 15

2.9. Fokal Tutulum veya Komplikasyonlar 16

2.9.1 Osteoartiküler sistem tutulumu 16

2.9.2 Gastrointestinal sistem tutulumu 18

2.9.3. Hepatobiliyer sistem tutulumu 18

2.9.4. Sinir sistemi tutulumu 19

2.9.5. Kardiyovasküler sistem tutulumu 19

2.9.6. Solunum sistemi tutulumu 20
2.9.7. Genitoüriner sistem tutulumu 21
2.9.8. Hematopoetik sistem tutulumu 22
2.9.9. Deri tutulumu 23
2.9.10. Göz ve kulak tutulumu 23
2.9.11. Nadir tutulumlar 24
2.10. Tanı 24
2.10.1. Direk tanı yöntemleri 26
2.10.2. İndirek tanı yöntemleri 29
2.11. Ayırıcı Tanı 33
2.12. Tedavi 33
2.12.1. Doksisiklin-Streptomisin/ Doksisiklin-Rifampisin 34
2.12.2. Doksisiklin-Gentamisin 35
2.12.3. Kinolon içeren kombinasyonlar 35
2.12.4. Trimetoprim/Sulfametoksazol -Rifampisin 35
2.12.5. Seftriakson 36
2.12.6. Diğer Antimikrobiyal Ajanlar 36
2.12.7. Özel durumlarda bruselloz tedavisi 36
2.12.8. Temas sonrası profilaksi 37
2.12.9. Tedavi başarısızlığı 38
2.13. Korunma 38
2.14. Brucella Tanısında Yeni Enflamatuar Biyobelirteçler 39
2.14.1. Decoy reseptör-3 (DcR3) 39
2.14.2. Lipopolisakkarit binding protein (LBP) 41
2.14.3. Sfingozin 1 Fosfat (S1P) 44
3. MATERYAL VE METOT 49
3.1. Çalışma Planı 49

3.2. İstatistiksel Değerlendirme 51

4. BULGULAR 52

4.1. Hasta Grubunun Temel Özellikleri 52

4.2. Birincil Sonuçlar 55

4.3. İkincil Sonuçlar 57

5. TARTIŞMA 61

6. SONUÇ ve ÖNERİLER 68

8. KAYNAKÇA 69

9. EKLER ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Ek 1. Etik Kurul Onayı ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Ek 2. İntihal Raporu 81

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. İnsan Bruselloz Tanısında Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler..... 24
Tablo 2. Hastaların Temel Özellikleri 53
Tablo 3. Biyobelirteçlerin Hasta-Kontrol Grubu Değerleri 55
Tablo 4. Bruselloz Tanısı Konan Gün Biyobelirteçlerin Korelasyonları 56
Tablo 5. Yaş ve Biyobelirteçlerin Korelasyonu 57
Tablo 6. Cinsiyete Göre Biyobelirteçlerin Değerlendirilmesi..... 58
Tablo 7. Kan Kültüründe Üremeler ve Biyobelirteçlerin İlişkisi 59
Tablo 8. Brusella Capture Titreleri ve Biyobelirteçlerin İlişkisi 60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Dünyada Bruselloz İnsidans Haritası..... 5
Şekil 2. LBP'nin CD4 ve TLR4 İlişkisi (A), LBP'nin sCD14 ve TLR4 İlişkisi (B). 43
Şekil 3. Biyoaktif Sfingolipid Metabolitlerinin Birbirine Dönüşebilirliği ve Bu Yolakta Rol Alan Enzimler Gösterilmiştir 45
Şekil 4. HDL-ApoM Tarafından Taşınması ve S1P-S1P Reseptör Sinyalizasyon Sisteminin Vasküler Bütünlüğün Korunması Üzerine Etkileri Gösterilmiştir 47

KISALTMA LİSTESİ

2-ME: 2-Merkaptoetanol
BOS: Beyin omurilik sıvısı
BPR: Geçirgenliği artırıcı protein
CD: Yüzey farklılaşma antijeni
CDC: Hastalık kontrol ve korunma merkezi
CETP: Kolesteril ester transfer proteini
CO2: Karbondioksit
CRP: C-reaktif protein
CT: Coombs testi
DcR3: Decoy reseptör 3
DNA: Deoksiribonükleik asit
DSÖ: Dünya sağlık örgütü
EE: Enfektif endokardit
EGF: Epidermal growthfactor
EKO: Ekokardiografi
ELISA: Enzymelinkedımmunosorbentassay
ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı
H2S: Hidrojen sülfür
HDL:Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HIV: Human ımmunodeficiencyvirus
ICAM: Hücreler arası adezyon molekülü
IFN- γ: İnterferon gama
IG:İmmünglobülin
IL:İnterlökin
LBP: Lipopolisakkaridbinding protein
LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPS: Lipopolisakkarit
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu
RBT: Rosebengal testi
RC: Ruizcastenada
RES: Retiküloendotelyal sistem
RF: Romatoid faktör
RT: Real time
S1P: Sfingozin 1 fosfat
SDA: Serum dekstroz agar
SIRS: Systemicinflammatoryresponsesyndrome
SMZ: Sulfametoksazol
ST: Spot test
STA: Standart tüp aglütinasyon testi
Th1: Tip 1 hücresel
TLR: Tolllike reseptör
TMP: Trimetoprim
TNF- α: Tümör nekroz faktör alfa
USG: Ultrasonografi
VCAM: Vasküler adezyon molekülü

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bruselloz; Dünya Sağlık Örgütü tarafından en yaygın zoonoz olarak kabul edilmektedir. İş gücü kaybına ve ülke ekonomisinde büyük kayıplara yol açan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çeşitli klinik bulgulara, relapslara ve komplikasyonlara neden olabilen, morbiditesi yüksek, mortalitesi düşük bir zoonotik enfeksiyondur. İnsanlara enfekte süt ve az pişmiş etlerin tüketilmesi, enfekte hayvanın doku veya vücut sıvılarıyla doğrudan temas veya enfekte aerosollerin inhalasyonu ile bulaşabilen bir enfeksiyon hastalığıdır.Tanı klinik bulgu ve belirtiler, serolojik testler vekan kültüründe üreme olması ile konulmaktadır. Fakat endemik bölgelerdeçoğu zaman bruselloz tanısını koymada rutinde kullanılanlaboratuvarparametreleriyetersiz kalmaktadır.Brusellayaait antikor titrelerinintedavi sonunda uzun süre yüksekdüzeylerde seyretmesi tedaviyi sonlandırma kararı almada veyanüks tanısı koymada sıkıntı oluşturmaktadır.Brusellozda tanı ve tedavide gecikme ciddi mortalite ve morbiditeyle birlikte ayrıca artan sağlıkharcamalarını da beraberinde getirmektedir. Bunun içinbu hastaların tanı ve tedavitakibinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçler gündeme gelmiştir.Bruselloz tanı ve takibindeDecoyReceptor3 (DcR3), LipopolysaccharideBinding Protein (LBP), Sphingosine 1Phosphate(S1P) gibi yardımcı parametrelerfaydalı olabilir. Yaptığımız çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp FakültesiEnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servis ve/veya polikliniğinde izlenenbruselloz nedeniyle takipli hastalarda noninvaziv yöntemlerle inflamatuvar parametreleri belirlemektedir. Bruselloz hastalarında oksidatif stres ve enflamasyonda rol alan moleküller hakkında bilgiye sahip olarak, brusella hastalarında tanı,takip, tedavi ve hastalığın prognozu hakkında öngörüye sahip olmaktır. Özellikle tanısı zor ve kronik brusella hastalarında serum örneğinde belirtilenbiyobelirteçlere bakılarak hastalığın şiddetinin öğrenilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.BrusellozTanımı

Bruselloz, *Brucella*cinsi bakterilerin neden olduğu, genellikle enfekte hayvanların dokularıyla doğrudan temas, kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi, az pişmiş etlerin tüketilmesi veya enfekte havanın solunmasıyla bulaşabilen, ateş, gece terlemesi, artralji, miyalji gibi çeşitli klinik bulgular ile seyreden yaygın zoonotik bir hastalıktır. Tarihsel olarak ondülan ateş, Bang's Hastalığı, Akdeniz Ateşi,Napoliten Ateş, Kıbrıs Ateşi, Kırım Ateşi, Kaya Ateşi, Cebelitarık Humması ve Malta Humması olarak adlandırılmıştır (1-3).

2.2. Tarihçe

Kırım savaşı sırasında Malta adasında askerler arasında özellikle akşam saatlerinde yüksek ateşin olduğu, kilo kaybı, kas ekleme ağrılarının eşlik ettiği yaygın bir hastalık dikkati çekmiştir. İngiliz ordusunda bir cerrah olan Marstontarafından 1860 yılında ilk Malta Humması vakası bildirildi.İskoç hekim Sir David Bruce, ölen insanların dalak ve karaciğerinden*Micrococcus*adını verdiği patojeni saptadı. 1897'de ise, veteriner hekim Bernhard Bang, özellikle sığırlarda abortusve ölüme neden olan *Basillusabortus*adını verdiği, etkeni izole etti. Aynı yıllarda aglütinasyon testini tanımlayan İngiliz patolog Wright olmuştur. Akdeniz Ateşi Komisyonu 1904'te kuruldu. 1904 ve 1907 arasında brusellozunepidemiyolojisi, bakteriyolojisi ve patolojisi hakkında rapor yayınlandı (1,4-6).

1905 yılında Malta'lı hekim ThemistoclesZammit enfekte keçi sütünde, idrarında ve kanında *B. melitensis'i* izole etmiştir. Zammit, pastörize edilmemiş keçi sütü kullanımını engelleyerek askeri personel arasında enfeksiyon ve ölüm oranlarının hızla düşmesini sağladı. İlerleyen yıllarda *Micrococcus*'un*Melitensis*'in bir türü olduğu ortaya kondu ve yeni adlandırma *Brusellaabortus* olarak değiştirildi. Amerikalı bakteriyolog Alice Evans yaptığı çalışmalarla tüm patojenlerin aynı tür olduğunu belirtmiştir (4,5).

Sir David Bruce'a ithafen *Brucellamelitensis* ve

*Brucellaabortus*adlandırmaları kullanılmıştır. 1914 yılında Amerika'da domuzların karaciğer, mide ve böbreklerinden *B. suis*izole edilmiştir. 1952 yılında Yeni Zelanda'da *B. ovis* bulunmuştur.1957'de Stoenner ve LockmanAmerika'nın Utah eyaletinde çöl farelerinden*B. neotomae'i* izole ettiler. 1966'da*B. canis* av köpeklerinden tespit edilmiş. 1994 yılında deniz memelilerinde *B. pinnipedialis* ve *B. ceti,* 2008 yılında tarla farelerinde *B. microti*, 2010 yılında ise *B.inopinata*izole edilmiştir(5,7).

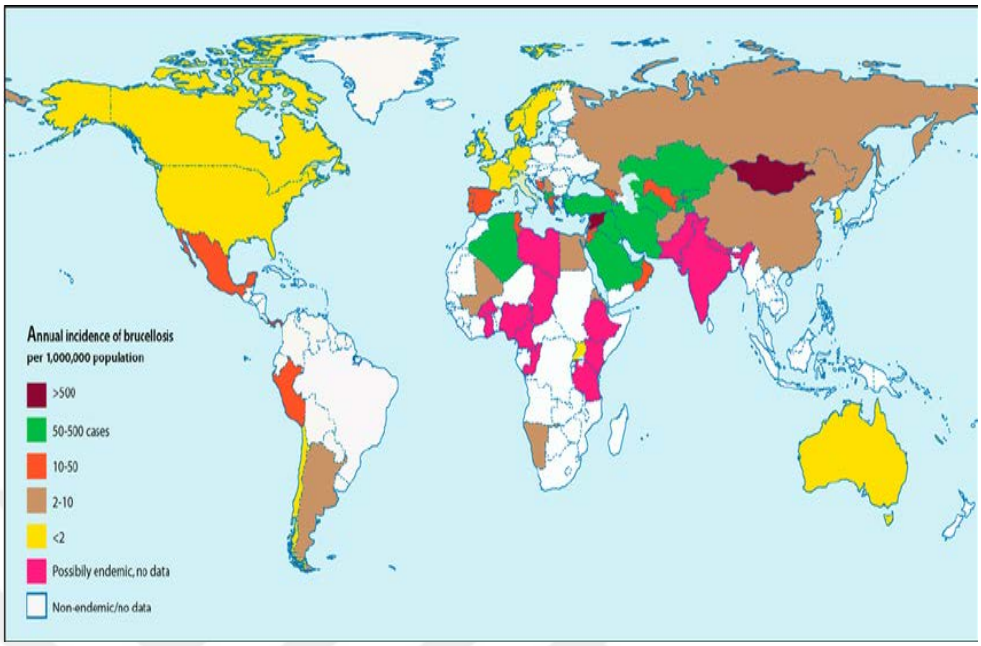
Türkiye'de ilk insan bruselloz olgusu 1915 yılında Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından Kuleli Askeri Hastanesinde bir askerde tespit edilmiştir. Sığırdan ilk izolasyonun 1931 yılında Zühtü Berke, koyunlarda *B.melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında yapılmış, insan ve hayvanlarda brusellozun serolojik yöntemlerle saptanması 1943 yılında Golem tarafından bildirilmiştir (5,8).

2.3. Epidemiyoloji

Bruselloz,mortalitesi düşük bir hastalık olmasınarağmen,her yıl 500.000' den fazla yeni vaka ile dünya çapında en yaygınzoonotik hastalık olmaya devam etmektedir. Endemik bölgelerde bildirilen vakalardan 26 kat kadar fazla enfekte birey olduğu varsayılmaktadır.Bu durumun nedeni olaraklaboratuvar koşullarının uygun olmaması, bildirim yetersizliği ve veteriner hekimler ilehalk sağlığı birimleri arasındaki iletişim eksikliği gösterilmektedir. Özellikle çalışan yaş grubundaki çok sayıda insanı etkileyerek, iş gücü kaybı neden olabilmektedir. Ayrıca hayvanlarda düşük,infertilite, hayvan ölümüne neden olması ve süt verimini azaltması nedeni ileyüksek maddi kayıplara yol açabilmektedir(1,9,10)**.**

Dünyada bazı ülkelerde eradike edilmesine rağmen, çoğu ülkede insan ve hayvanlarda ortaya çıkan infeksiyon oranlarında artış görülmektedir. Tüm dünyada görülmekle birlikte, Türkiye, Kuzey Afrika ülkelerinde, Meksika ile Orta ve Güney Amerika'da, Hindistan ve Arap Yarımadasında hiperendemiktir. İngiltere, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada gibi bazı ülkelerde brusella vakaları oldukça nadirdir. Daha önce brusella eradikasyonunun sağlandığı Kazakistan, Tacikistan, Kırgızistan gibi ülkelerde yeni bruselloz vakaları bildirilmiştir.Brusellozun

dünyadaki insidansı Şekil 1'de gösterilmiştir (10-12).



Şekil 1.Dünyada Bruselloz İnsidans Haritası.

Rakamlar ülkeden ülkeye ve aynı ülkenin farklı bölgeleri arasında değişkenlik göstermektedir.Bu değişkenlik brusella türlerinin dağılımı için de söz konusudur. Dünyada her yılbruselloz için epidemiyolojik verilerin değişkenlik göstermesininsebepleri arasında ülkeler arası seyahatlerin artması,sanitasyon koşullarının değişmesi, sosyoekonomik değişikliklerve illegal hayvan ve hayvan ürünleri ithalatı sayılabilir (13,14).

Brusellozun, Türkiye'deki bölgelere göresıklıksırasına baktığımızda en çok Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinde görülmektedir.Şehirlere göre Diyarbakır, Urfa, Konya, Ankara Ovasındaoldukça sık görülür. Etken olarak kırsal kesimlerde*B. melitensis,*büyük şehirlerde *B. abortus*'a bağlıbrusellaenfeksiyonunarastlanır. Türkiye'de*B.suis*kaynaklı bruselloz olgusu bildirilmemiştir(15-17).

Hastalık cinsiyet fark etmeksizin her yaşta görülebilmektedir. Hastalığın en sık görüldüğü yaş 15-35 yaş grubudur. Bruselloz vakaları yaz mevsiminde 4 kat daha fazla görülür(15).

2.4 Bulaş Yolları

Brusellozsubakut veya kronik seyirli olup, özellikle sığır, keçi, koyun, domuz gibi pek çok hayvan türünü etkileyebilmektedir. Hayvanlar arasında gastrointestinal sistem, deri ve mukoz membranlar aracılığıyla bulaşır. Enfeksiyonu takiben organizmalar lenf nodlarına ulaşır ve bakteriyemi yapar. Bazı hayvanlardauterus ve meme bezlerinde çoğalır. Olgun hayvanlarda üreme sistemini hedef alarak gebe dişilerinkoryonik membranlarında çoğalması plasenta tutulumu ve düşüğe yol açar. Erkek hayvanlarda ise epididimitve orşit gözlenir.Hayvanların çoğunda enfeksiyon kendiliğinden iyileşir; ancak bakteriler, idrar, vajinal salgılar ve süt ile değişik sürelerle atılmaya devam eder. İnsanlarabulaşyolları, kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi, az pişmiş etlerin tüketilmesi, enfekte damlacıklarınınhalasyonu, enfekte sekresyonlarınbütünlüğü bozulmuş cilt ve mukoza ile direkt temasıdır. Hastalığın endemik seyrettiği ülkelerde sıklıkla bulaşkaynağı iyi kaynatılmamışsüt ve süt ürünlerinin tüketimi iken,gelişmiş ülkelerde bulaş nedeni doğrudan temas ve inhalasyon yolu ile olduğu görülmektedir. Kaşar peyniri ve yoğurt ile bulaş oranı çok düşüktür. İnsandan insana bulaşma ise oldukça nadirolmakla birliktecinsel ilişki, kan transfüzyonu ve doku nakliyle de bulaşma bildirilmiştir.Yenidoğanda bruselloz vakalarının olması transplasental ya da anne sütüyle geçişin mümkün olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca gebelik sırasında bruselloz,abortusiçin risk oluşturabilir(13,17-20).

Ülkemizde bruselloz için temel bulaş kaynağı hastalığın endemik olduğu diğer ülkelerde olduğu gibi pastörize edilmemişsüt ve süt ürünlerinin tüketimidir.Sütün pastörize edilerek tüketildiği bölgelerde sıklıklalaboratuvar kaynaklı bulaş ön plana çıkmaktadır(13,16).

Brusellozaçısından risk altında olan meslekler veteriner hekimler, çiftçiler, kasaplar, mezbaha çalışanlarıve laboratuvar çalışanlarıdır.Laboratuvar kaynaklı bruselloz, özellikle hastalığın endemik olduğu ve laboratuvar çalışmalarında uygun biyogüvenlik önlemlerinin alınmadığıülkelerde önemli bir sorundur. Laboratuvar çalışanlarına bulaş, doğrudan temas ya da deri ve mukozaların kontamine olması ve inhalasyon ile olmaktadır. Maruziyet sonrası hastalık gelişme oranı, %30-100 olarak bildirilmiştir. Çok düşük dozlarda bakterinin inhalasyonu sonucu bile hastalık

gelişme riski yüksek olduğu için bu durum brusella türlerini potansiyel bir biyoterörizmajanı haline getirmektedir.CDC bu etkeni Kategori B listesinde sıralamaktadır(13,16).

2.5 Bakteriyolojik Özellikleri

2.5.1Bakterinin türleri

Brusellabakterisi*"Rhizobiales"* takımındaki *Brucellaceae* ailesinde *Proteobacteria* alfa 2 alt grubundadadır. RES'in fakültatif intraselüler parazitidir. Brusella genomu %57 G+C içeriğine sahip 2,1 Mb ve 1,5 Mb iki adet kromozom içerir. *B. suis*biyovar 3 ise istisna olarak tek bir 3,1 Mb kromozoma sahiptir(21).

Brusellatürleri izole edildikleri konaklarına, kültürözelliklerine, metabolik ve antijenik yapılarına göre on farklı türe ayrılmaktır. Ancak yapılan DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları%95' den fazla benzerlik nedeniyle hepsinin *B. melitensis*'in bir alt türü olduğu gösterilmiştir.Brusellagenusunda bulunan altı tür aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır(22).

I. *B. abortus*: Primer olarak sığırlar için patojeniktir;ancak develer, geyikler, koyunlar, keçiler, atlar, köpekler, domuzlar ve insanları da enfekte edebilir.Dokuz adet biyovarı bulunmaktadır(23). Türkiye'de sığırlarda yavru atmaya neden olan baskın suşların *B. abortus*biyovar 1 ve 3 olduğu ortaya konulmuştur(24).

II. *B. melitensis:*Başlıca koyun ve keçilerdegörülmektedir. İnsandaki akut brusellozun en sık etkenidir.Üç tane biyovarı bulunmaktadır. En şiddetli bruselloz vakalarına neden olur ve dünya çapında en yaygın olanıdır(25).

III. *B. suis:*Üç adet biyovarı bulunmaktadır. Biyovar1, 2, 3 domuzları, biyovar 4 geyikleri, biyovar5 ise kemirgenleri enfekte etmektedir. Biyovarların hepsi insanda hastalık oluşturabilmektedir (16,25).

IV. *B. neotomae:*Tek bir biyovar içerir.Sadece çöl farelerindeizole edilebilmiş olup insanda hastalık yapmadığı düşünülmektedir.Ancak 2008 ve 2011 yıllarında, nörobruselloz nedeni ile takip edilen iki hastanın beyin omurilik sıvısından izole edilmiştir(26).

V. *B. canis:*En sık köpeklerde enfeksiyona neden olan türdür. Nadiren insanda da enfeksiyona yol açtığı gösterilmiştir.Genetik araştırmalar *B. suis*biyovar1'ın derivesi olduğunu göstermektedir(16).

VI.*B. ovis*: Tüm hayvan türlerinde deneysel ortamda enfeksiyon geliştirebileceği gösterilmiştir. Ancak koyunlar için özgüllüğüyüksektir. Veriler insanda subklinik enfeksiyona yol açabildiğini göstermesine rağmen enfeksiyona neden olduğu gösterilememiştir(27).

VII-VIII. *Brusellapinnipediae, Brucellacetecae*:*B. pinnipediae* fok ve ayıbalıklarından, *B. cetecae*ise yunus ve balinalardan izole edilen brusella türleridir(28).

IX. *B.inopinata*:Bir kadın hastanın meme implantı enfeksiyonundan izole edildi. Fenotipik ve moleküler analizlerden diğer tüm brucella türlerinden farklı olduğu ve bu nedenle brusella cinsi içinde yeni bir türü temsil ettiği ortaya çıktı(7).

Dünyada akut brusellozolgularının çoğuna enpatojenik tür olan *B. melitensis*neden olmaktadır.*B. melitensis'ten* sonra patojenitesi yüksek tür *B.suis'tir.B. abortus*'a bağlı enfeksiyon tablosu ise nispeten daha hafif seyirlidir (16-25).

2.5.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

Brusella cinsiküçük, gram negatif, hareketsiz, spor oluşturmayan, 0,6-1,5 µm uzunluğundave0,5-0,7 µm genişliğinde, hücre içi çoğalan aerobikkokobasildir. Tüm Brusella türleri katalaz pozitiftir. Üreaz ve oksidaz aktiviteleri ve ayrıca hidrojen sülfür üretimi değişkendir.Nitrat redüktaz üreten suşları nitratı nitrite indirgerler(25).

Bir veya ikili hücreler, kısa zincirler şeklinde bulunabilirler. İn vivo ortamda bakteri hücre içinde sıkıca kümelenmiş durumda yaşar. Spor veya gerçek kapsül oluşturmazlar. Hareketsizdirlerve flajellaları yoktur. Aerobiktirler, zorunlu anaerop koşullarda üreyemezler ve özellikle *B. abortus*biyovar 1,2,3,4 ve *B. ovis* gibi bazı türler üremek için ortamda karbondioksit varlığına ihtiyaç duymaktadır(21).

Brusella bakterilerinin bilinen bir ekzotoksini yoktur. Mevcut endotoksini de diğer gram negatif bakterilerin endotoksinleri kadar toksik özellik göstermez. Hücre duvarında yer alan lipopolisakkarit (LPS) tabakanın endotoksin özelliği bulunur. LPS tabakada yer alan O polisakkarit zinciri bakterinin önemli virülans faktörüdür. O zinciri üzerinde bulunan üç epitop (A, M ve C) tür/biyovar düzeyinde farklılık gösterir. Sitoplazmik, periplazmik ve dış membran yapısal proteinleri antijenik özellik taşırlar ve bağışıklık sistemi tarafından tanınırlar. S şeklinde koloni ve mukoid koloni oluşturan suşlarda kapsül izlenirken, pasajlarda ve R koloni şekillerinde, kapsülün kaybolduğu gösterilmiştir (21,29).

Özellikle ilk izolasyonlarında zengin besiyerlerinin kullanılması gerekir. Pepton, glikoz ve tuz içeren besiyerlerinde iyi ürerler. Bazı türler için tiamin, niasin, nikotinik asit, vitaminler, demir ve mangenez gibi bazı eser metaller,biotin ve bazen serum gerekebilir. Demiresideroforve bakterio-ferritin için ihtiyaç duyar. Metabolizması oksidatiftir ve enerjisini aminoasit ve karbonhidratlardan karşılar.Çoğu suş enerji için eritritolüde kullanır(30).

Optimal üreme ısıları 37°C olmakla birlikte, 10-40°C arasında üreyebilirler. Üremeleri için gerekli optimal pH 6.7-7.4'tür. Kültürde en az 48 saatlik inkübasyonu takiben küçük, konveks, düzgün, yarı saydam ve parlak yüzeyli S koloniler oluştururlar.S koloni yapan türlerde R koloni yapan varyantlar olabildiği gibi*B. ovis* ve *B. canis*sadece R koloni yaparlar. Kolonileri hemolizsiz ve pigmentsizdir. *B. abortus* ve *B. melitensis*'in bazı türlerinin kolonileri eski kültürlerinde esmer renkte görülebilir(16).

H2S üretme özelliği türler/biyovarlar arasında farklılıkgösterir ve tür/biyovar ayırımında kullanılabilmektedir. Proteolitik aktiviteleri zayıf olduğu için jelatini eritme veya eritrositlerde hemoliz yapma özelliği göstermezler. *B. suis*ve *B. canis* yüksek üreaz aktivitesine sahiptir.*B. ovis*'inüreaz aktivitesiyoktur. Diğer türlerin bazılarında ise üreaz aktivitesi zayıftır. İndol, Voges-Proskauer reaksiyonuoluşturamazlar ve metil kırmızısı testi negatiftir(16).

Brusella türlerinin identifikasyonlarında; üremede CO2 ihtiyacı, H2S oluşumu, hızlı üre hidrolizi,thionin ve bazik fuksin boyalarına olan duyarlılık ve

monospesifik antiserumlarla aglütinasyon özelliklerinden faydalanılır. Ayrıca bu etkenlerin tiplendirilmesinde bakteriyofajlara duyarlılıkları önemli bir kriterdir. Bunun için Weybridge, Tbilisi, Berkeley, Firenzefajlarından yararlanılır. R formundaki Brucella organizmaları bu fajlar tarafından lize olmaz. Test için genellikle rutin test dilüsyon yöntemi uygulanmaktadır(31,32).

Brusella bakterilerini üretebilmek için Brain-HeartInfüzyonbesiyeri, brucellaagar, kanlı agar, çikolata agar, karaciğer infüzyon agar, triptik soy agar gibi besiyerleri kullanılabilir.Konvansiyonel yöntemlerde inkübasyon süresiyaklaşık üç hafta olmalıdır. Ancak son yıllarda brusella türlerinin daha kısa sürelerde izolasyonuna imkansağlayan liziz santrifügasyon kan kültür sistemleri ve otomatize kan kültür sistemleri kullanılmaktadır(32).

Brusellasuda 10 hafta, ahır tozlarında 6 hafta, toprakta 10 hafta, gübrede 2 yıl gibi uzun süre canlı kalabilmektedir.Abort yapan hayvan fetüsünde 75 gün, çiğ sütten yapılmış dondurmada 30 gün, 4-8 ºC'de saklanan keçi peynirinde ise 6 aydan daha uzun süre canlılığını korumaktadır.%10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, %17 içerende ise 1 ay yaşayabildiği tespit edilmiştir. Tereyağında 4 ayda, oda ısısındaki peynirde 2 ayda inaktive olmaktadır. Tulum ve kaşar peyniri, yoğurt gibi asiditesi yüksek olanbesinler ile brusellabulaşı olmamaktadır.Brusellatürleri ısı ve pastörizasyona karşı duyarlıdır. 60 ºC'de 10 dakikada, %0,1 fenolde 15 dakikada yıkıma uğrar. Canlılıklarını 56 ºC'de yitirirler, sterilizasyondan emin olmak için 85 ºC gerekir(16,21).

2.5.2.1.Antijenik özellikler

Brusella cinsi bakterilerin antijenik özellikleri tür düzeyinde farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklarbrusellaultrasantrifügasyon veya dondurma-çözme işlemlerine tabi tutulduktan sonraparçalanmaları sonucu ortaya çıkmaktadır. Brusella bakterilerinin yüzey katmanları; içteki sitoplazma zarını çevreleyen bir peptidoglikan tabakası, fosfolipid-LPS ve dış zar proteinlerinin oluşturduğu bir dış zardan oluşmaktadır. Bu dış membran antijenik özellik gösteren esas yapıdır. Somatik LPS antijenleri ve dış membran proteinleri dışındaki diğer antijenler tüm brusellatürlerinde ortaktır. Brusella türlerinde saptanmış bir ekzotoksin yoktur. Her

ne kadar saptanmış bir endotoksin üretimi olmasa da ana yüzey antijeni olan LPS kompleksi endotoksin aktivitesi göstermektedir. Serolojik tanı yöntemleri bu LPS kompleksi ile doğrudan ilişkilidir(33).

Virülanstan sorumlu ve subtipayırımında kullanılan LPS'nin bileşenlerinden olan A (abortus) ve M (melitensis) antijenleridir. Bu iki antijen *B. abortus, B. melitensi*s ve *B. suis* türlerinde farklı miktarlarda bulunmaktadır. A antijeni *B. abortus,* M antijeni ise *B. melitensis*'te daha fazla bulunan antijenik yapıdır. Bu 3 tür ortak antijenik yapılar içerdiğinden tanı amacıyla serolojik incelemelerde *B. abortus* antijenleri kullanılmaktadır. Ancak*B. canis* ve *B. ovis*'te bu antijenlerin ikisi de bulunmamaktadır. Bu nedenle *B. canis* ve *B. ovis*A ve M antijenlerine karşı gelişen spesifik antikorların saptandığı aglütinasyon reaksiyonları açısından antijenik özellikleri yoktur ve seronegatiftirler(34).

S şeklindeki koloni oluşturanbrusella suşları sahip oldukları ile S-LPS'lere bağlı karbonhidratın O zincirindeki 4-6 dideoksi-4-amino-D-mannoz bölgesi nedeni ile *E. coli* O:116 ve O:157, *Francisellatularensis,* N grubu *Salmonella*'lar, *Stenotrophomonasmaltophilia, Vibriocholerae, Yersiniaenterocolitica* O:9 bakterileri arasında çapraz reaksiyonizlenir(33,34).

2.5.2.2.Genetik özellikler

Brusella türleri, "*Rhizobiales*" takımındaki *Brucellaceae*ailesinde *Proteobacteria* alfa 2 alt grubunda yer almaktadır(21).Etkene yönelik gen çalışması ilk olarak 1960'lı yıllarda yapılmıştır. Hibridizasyon yöntemi ile farklı türler arasında %90 üzeri homoloji saptanmış hatta bu nedenle tüm türlerin aslında *B. melitensis* olabileceği varsayılmıştır. Son yıllarda ise sekanslama yapılmış ve tıpkı hibridizasyon gibi sekanslamada da çok yüksek oranda benzerlik saptanmıştır(16).

2.5.2.3.Antibiyotik duyarlılığı ve direnç

Doğal brusellatürlerinde plazmid aracılı antibiyotik direnci saptanmamıştır. Deneysel çalışmalarda *B. abortus* suşlarına plazmid aracılı direnç aktarılmış ise de pratikte doğal suşlar için bu durum geçerli değildir. Tedavi başlıca tetrasiklinler, rifampisin, aminoglikozidler, florokinolonlarve ko-trimaksazolgibi sınırlı sayıda antibiyotiklerden oluşmaktadır. Penisilinler, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler,

kloramfenikol, eritromisingibi bazı antibiyotikler in vitro etkili bulunmuş olsa da tedavide etkisizdirler ve bu nedenle kullanılmaları önerilmez. Tedavinin etkin olması adına kombine tedavi kullanılması önerilmektedir. Buna karşın etkili antimikrobiyal tedavi verilen olgularda da relaps ve persistan enfeksiyonlarının sık olduğu bilinmektedir. Bu relaps ve persistan enfeksiyonlar antimikrobiyal dirençten ziyade etkenin intraselüler yerleşmesinin sonucu olarak antimikrobiyal ajanlarının enfeksiyonların primer odağına yeterli konsantrasyonlarda ulaşamamasına ve tedavi uyumsuzluğuna bağlanmıştır(16).

2.6. Patogenez

Brusella, kendine özgü mekanizmalarla hayatta kalma özelliğine sahip makrofajların içinde yaşayan fakültatif intraselüler bir mikroorganizmadır. Konağın immün sisteminden makrofaj apoptozunun bloke edilmesi, Th1'e özgü bağışıklık yanıtının baskılanması ve tümör nekroz faktör- α (TNF-α) üretiminin engellenmesi gibi mekanizmalarla korunur.Önemli virülans faktörleri arasında hücre membran yüzeyindeki lipopolisakkarit yapısı, VirB tip IV sekresyon sistemi (T4SS), ve siklik B-1,2 glukan sistemi yer alır. Ayrıca bakterinin virülans faktörleri arasında fagolizozomların kaynaşmasını, miyeloperoksidaz salınımını ve TNF üretimini engelleyenadenin ve guaninmonofosfat sistemleri bulunur.Süperoksit dismutaz, reaktif oksijen ara maddelerini detoksifiye eder ve üreaz, mideden geçerken *B. abortus* ve *B. suis'*i mide asidinden korur(25).

Brusellaların iki bilişenliquorumsensing sistemi hücreye bağlanma ve hücre içi sağkalımda rol alan hücre yüzeyi proteinlerini kodlayan genlerin ekspresyonunu değiştirir. Ozmoregülerperiplazmik glukanlar olarak isimlendrilenbu özgül proteinler, konak hücre zarındaki lipidlerle etkileşime girer ve fagozom-lizozom birleşmesini engeller.Ayrıca VirB tip IV sekresyon sisteminin proteinlerihücrenin endoplazmik retikulumu ve bakterileri içine almış olan veziküllerle etkileşerek, vezikülerpH’ın nötralizasyonuna ve bakterilerin hücre içinde çoğalabilmelerine katkıda bulunur(35).

Retiküloendotelyal sistem (RES)'deki enfekte hücreler sonunda dejenere olur ve hücre içindeki organizmaları dışarı salar. Hücre içinde çoğalan mikroorganizmalar

komşu hücrelere, yerel lenf düğümlerine ya da karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi RES organlarına yayılır. İmmün sistem ile ortadan kaldırılamayan bakteriler granülom oluşturularak ilgili organda sınırlandırılmaya çalışılmaktadır. Granülomlar *B. abortus* enfeksiyonları için karakteristiktir. *B.melitensis*'te ise granülomlar küçüktür ve genellikle toksemi gözlenir. Genellikle granülomlar fibrosis ve kalsifikasyon bırakarak iyileşir. *B. suis* enfeksiyonundadaha çok eklemlerde ve dalakta kronik apse formasyonu izlenir(25,35).

Brusella enfeksiyonu tip 1 hücresel (Th1) immünyanıtına sebep olur. Bu yanıta başlıca TNF-α, interferon (IFN)-γ ve interlökin (IL)-12 gibi major sitokinler aracılık eder. İnsan brusellozundakiTh1 kaynaklı immünyanıttaγδ T-reseptörlerini içeren T-lenfositlerrol oynar. Bu T- lenfositler bakterinin kendisi ya da bakterinin enfekte ettiği monositlerle aktive olur.Daha sonra TNF-α ve IFN-γ salınımını tetikler. Böylecebakterinin makrofajlar içerisinde replikasyonu bloke edilir. Brusellozunkronikleşmesi veya eliminasyonu T hücreleri ve makrofaj arasındaki dengeye bağlıdır(25,36).

Brusellozistetemel olarak hücresel immünite rol alır.Humoralimmünyanıt sonrası oluşan antikorların brusella enfeksiyonuna karşı koruyuculuğu düşüktür.Brusella enfeksiyonunda ilk hafta IgM tipi antikortitreleriyükselirken, IgG antikortitreleriikinci haftada artmaya başlar. Bunun yanında IgA antikor titreleri ise erken dönemde artarken, ileri aylarda önemli düzeyde azalır. Tedaviden sonra IgG antikortitrelerindeki düşüş IgM antikortitrelerine göre daha hızlıgerçekleşmektedir. Bazı hastalarda IgM antikorları aktif enfeksiyon olmadığı halde aylar, yıllar hatta ömür boyu düşük titrede pozitif kalabilir. IgG ve IgA antikor düzeylerinin altı aydan uzun süre yüksek olarak ölçülmesi kronik enfeksiyon veya nüks göstergesi olarak kabul edilmektedir(12,25).

2.7. Klinik Belirti ve Bulgular

Brusselloz vücuttaki herorgan ve sistemi tutabilir. Bu nedenle çok sayıda hastalığı taklit eder. Hastalık, asemptomatik hastalıktan ölümcül hastalığa kadar uzanan, çeşitli klinik spektrumları olan sistemik bir enfeksiyondur.Türler arasındaki klinik farklılıkları belirlemek zor olsa da, *B. melitensis* enfeksiyonlarının,

*B.abortus'*un neden olduğu hastalığa kıyasla daha akut ortaya çıktığı bildirilmektedir(25).

Hastalığın başlangıcı sessiz veya akut olarak seyredebilmekle birlikte genellikle inkübasyon süresi1- 4hafta ile 3 ay arasında değişmektedir. Semptom süresi 8 haftadan daha kısa ise akut, 8-52 hafta süren semptom varlığında subakut, 1 yıldan daha uzun süren semptom varlığında ise kronikbruselloz olarak adlandırılır. Hastalık fokal veya lokalize organ tutulumu şeklinde olabilir. Fokal tutulumakut brusellozun bir komplikasyonu olabileceği gibi kronik brusellozun kliniği olarak da karşımıza çıkabilir. En ağır klinik tablo *B. melitensis*'te izlenirken, *B. suis* ve *B. abortus* bunu izler (9,12,32).

Hastalığın klinik seyri; hastalığın evresine, herhangi bir organ ya da sistem tutulumu olmasına, konağın direncine ve yaşına, etken patojenin türüne ve virülansına ve tedavi verilinceye kadar geçen süreye bağlı olarak oldukça değişkendir. Hastalık, akut ateşli hastalık veya kronik enfeksiyon olarak kendini gösterir. Semptomların başlangıcı ani veya sinsi olabilir, birkaç gün ila haftalar arasında gelişir. En sık görülen şikayetler, vakaların %75 ila %100'ünde görülen artralji, titreme ile yükselen ateşve yorgunluktur.Bunuaşırı terleme, kötü kokulu terleme, iştahsızlık, kas ağrısıizler. En sık görülen klinik bulgular; hastaların üçte biri ila yarısında ateş ve hepatomegali olup, bunu splenomegali, periferik artrit, sakroileit, skrotal şişlik, lenfadenopati izlemektedir(25,37,38).

Subklinikbruselloz veya asemptomatikbruselloz, daha sık çiftçiler, mezbaha çalışanları ve veterinerlerde izlenir. Bu hastalarda, klinik belirtive bulgular olmadığı için tanı serolojipozitifliği ile konulmaktadır. Düşük titrede serolojik test pozitifliği ve kültür negatifliği vardır. Kişinin immün durumuna göre diğer klinik tablolara ilerleyebilir (12,38).

Akut bruselloz,brusellozun en sık görülen tipik klinik formudur. Hastalar genellikle bakteriyemiktir. Vakaların %50'sinde ani başlangıç görülür. Bu vakalarda, yüksek ateş ile birlikte kırgınlık, iştahsızlık, halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, sırt ağrısı, bol terleme, kilo kaybı, miyalji ve artralji vardır. Akut vakalarda en sık

rastlanan bulgular; 38.5ºC üzerinde seyreden ateş (>%85), hepatosplenomegali (%6-35) ve artrittir(%40-50) (9,12,38,39).

Subakutbrusellozise yetersiz süre ve uygun olmayan kombinasyonlarda antibiyotik tedavisi alan hastalarda izlenir.Klinik belirti ve bulgular akut bruselloza nispeten daha ılımlıdır. Farklı klinik tablolarla ortaya çıkabilir ve nedeni bilinmeyen ateşin en önemli sebeplerindendir(12,32).

Kronik bruselloz, kronik yorgunluk sendromu şeklinde ortaya çıkabilir.Kronik vakaların %85'i asemptomatik seyirlidir. Bu vakalarda belirti ve bulgular genellikle nonspesifiktir ve bu yüzden klinik tanı son derce zordur.Hastalarda genellikle psikonevrotik şikayetler, belli belirsiz etraf ağrıları ve başağrısı gibi depresyon belirtileri ön plandadır. Ateş nadirdir.Birçok hastada ateşlenme hissi olmakla beraber, çoğu kez dereceyle ölçülen bir ateş tespit edilemez.Terleme, kilo kaybı ve hepatosplenomegali görülebilir. Episklerit ve üveit gibi oküler komplikasyonlar ise daha sıktır(14,32,38).

Lokalize bruselloz ise organizmaların kandan izole edilmediği fakat kemik, eklem, beyin omurilik sıvısı, karaciğer, böbrekler, dalak veya deri gibi belirli dokularda lokalize olduğu durumları ifade eder. Lokalizasyon, sistemik enfeksiyonun başlıca belirtisi olabilir veya kronik bir enfeksiyonun tek belirtisi olabilir. Lokalize enfeksiyon bazen sistemik enfeksiyon sonucu oluştuğunda komplikasyon olarak adlandırılır.Semptom ve bulgular tutulan organa göre değişir. Tanı serolojik testler ve kan kültürü ile konur(12,40).

2.8.Relaps veya Reenfeksiyon

Tedavisonrasıkültürpozitifliğiolsun veya olmasınbrusellozaözgüklinik belirti ve bulguların tekrarlanması, yeni patolojik radyolojik görüntüleme bulgularının ortaya çıkmasırelaps olarak tanımlanır. IgG antikor titrelerinde yükselme relaps için tipiktir. Bakterinin intraselüler yerleşim göstermesi, granülom ve süpüratif odaklarda varlığını sürdürmesi nedeni ile oluştuğu düşünülmektedir. Relaps oranları, kullanılan rejime bağlı olarak %5 ila %15 civarındadır.Sıklıkla tedavinin kesilmesinden sonraki 6 ay içinde ortaya çıkar ve ilk ataktan daha hafif olma eğilimindedir. Nüks genellikle

antibiyotiğe dirençli suşların varlığına bağlı değildir. Aksine sıklıkla tedaviuyumsuzluğu nedeniyle ortaya çıkar. Diğer nedenler arasında uygunsuz antibiyotik kullanımı, mikrobiyal virülans faktörleri ve fokal enfeksiyonlar sayılabilir. Ayrıca araya giren viral bir enfeksiyon, travma, stres, aşırı yorgunluk, alkol gibi nedenlerle de relaps ortaya çıkabilmektedir. Bu yüzden relaps olgularında başlangıç tedavisinde kullanılan ilaçların tekrar kullanılmasında sakınca yoktur.Çoğu relaps olgusu tekrar başlanan antibiyotik tedavisine genellikle yanıt verirler. Hastalarda hücresel ve hümoralimmün yanıtoluşmasına rağmen antikorların koruyuculuğu yoktur. Bu yüzden reenfeksiyon görülebilir. Ancak bunun relaps ile ayrımını yapmak çoğunlukla mümkün değildir (25,38).

2.9.Fokal Tutulum veya Komplikasyonlar

Aktif brusellozlu hastalarda herhangi bir anatomik bölge veya organ tutulumu bulguları klinik tabloya eklenmişse fokal bruselloz, lokalize hastalık veya komplikasyon olarak tanımlanmaktadır. Brusellozda hemen hemen her sistemin fokal tutulum formları ile sıklıkla karşılaşılır. Ancak bunların çok azı ciddi seyirlidir. En sık görülen fokal tutulum osteoartiküler sistem tutulumudur(38).

2.9.1 Osteoartikülersistem tutulumu

Brusellozdakemik ve eklem tutulumu en sık tanımlanan komplikasyondur. Yaşa ve etken olan brusella türüne göre değişmekle beraber hastaların %10-85'inde görülmektedir. Bu komplikasyon, sıklıkla*B.melitensis*bakteriyemisini takiben ortaya çıkar ve oluşturduğu klinik tablo daha ağırdır. Klinikte en sık sakroileit, spondilit ve artrit görülürken, osteomiyelit, postenfeksiyözspondiloartrit, tenosinovit ve bursit daha nadir görülür. Kalça, diz, ayak bileği gibi büyük eklem tutulumları küçük eklemlere göre daha fazladır. Spondilit genellikle yaşlı erkeklerde ve lomber bölgede görülürken, sakroileit her iki cins ve daha sık gençlerde görülür(25,38,41).

Artralji, bazen tek başvuru bulgusu olarak ortaya çıkanen sık şikayetlerden biridir. En çok diz, ayak bileği ve omuz eklemlerinde görülür. Bazen çok şiddetli olabilmekle birlikte radyolojikbulgu vermeden ve sekel bırakmadan iyileşirler(38).

Artrit daha çok genç yaşlarda ve çocuklarda akut hastalıkla birlikte görülür. En sık kalça ve diz eklemini etkiler. Daha azsıklıkla ayak bileği, omuz ve sternoklaviküler eklemetkilenir.Periferik artrit olguların çoğu mono artikülerdir. Ancak oligoartritve çok nadiren poliartrit şeklinde olabilir.Septik artrit ve reaktif artrit dolaşan immünkomplekslere bağlı ortaya çıkar.Organizmalar, eklem sıvısından lizis-santrifügasyon yöntemiyle izole edilmiştir(40).

Sakroileit genellikle akut bruselloz sırasında genç hastalarda sık görülmekle birlikte her yaş ve cinste görülen en sık tutulumlardan birisidir. Unilateral veya bilateral olabilir ve genellikle nonenfektifsakroileitlerden farklı olarak asimetrik bir tutulum görülür. Sakroileit, tek başına, yaygın artrit ve ateş atakları ile birlikte de olabilir.Bu hastalar sıklıkla genel bruselloz bulguları ile birlikte ayağa yayılan ve yürümeyi zorlaştıran istirahatte de devam eden bel-kalça ağrısı ile başvururlar. Dokunmakla sakroiliak bölge hassasiyeti vardır. Sakroileittedestrüksiyon görülmesi nadirdir, tedaviye iyi cevap verir ve sıklıkla kalıcı hasar bırakmadan iyileşir (25,35,38).

Spondilitgeriatrikyaş grubunda daha sıktır. Lomber vertebralarda özellikle L4-L5 vertebralar sık tutulurken, torakal ve servikal vertebralar daha nadir tutulur.Genellikle ateş, kırgınlık, sırt ağrısı ve yürümede güçlük görülür.Çoğu zamansemptomlar olmadan da spondilit gelişebileceği akılda tutulmalıdır. Ilımlı bir formdan ciddi destrüktif lezyonların eşlik ettiği formlara kadarfarklı tutulum sergileyebilir. Tutulan vertebraların processusspinosus'larına basmakla ortaya çıkan ve giderek artan, hastanın yaşam konforunu bozacak kadar şiddetli ağrı izlenir.Spondilitlihastaların %10-20'sinde paravertebral apse eşlik eder.Medulla basısıgörülebilir.Brusellarspondilitte tedavi yanıtı geç alınır ve komplikasyonlar gelişmiş ise sekel bırakarak iyileşir.Spinal brusellozun ayırıcı tanısında tüberküloz spondiliti, piyojenik osteomiyelit, dejeneratif hastalıklar, spondiloz, intervertebralherniasyon, metastatik lezyonlar, plazmositoma ve aktinomikozdüşünülmelidir(25,35,38,40,41).

Brusellarosteomiyelit oldukça nadirdirveçoğu hastada paravertebral apse, subdural apseve psoas apsesi gibi ciddi komplikasyonlar eşlik eder. Bu hastalarda

daha uzun tedavi ve cerrahi yaklaşım gerekir. Radyonüklid sintigrafi ile vertebral osteomiyelit tanısı konulabilir(38).

Osteoartikülertutulumlarda radyografik bulgular geç evrelerde ortaya çıkar. Akuthastalıkta direk radyografi bulguları yardımcı olmazken,kemik sintigrafisi ve bilgisayarlı tomografi gibi görüntülemeler erken tanı açısından yardımcı olabilir. Manyetik rezonans görüntüleme ise tanı ve ayırıcı tanıda, tedavinin takibinde en hassas radyolojik görüntüleme yöntemi olarak kabul edilmektedir(41).

2.9.2Gastrointestinalsistemtutulumu

Karın ağrısı, iştahsızlık, bulantı, kusma, anoreksi ishal veya kabızlık gibi gastrointestinal sistem şikayetleri bruselloz hastalarının yaklaşık %70'inde görülmektedir.Uzun süren enfeksiyonlarda kolit, enterokolit, spontan bakteriyel peritonit, kolesistit, splenik apseler ve splenikenfarktlar gibi daha yaygın gastrointestinal patolojiler görülebilir. Akut ve kronik pankreatit, ileus ve ileit nadir bildirilmiş(40,41).

2.9.3.Hepatobiliyersistem tutulumu

Brusellozda karaciğer tutulumu yaygındır.Transaminazlarda hafif yükselme şeklinde olabileceği gibi, granülomatöz hepatit veya karaciğerde apseler şeklinde de karşımıza çıkabilmektedir.Transaminazlardaki yükseklik akut evrede daha sıktır.Karaciğer tutulumu olan hastaların çoğunda histopatolojik analiz reaktif hepatit lehinedir.Karaciğer tutulumu özellikle*B. melitensis* ve *B. suis* enfeksiyonlarında daha yaygındır. Bu etkenlere bağlı enfeksiyonlarda kazeifiye hepatik granülomlar ve mikro apseler görülürken;*B.abortus*, karaciğerde kazeifiye olmayan granülom oluşturmayameyillidir.Kronik hepatosplenikbrusellozunsüpüratifkomplikasyonlardayüksek klinik yanıt almak için cerrahi ve tıbbi yaklaşımların kombinasyonu gerekir. Brusella hepatiti, tedavi edilmezse karaciğer dekompansasyonuna ve siroza yol açabilir. Akut ve kronik brusellozla ilişkili kolesistit bildirilmiştir(25,35,41,42).

2.9.4.Sinir sistemi tutulumu

Nörolojik tutulum,brusellozvakalarının yaklaşık %10'unda meydana gelir ve ciddi bir komplikasyondur.Bruselloz, tümmerkezi sinir sistemienfeksiyonlarının %0,5'ini oluşturur.En sık subakut veya kronik meningoensefalit şeklinde ortaya çıkar. Brusellozun diğer santral sinir sistemi belirtileri arasında ensefalit, menenjit, meningomiyelit, beyin apsesi, epidural apse, subdural ampiyem,paraspinal apseler, kraniyal sinir tutulumu (özellikle 6.ve 8.kraniyal sinir), serebralvaskülit, kanama, enfarktlar ve serebellar ataksi bulunur. Periferik sinir komplikasyonları arasındamiyelit, radikülopati, periferal nöropati semptomları izlenir.Bu komplikasyonlarhastalığın herhangi bir evresinde karşımıza çıkabilir.Başlıca şikayetlerbaş ağrısı, ateş, terleme, kilo kaybı ve sırt ağrısıdır. Olguların büyük bir kısmında meningeal irritasyon bulguları eşlik etmez.Ayrıca brusellozun hem akut hem de kronik döneminde en sık depresyon olmakla birlikteamnezi, psikoz, ajitasyon, kişilik değişikliği veya öfori gibi psikiyatrik bozukluklar oluşabilmektedir(25,35,43–45).

Beyin omurilik sıvısının (BOS) analizindegenellikle yükselmiş protein, normal veya düşük glukoz seviyeleri ve lenfosittik pleositoz saptanır.BOS'ta mikroorganizmanın izole edilmesi oldukça nadirdir. Çoğu zaman etken üretilemez ve Gram boyaması genellikle negatiftir.BOSve serumdaspesifik antikorların gösterilmesi veya moleküler yöntemlerleetkenin gösterilmesi tanıdaoldukça yararlıdır.Bilgisayarlı tomografı ve manyetik rezonans görüntüleme genellikle normaldir. Nadiren leptomeningeal inflamasyon şeklinde tutulum izlenebilir.Tedavi üçlü antimikrobiyal tedavi şeklinde olmalı ve 8-12 hafta sürmelidir.Uygun tedavi ile mortalite %1'in altındadır. Fakat bu hastaların %20'sinde kalıcı sekel gelişme ihtimali vardır. Kalıcı sekellerin başında yürümede zorlanma ve işitme kaybı gelmektedir. Diğer sekeller idrar kaçırma, görme bozuklukları ve amnezidir(35,41,43–45).

2.9.5. Kardiyovasküler sistem tutulumu

Brusellozdakardiak tutulum nadir görülür.Kardiak komplikasyonlar; endokardit, miyokardit, perikardit, aort kökü apsesi, mikotik anevrizmalar, pulmoner

emboli ve derin ven trombozudur.Endokardit en sık görülen kardiak tutulum şekli olup, görülme sıklığı %0,4-2 arasında değişmekle birlikte brusellozun en sık rastlanan ölüm nedenidir ve bruselloza bağlı tüm ölümlerin %80'indensorumludur.Hem doğal hem de protez kalp kapaklarını tutabilir. En sık aort kapağı tutulur daha az sıklıkla mitral kapak tutulumu da bildirilmiştir. Ölüm özellikle gecikmiş tanıya bağlı olarak kalp yetmezliği ve perikardiyal efüzyonkaynaklı gelişmektedir(25,35,41,46–49).

Klinik semptomlar birçok hastada 2-10 hafta kadar süren subakut dönemden sonra ortaya çıkmaktadır. Brusellozun genelbulgularına ek olarak; yeni ortaya çıkan aortik ve/veya mitral yetmezlik üfürümü, kalp yetmezliği, bradiaritmi fizik muayenede saptanabilmektedir. Tanıklinik bulgular, ekokardiyografide enfektif endokardit ile uyumlu bulguların saptanması, kan veya diğer doku kültürlerinde etkenin izole edilmesi, serolojik ve moleküler testlerin pozitif olması ile konulmaktadır(25,38,41).

Tedavide doğal kapak tutulumu olan vekalp yetmezliğinin gelişmediği hastalık süresi kısa olan az sayıda olguda tek başına medikal tedavi ile kür bildirilmekle birlikte,brusella bakterisinin medikal tedaviye dirençli olması, tekli ya da ikili ilaç tedavisi ile relapsların sık olması ve uzun süre tedavi ihtiyacı nedeniylekombine medikal ve cerrahi tedavi önerilmektedir(46–50).

2.9.6. Solunum sistemi tutulumu

Akciğer tutulumu tüm bruselloz komplikasyonları içinde en az saptanan komplikasyondur. Enfekte aerosollerin inhalasyonu veya hematojen yolla yayılım sonucu pulmonerbruselloz tablosu oluşmaktadır. Brusellozlu hastaların %15-25'inde solunum sistemine ait semptomlar izlenir. Pnömoni gelişmeinsidansı %1-5 arasında bulunmuştur. Tek başına ya da sistemik hastalığın bir parçası olarak ortaya çıkabilir(25,38,41).

En sık görülen semptom genellikle nonprodüktif öksürüktür.Hastalarının %1-16'sında akciğer grafisinde bulgular mevcuttur fakatpatognomonik değildir. Bu bulgular bronkopnömoni, interstisyel pnömoni, plevral effüzyon, apse,

pulmonernodüller, hiler ve paratrakeal lenfadenopati, granülomlar, ampiyem ve pnömotoraksşeklindedir. Çoğunlukla tedavi süresinin yetersizliğine bağlı gelişir(51–55).

Özellikle atipik pnömoni ile karışabileceğinden uzun süreli ateş, kuru öksürüğü olan, bruselloz için endemik bölgede yaşayan ve risk grubundaki kişilerde brusellaya bağlı pnömoni akla gelmelidir. Standart bruselloz tedavisi genellikle pulmonertutulumlu hastalar için de yeterli olmaktadır. Bununla birlikte ampiyem, plevral kalınlaşma gibi komplikasyonların gelişmesi durumunda ek girişimsel tedaviler gerekebilir(51–55).

2.9.7. Genitoürinersistem tutulumu

Genitoüriner komplikasyonlar %2-10 oranında görülür ve erkeklerde daha sıktır.Kadınlarda piyelonefrit,erkeklerde epididimoorşit en sık görülen genitoüriner sistem tutulumudur(25,35,41).

Epididimoorşithematojenyolla gelişir ve hastalığın akut fazında daha sık görülür. Genellikle unilateral, nadiren bilateral görülebilir. En sık belirtileri ateş ve tek taraflı olan skrotal ağrı, şişlik şeklinde ortaya çıkar.Fizik muayenede ateş, skrotal şişlik, hassasiyet, kızarıklık, yaygın lenfadenopati, döküntü saptanabilir.Bruselloz testiste fokal nekroz alanları ve granülomatöz tipte bir inflamasyon oluşturmaktadır.Maligniteveya tüberkülozu taklit edebilir.Hayvanlarla temas öyküsü, pastörize edilmemiş süt ürünü tüketimi, tipik ondülan ateş ve anormal ürolojik bulguların varlığı, standart tüp aglutinasyon testinde ≥1/160 titre saptanması, kan kültüründe brusella üremesi olması ile tanı konulmaktadır. Ayrıca epididimalaspirat, skrotal doku ve sperm kültürlerinde de üreme gösterilmiştir.Epididimoorşit tanısında ultrasonografi de önemli rol oynar. Tedavide standart brusella tedavisi yeterlidir.Testiküler abse gelişen olgularda cerrahi drenaj ve nadiren orşiektomi gerekebilir. Olguların çoğu tedaviyle sekelsiz iyileşirken, çok az sayıda vakada oligospermi ve azospermi devam edebilir. Uzamış infeksiyonlar aspermi, infertilite, testiküler kayıp, nekrotizanorşit gibi geri dönüşü zor hasarlara neden olabilir(2,3,56–58).

Renal tutulum oldukça nadirolmakla birlikteproteinüri, hematüri, , fokal ve diffüz glomerülonefritler, glomerüler tutulum, akut tübüler nekroz, tübülo-interstisyel nefrit, eksudatifglomerulonefrit, sistit, prostatit, pyelonefrit, renal apse ve IgA nefropatisi gibi durumların görülebildiği bildirilmiştir(15,35,41,58).

Brusella cinsi bakteriler hayvan plasentasının koryoamniyotikmembranına yerleşerekdüşüklere sebep olabilmektedir. Plasentada bulunan eritritol bakterinin kullandığı başlıca şekerdir.İnsan plasentasında ise eritritol olmadığı için abortusoranlarının diğer bakteriyel enfeksiyonlarda görülen abortus oranlarından daha sık olmadığı düşünülmekle birlikte,brusella bakterileriinsan plasentası ve koryoamniyotik dokularından ve fetüsten izole edilmiştir. Maternalbrusellozunpreterm doğum, koryoamniyonit, spontanabortusa neden olduğu raporlanmıştır. Kadınlarda nadiren salpenjit, servisit, pelvik apse yapabilir. Ayrıca brusellozun cinsel yolla insandan insana bulaşabildiği bildirilmiştir(18,59).

2.9.8. Hematopoetik sistem tutulumu

Subakutbruselloz olgularında %20-30 oranında hematolojik komplikasyonlar bildirilmektedir. Komplikasyonlar minimal hematolojik değişikliklerdendissemine intravasküler koagulasyona kadar değişen şekillerde seyredebilir. En sık görülen hematolojik değişiklikler anemi, lökopeni, rölatif lenfositoz ve orta derecede trombositopenişeklindedir. Pansitopeni daha az görülmekle birlikte uygun tedavi ile düzelmektedir. En sık ve en ciddi hematolojik anormallikler*B. melitensis'e*bağlı brusellozda görülür(25,41,60–62).

İnfeksiyona sekonder demir metabolizmasındaki değişiklikler, hipersplenizm, kemik iliği süpresyonu ve hemolizbrusellozda gelişen anemi nedenlerindendir. Lökopeni ve rölatif lenfositozetyopatogenezinde; hemofagositoz, hipersplenizm ve granülamatöz lezyonlar rol oynamaktadır(63,64).

Brusellozda görülen trombositopeni genelde izole trombositopeni şeklindedir. Bu hastalarda trombositopeni patogenezi net olmamakla birlikte; hipersplenizm, hemofagositoz, trombosit klirensinin artması, vasküler yüzeylere trombosit adezyonu

ve kemik iliği süpresyonu gibi çeşitli mekanizmalara bağlı olabileceği düşünülmektedir.Peteşi, ekimoz ve kanama gibi bulgular ise çoğunlukla trombositopenin derinliğiyle ilişkilidir. Trombositopeni, steroid tedavisi ve splenektomi gerektirecek derecede ciddi olabilir(60–64).

2.9.9. Deritutulumu

Bruselloz olgularının yaklaşık %2 ila %6'sında spesifik olmayan kutanöz ve mukozal bulgular bildirilmiştir. Bunlar nonspesifik olup; eritem, papül, ürtiker, peteşi, impetigo, ekzematözraş, eritema nodosum, derialtı apseleri ve kutanöz vaskülittir. Cilt bulguları, özellikle hastalığın yüksek ateşle seyrettiğidönemde görülebildiği gibi, enfekte hayvanın vücut çıktı ürünleri ile doğrudan temas sonucu, eller ve ön kollarda kontakdermatit şeklinde de görülebilir. Deri bulguları direkt temas, hipersensitivite, immün kompleksler, hematolojik yayılımve derin trombositopeni sonucu gelişebilir. Belirtiler genellikle hafif seyirli ve geçicidir. Aynı hastada aynı anda birden fazla deri bulgusu görülebilir. Hastalığın tekrar etmesi durumunda deri bulguları da yineleyebilir. Özellikle subakut ve kronik bruselloz olgularında bazen deri döküntüsünün tek bulgu olması ve lezyonların nonspesifik olması nedeni ile tanıda gecikmeye sebep olmaktadır(25,38,41,65,66).

2.9.10. Göz ve kulak tutulumu

Göz enfeksiyonları, brusellozun geç komplikasyonlarındandır. Brusellozla ilişkili en sık göz komplikasyonuüveittir.Diğer göz komplikasyonlarıpapillit, papilla ödemi, optik nörit, konjunktivit, keratit, multifokalkoroidit, episklerit, kronik iridosiklit, endoftalmit, retina dekolmanı, dakriyoadenit şeklindedir.Brusellozlu olgularda görülenüveal hasar, doğrudan invazyon, septik emboli ve nonenfeksiyözimmün komplekslerin oluşumu sonucu gelişmektedir. Optik nörit, görme kaybı, ateş, temporal baş ağrısı ve retrobulber ağrı ile ilişkilidir. Endoftalmit, hematojen yayılım sonucu oluşur hem aköz hem de vitröz sıvıların kültürü pozitif olarak saptanır.Optik nörite bağlı kalıcı görme kaybı nadirdir (25,25,67).

Brusellozvakalarındaişitme kaybı gelişebilir. Özellikle bu tabloyabakterinin endotoksinin neden olduğu, refleks spazmın veya serebral enflamasyonun yol açtığı

düşünülmektedir. Kalıcı işitme kaybı nadirdir ve çoğunlukla tedavi sonrası düzelir. Ayrıca tinnitus ve vertigo da bruselloz seyrinde görülebilir(68).

2.9.11.Nadir tutulumlar

Bruselloz tüm sistemleri tutabildiği için çeşitli klinik tablolar ile karşımıza çıkabilmektedir. Bu nedenle hastalığın endemik olduğu ülkelerde, özellikle ateşin eşlik ettiği her durumda bruselloz akla getirilmelidir. Bruselloz seyrinde troidit, tiroit apsesi, adrenal yetmezlik ve uygunsuz antidiüretik hormon salınımı sendromu, hipofiz apsesi ve buna bağlı hipopitüarizm,akut sol fasyal sinir paralizisi, hidrosel, meme apsesi gibi atipik tutulumlar rapor edilmiştir. Süpüratifparotitisin de izlendiği vakalar bildirilmiştir(69,70).

2.10. Tanı

Brusellozlanısı, anamnez,klinik bulgular,fizik muayene,kültür,spesifik ve nonspesifik laboratuvar testler ve radyolojik testlerin bir arada değerlendirilmesi ile konulmaktadır. Semptomlar spesifik olmadığından ayrıntılı öykü alınmalıdır. Kesin tanı, etkenin izole edilmesine dayanmaktadır. Vücut sıvılarından etkenin izole edilme oranları %40-70'tır. Serolojik testler tanıda sıklıkla kullanılan diğer yöntemlerdir. Tanının temelini oluşturan mikrobiyolojik tanı yöntemleri Tablo 1'te gösterilmiştir(34).

Tablo 1. İnsan Bruselloz Tanısında Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler

Direkt tanı yöntemleri	İndirekt tanı yöntemleri

1. Mikroskopik inceleme 2. Kültür **3.** Moleküler tanı	Serolojik Tanı 1. Aglütinasyon testleri a. Hızlı aglutinasyon testleri b. Yavaş Aglütinasyon testleri i. Tüp Aglütinasyon Testi ii. Redüktan (merkaptan) testler iii. IndirektCoombs' testi iv. ImmuncaptureAgglutination test 2. Birincil Bağlanma testleri a. EnzymeImmunosorbentAssay b. RadioImmunoassay c.IndirektImmün floresan Antikor Testi d.Immunochromatographicassay e. Floresan Polarizasyon Assay f. Kompleman Birleşme testi

2.10.1. Direk tanı yöntemleri

2.10.1.1.Gram boyama

Brusellabakterileriklasik boyama yöntemleri ile kolayca boyanabilmekle birlikte, hücre içi yerleşmeleri veboyutlarının çok küçük olması nedeni ile klinik örneklerde saptanması zordur. Bu nedenle bakterinin gösterilmesi amacıyla direkt mikroskobik inceleme, duyarlılık ve özgüllüğün düşük olması nedeniyleönerilmemektedir(34,71).

2.10.1.2. Kültür

Brusellozun kesin tanısında altın standart, bakterininklinik örneklerden izole edilmesidir.Brusella izolasyonunda kullanılan en uygun örnekler kan ve kemik iliği örnekleridir. Özellikle antibiyotik kullanan hastalarda ve kronik bruselloz düşünülen hastalarda kemik iliği kültürünün daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (25,34).

Kan kültüründe etkenin üretilemediği ve serolojik testlerle tanının konulamadığı durumlarda başta kemik iliği olmak üzere diğer dokukültürlerinin yapılması önerilmektedir.Tutulan bölgeye göre sinovyal sıvı, beyin omurilik sıvısı, apse materyali, plevral mayi, asit mayi ve idrar örneklerindenkültürçalışılabilmektedir. Hastalığın evresine, antibiyotik kullanımına, alınanörneğin türüne ve miktarına, uygulanan kültür yöntemine ve bakterinin alt türüne bağlı olarak izolasyon oranlarıfarklılık göstermektedir(34,35).

Brusella türlerinin izolasyonu için sıvı, katı ve seçici besiyerleri tercih edilmektedir. Sıvı besiyerleri kan, sinovyal sıvı ve beyin omurilik sıvısı gibi örneklerin ekiminde kullanılır.Diğer örneklerin kültüründe ve sıvı besiyerlerindeki üremelerden sonraki pasajlarda katı besiyerleri kullanılmalıdır. Serum DextrozAgar (SDA), Farrell ya da Brodi gibi seçici besiyerleri ise daha çoksteril olmayan vücut bölgelerinden alınankontamine örneklerden bakteri izolasyonuiçin kulanılmaktadır.Florabakterilerini baskılamak ve brusella bakterilerinin üremesine olanak sağlamak amacı ile içlerine basitrasin, polimiksin B, sikloheksimid ve etil viyole gibi maddeler eklenir(72,73).

Kan kültürü, standardize edilmiş olması, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması,kolay alınması ve otomatize sistemlerinin varlığı nedeniyle en çok tercih edilen tanı koyma yöntemidir.Kan kültür sistemleri, manuel ve otomatize sistemler olmak üzere ikiye ayrılır. Manuel kan kültür sistemleri sadece sıvı besiyeri olan monofazikve katı-sıvı besiyerlerini bir arada içeren bifazik kültür yöntemleridir. Monofazik kan kültür yöntemi,daha çok az sayıda örnekle çalışan küçük laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Bifazik kan kültür yöntemi olarak Ruiz-Castenada (RC) tekniği en çok kullanılan yöntemdir.Kan dışında kemik iliği, BOS, sinovyal sıvı, lenf nodu aspirasyonu gibi örnekler de RC bifazikbesiyerine ekilebilir. Çift ekim yapılır ve ekimlerden bir tanesi %5-10 CO2'li ortamda, diğeri ise normal atmosfer koşullarında bekletilir.2-3 günde bir sıvı ortamlardan katı ortamlara pasajlar yapılarak, 37 ºC bekletilip koloni oluşup oluşmadığı gözlenir. Bu aktarmalarda 2-3 hafta beklenilerek tekrar tekrar izlenir(34,72,73).

Kan örneklerinde bakterininizolasyon oranı hastalığın evresine ve kültür yöntemine bağlıdır. Akut brusellozda kan kültürünün duyarlılığı %80-90 arasında iken, kronik olgularda pozitiflik oranı %30-70 arasında değişmektedir.Otomatize kan kültür sistemlerinde (BACTEC ve BactAlert gibi) konvansiyonel kültür yöntemine göre daha yüksek oranda pozitiflik saptanmıştır(74).

Brusella bakterileri fakültatif intrasellüler yerleşim gösterdikleri için kemik iliği kültürünün duyarlılığı kan kültürüne göre dahayüksektir. Dahaönce antibiyotik kullananlarda, hastalığın subakut ve kronik formlarında kandan etkenin izolasyonu oldukça düşük olduğu için,bu hastalarda kemik iliği kültürlerinin yapılması durumunda daha olumlu sonuçların alındığı bildirilmektedir(75).

Karaciğer, dalak, lenf nodugibi doku örnekleri ve apse örnekleri doğrudan agar plaklara ekilebilir. Bu plaklar%5-10 CO2'li ortamda, 35-37 °C'de, en az 10 gün süre ile inkübe edilmelidir. Kan, kemik iliği ve BOS benzeri vücut sıvıları otomatize sistemlerde rutin kan kültürü şişelerine alınarak 1 hafta inkübe edilmelidir. Konvansiyonel RC kan kültürlerinde üremeler genellikle 5-21. günler arasında olmaktadır. İlk 4 gün ve 27. günden sonra üremeler oldukça nadirdir. Bu yüzden bifazik yöntemde inkübasyon süresinin en az 4-6 hafta olması önerilmektedir. Yeni yarı otomatize sistemler ile (BACTEC TM9240, BacT/ALERT TM) süre oldukça

kısalmış ve genellikle ilk 4 gün içinde üreme sağlanmaktadır. Öyleki ilk 7 günde kan kültürlerinde etkenin üreme oranları BACTEC yöntemi ile %95, BacT/ALERT yöntemi ile %100 gibi oldukça yüksek oranlardadır. Bu yüzden otomatize sistemlerde 10-14 günden fazla inkübasyona ihtiyaç duyulmamaktadır(72–74).

2.10.1.3. Moleküler testler

2.10.1.3.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Moleküler yöntemler kolay uygulanabilmesi, hızlı sonuç vermesi ve düşük maliyetli olmasınedeniyle ön plana çıkan testlerdir. Ayrıca yüksek güvenlik önlemleri gerektirmemesi, direkt temas olmaması nedeniyle laboratuvar kaynaklı enfeksiyon riskinin az olması ve taşıma kolaylığı diğer avantajlarıdır(34,73).

Bruselloz tanısını daha güvenilir kılmak amacıyla PZRyöntemlerinden yararlanılmaktadır. İnsan brusellozunun tanısında PZR, kan kültürlerinden daha duyarlı ve serolojik testlerden daha spesifiktir.Tüm materyaller için uygun bir testtir. Ayrıca tanı amaçlı kullanılabileceği gibi; tiplendirmelerde, epidemiyolojik çalışmalarda da kullanılabilmektedir(73,76,77).

Kronik enfeksiyon durumunda veya antibiyotik kullanımı sonrası alınan örneklerde yanlış PZRnegatifliği görülebilmektedir. PZR ile saptanan DNA ölü veya canlı bakteri kaynaklı olabileceğinden, PZR pozitifliği her zaman aktif hastalık kanıtı değildir. Bu yüzden tedavi sonrası yakınması olmayanlarda PZR pozitifliği tedavi verilme endikasyonu oluşturmamaktadır. Ama daha önce hiç tedavi verilmemiş ve aktif şikâyeti olanlarda PZR pozitifliği tedavi endikasyonu açısından güçlü bir göstergedir(77,78).

2.10.1.3.2. RealTime polimeraz zincir reaksiyonu(RT-PZR)

Real-time PZR yöntemi, nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresan sinyalin ölçülmesi ile kantitatif sonuçların alınabildiği bir yöntemdir. Aynı sistemde hem çoğaltmahem de çoğaltılan ürünlerin saptanma işleminin yapılabilmesi hızlısonuç alınmasına ve kontaminasyon riskinin azalmasına neden olmaktadır.Bruselloz ön tanılı olguların kan veya serum örneklerinde RT-PZR yöntemi konvansiyonel PZR'a göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir(34).

2.10.2. İndirek tanı yöntemleri

2.10.2.1. Serolojik testler

Serolojik testler direkt tanı yöntemlerinden daha pratik ve hızlı sonuç vermektedir.Birçok merkezde klinik ile birlikte değerlendirilerek ilk başvurulan yöntemler olup ve kültür sonucu beklenmedentedavinin hızlıca başlanmasını sağlamaktadırlar. Brusella bakterilerinin S-LPS'lerine karşı gelişen antikor aktivitesine yönelik geliştirilen testlerdir. Bu antikorlar iyileşmeden sonra bile uzun süreyüksek titrelerde kalabilmektedir(79).

2.10.2.2. Rosebengal testi (RBT)

RBT,Rose Bengal boyası ile boyanmış, asit tamponlu süspansiyon ile elde edilen *B. abortus*99S suşunun antijen olarak kullanıldığı bir lam aglütinasyon yöntemidir. S-LPS'yespesifik olan IgM, IgG ve IgA antikorlarını tespit eder. SüspansiyonunPh'ı3,65 olduğu için aside dayanıksız serumdaki IgM'lerin aktivitesi engellenir. Bu nedenletespit edilen antikorların büyük çoğunluğu IgGve IgA yapısındadır. Lam üzerine 0,003 ml süspansiyon ve aynı oranda hasta serumu damlatıldıktan sonra 4-5 dakika süre ile karıştırılıp, dairesel hareketlerle çevrildikten sonra aglütinasyon olup olmadığı değerlendirilir(16,72,80–82).

Uygun anemnez ve klinik bulgularla birlikte RBT insan brusellozu tanısında maliyet olarakucuz, kolay uygulanabilir,hızlı ve duyarlı bir tarama testidir. Brusellozgeçirmemiş veya brusella bakterileri ile temas etmeyen hastalarda tanı değeri yüksektir(82).

RBT, akut ve kronik brusella hastalarındaaynı tanı değerine sahiptir. Test süspansiyonu asit tamponda hazırlandığı içinsonuçları prozon fenomeni ve blokan antikorlardan etkilenmemektedir. Testin duyarlılığı %99'un üzerindedir.Fakatbrusellabakterileri ile temas etmiş sağlıklı bireylerde ve antijen olarak S-LPS kullanıldığı için diğer gram negatif bakterilerle çapraz reaksiyon olması durumunda yalancı pozitiflik söz konusu olabilir. Bundan dolayırosebengal

testi ile elde edilen pozitif sonuçların mutlaka diğer testlerle doğrulanmasını önerilmektedir(80,81).

2.10.2.3. Spot test (ST)

Tam kan kullanılarak yapılan lam aglütinasyon testidir. Özellikle kitle taramalarında bir ön test olarak kullanılır. Pozitif sonuçlar tüp aglütinasyon testi ile kontrol edilmelidir(83).

2.10.2.4. Brucellergenderi testi

Geçtip aşırı duyarlılık testleridir. Brusella cinsi bakterilerin saflaştırılması sonrası elde edilen nükleoprotein kompleksi deri içineenjekteedildikten sonra 24 saat içerisinde enjeksiyon yerinde kızarıklık, ödem ve endurasyonmeydana gelmesi durumunda kişinin brusella bakterilerine karşı aşırı duyarlı olduğu anlamına gelir ve test pozitif kabul edilir. Tarama testi veya tamamlayıcı test olarak yararlı olmaktadır (30).

2.10.2.5. Standart tüp aglütinasyon testi

Serolojiktestler arasında birçok merkez referans test olarak Standart tüp aglütinasyon (STA) testini kullanmaktadır. Antijen olarak *B. abortus* S99 veya *B. abortus*1119'un S kökenlerinden elde edilmiş ve ısıyla pasifize edilmiş fenollü süspansiyonları kullanılmaktadır. Test, bu antijeninhasta serumunun ardışık dilüsyonları ile karşılaştırılması temeline dayanır.Bu yöntemde özellikle bakterinin yüzeyindeki S-LPS ile reaksiyona giren IgM, IgG ve IgA antikorları saptanır. SAT'taasidik bir ortam olmadığı için IgM tipi antikorlar daha fazla rol oynar ve bu durum daha fazla çapraz reaksiyon oluşmasına neden olmaktadır.Bu durum özgüllükte azalmaya neden olurken duyarlılığın oldukça yüksek olmasını sağlamaktadır(16,72,79).

Brusellanınendemik olmadığı bölgelerde 1:80, endemik olduğu bölgelerde 1:160 ve üzeri titreler anlamlı kabul edilmektedir. Bununla birlikte en az iki hafta ara ile alınan iki örnekte titrenin 4 kat ve daha fazla artması kesin tanı koydurmaktadır.Bazıhastalardauzun süre nedeni bilinmeyen IgM tipiantikor yüksekliği izlenmekte ve bu durum bu hastalarda gelişebilecek yeni enfeksiyonlarda serolojik testlerintanı başarısını etkilemektedir. Bu olgularda tanı amacıyla IgM

antikorların etkinliğini ortadan kaldırmak için modifiye edilmiş birçok aglütinasyon testi kullanılmaktadır(14,79).

Blokan antikor varlığı çoklukla kronik enfeksiyonlarda saptanmaktadır.Bu durumda CoombsTesti (CT) veya BrusellaCapture testi kullanılmaktadır. Prozon fenomeni ise hastanın serum örneğinde yüksek antikor nedeniyle aglütinasyonun maskelenmesidir. Örnek dilüe edilerek düşük dilüsyonlarda pozitiflik saptanabilmektedir. STA'da yalancı negatiflik,komplike ve kronik enfeksiyonlar başta olmak üzere enfeksiyonunerken dönemi, agamaglobülinemi, blokan antikor varlığı, *B. canis* enfeksiyonu ve prozon fenomeni gibi durumlarda izlenir. Yalancı pozitiflik,*Vibriocholerae*, *Yersiniaenterocolitica,Francisellatularensis* ve *Afipiaclevelandensis*gibi etkenlere bağlı enfeksiyonlarda çapraz reaksiyon nedeni ile izlenir(79,84).

2.10.2.6. Diamino 6, 9 etoxyacridin (rivanol) veya 2-merkaptoetanol'lü aglütinasyon testi

Standart tüp aglütinasyon testinde total antikor düzeyi tespit edildiği için bazı hastalarda nedeni bilinmeyen uzun süreli IgM antikor yüksekliği tanıda zorluklara neden olmaktadır. Nedeni açıklanamayan IgM antikor yüksekliği nedeniyle STA'daki bu tanısal sorunlara karşı aglütinasyon testleri geliştirilmiştir. Bu testin amacı IgM antikorlarının etkisini minimalize ederek IgG bazlı tanı koydurmaktır. Merkaptan/redüktan (2-ME ve dithiothreitol) ya da rivanolkullanılarak IgM antikorunun disülfit bağları yıkıma uğratılmakta ve aglütinasyon özelliği ortadan kaldırılmaktadır. Bu şekilde aglütinasyonun direkt olarak IgA ve IgG kaynaklı olması sağlanmaktadır. Bu test akut enfeksiyon tanısı, evrelerin saptanması ve prognoz takibinde kullanılmaktadır(14,79).

2.10.2.7. Coombstesti (CT)

Blokanantikorları tespit etmek için kullanılan bir testtir. Bu test klinik olarak bruselloz düşünülen birçok hastada negatif ya da düşük STA titresi varlığında oldukça yardımcı olmaktadır. Kronikenfeksiyonlarda blokan antikor daha sık olduğundan özellikle kronik enfeksiyonlarda standart test yerine CT önerilmektedir. CT titresinin 1:320 ve üzeri olması anlamlı kabul edilmektedir. CT kronik

enfeksiyonlar ve relapslarda önemli bir yere sahiptir. Titrede artış saptanması reaktivasyonlehine değerlendirilir(14,84).

2.10.2.8. Kompleman fiksasyon testi

Kompleman fiksasyon testi sensitivitesive spesifitesi yüksekbruselloz tanısında kullanılan bir doğrulama testidir. Teknik olarak zor ve oldukça pahalı bir testtir(84).

2.10.2.9. Floresanspolarizasyon deneyi (FPD)

Test florokrom ile işaretlenmiş çözelti içindeki çözünür antijenle antikoru ile kompleksoluşturmuş antijen molekülü arasında rotasyonel farklılıklara dayanmaktadır. Depolarizasyondaki değişim hızı ölçülebilmektedir. FPD reaksiyona girmeyen reaktiflerin uzaklaştırmasını gerektirmeyen, hızlı, taşınabilir ekipmanla yapılabilen laboratuvar ve sahada uygulanabilirhomojen bir testtir. Sığır, domuz, koyun, keçi ve bizon gibi hayvanların brusellozunun serolojik tanısında uygun olduğu kabul edilmektedir(73).

2.10.2.10. Enzymelinkedımmunosorbentassay

ELISA ile sitoplazmik IgM, IgG ve IgA 4-6 saat gibi kısa bir sürede saptanabilmektedir.Özelliklekronik enfeksiyonlarda ELISASTA'dan daha duyarlı bir test olup kullanılabilecek bir alternatiftir. Ancak akut enfeksiyonlarda STA'dan bir üstünlüğü olmayıp daha maliyetli olduğu için önerilmemektedir. Blokan antikor varlığı ELISA'yı etkilememektedir. Bu durum ELISA'yı STA ve 2-ME aglütinasyona göre kronik enfeksiyonların tanısında daha duyarlı bir yöntem yapmaktadır. Serumunda romatoid faktör (RF) bulunan hastalarda ELISA yalancı pozitifliği görülebilmektedir. Yalancı pozitif sonuçların önlenmesi amacıyla brusella IgM antikor testlerinde rutin olarak RF optimizasyonu yapılmalıdır (34,73).

OPS yapıya bağlı çapraz reaksiyonlar, S-LPS antijeninin kullanıldığı ELISA yönteminde de görülmektedir. Son yıllarda diğer bakteriler ile çapraz reaksiyonların azaltılması amacıyla kompetitif ELISA yöntemi geliştirilmiştir.Kompetitif ELISA testinin özgüllüğü %99,7duyarlılığı ise %98,3 olarak gösterilmiştir. Brusella hastalığının tanısında kullanıma uygunolduğu vedoğrulama testi olarak kullanılabileceği bildirilmektedir(34).

2.10.2.11. Brusellad ipstick testi

Bu yöntem,brusellaya özgü IgM antikorları saptayan hızlı bir testtir.Kolorimetrikbir yöntem olup, hızlı sonuç verir, uygulaması kolay ve ileri eğitimli personel gerektirmez.Hastalık öyküsü kısa olan akut bruselloz olgularının tanısında kullanılabilir. Hastalık öyküsü uzun olan olgularda özgül IgM yanıtı azalacağı için, dipstick testi negatif sonuç verebilir. Uygun laboratuvar şartlarının olmadığı yerlerde ve kırsal bölgelerde hızlı tanı testi olarak kullanılabilir(85).

2.10.2.12. Brusellacapturetesti

Test anti-humanimmünglobülin ile kaplı mikropleytlerde çalışılan bir Coombs'lubrusellaimmunocaptureaglütinasyon testidir. Tanısal titre değeri olarak 1:320 ve üzeri değerler kabul edilmektedir. Brusellaya karşı oluşan her üç antikoru ve blokan antikorları da tespit ettiği için STA ve CT yöntemine göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (73).

2.10.2.13. Diğer laboratuvar testler

Rutin laboratuvar incelemelerinde; sıklıkla anemi, lökopeni, lenfo-monositoz, trombositopeni, pansitopeni, hemolitik anemi, yaygın intravasküler koagülasyon şeklinde hematolojik bozukluklar gözlenmektedir. Eritrosit sedimantasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) genellikle orta derecede artmakla birlikte değişkendir. Karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik saptanabilir. İdrar incelemesi genellikle normaldir ancak ateşli dönemde idrarda albüminüri, ürobilinojen artışı saptanabilir(16,25,35).

2.11. Ayırıcı Tanı

Tularemi, kedi tırmığı hastalığı, histoplazmoz, koksidiomikoz, tüberküloz, atipik mikobakteri, riketsiya ve yersinya enfeksiyonları, hematoloikmalignensiler ve romatizmal hastalıklar brusellozun ayırıcı tanısında düşünülmelidir (40).

2.12. Tedavi

Bruselloz tedavisinde kullanılacak antimikrobiyal tedavinin makrofajlara penetre olması ve hücre içi asit ortamda etkinliğini devam ettirmesigerekir.Tedavideki diğer önemli noktalar ise monoterapide relaps oranı

yüksek olduğundankombine tedavinin seçilmesi ve tedavinin yeterlisüredeverilmesidir(86).

Bruselloz tedavisi için önerilen farklı tedavi rejimleri bulunmaktadır. Özellikle nüks, kronik bruselloz vekomplikasyonların geliştiğibruselloz olgularında tedavi süresi ve tedavi rejiminin ne olacağı konusu tartışmalıdır(15).

Brusella türlerine invivo etkili antibiyotikler; tetrasiklinler, aminoglikozidler, rifampisin,ko-trimoksazolve florokinolonlardır. Bunun yanında penisilinler, kloramfenikol, eritromisin, I. ve II. kuşak sefalosporinler in vitro etkili olmalarına rağmen in vivo etkisiz oldukları için kullanılması önerilmez(16,86).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1986 yılında bruselloz tedavisinde standart rejim olarak; doksisiklin 2x100 mg + rifampisin 600-900 mg/gün 4-6 hafta süreyle (veya doksisiklin 2x100 mg/gün 4-6 hafta + 2-3 hafta süreyle streptomisin 1 g/gün) kullanılmasını önermiştir(16,35,86).

2.12.1.Doksisiklin-Streptomisin/ Doksisiklin-Rifampisin

Doksisiklin-rifampisinkombinasyonu ile doksisiklin-streptomisin kombinasyonunun karşılaştırıldığı çalışmalarda doksisiklin-rifampisin kombinasyonu ile nüks oranları daha yüksek olduğundan tedavi başarısızlığı daha yüksek bulunmuştur. Rifampisine bağlı doksisiklinin serum düzeylerinin düşmesi doksisiklin-rifampisin kombinasyonu için dezavantaj oluşturmaktadır. Buna rağmenönplanda doksisiklin-rifampisin kombinasyonunun tercih edildiği görülmektedir.Tercih edilmesinin başlıca nedenleri; ucuzluk, oral kullanım şansı ve birçok ülkede ilaca ulaşılabilirliğin daha kolay olmasıdır(25).

Doksisiklin-streptomisin rejiminin üstünlüğü farmakokinetik verilerle de desteklenmektedir. Özellikle komplikasyonlu veya ciddi seyirli bruselloz vakalarında, doksisiklin-streptomisin kombinasyonunun öncelikle tercih edilmesi önerilmektedir. Aminoglikozid içeren kombinasyonların ototoksisite ve nefrotoksisite yönünden yakın takip edilmesi gerekir.Doksisiklin-streptomisinkombinasyonunu doksisiklin-rifampisin-aminoglikozid üçlü

kombinasyonu ile kıyaslayan az sayıdaki çalışmada, üç ilaç kombinasyonuyla tedavi başarısızlığı ve relaps oranı daha düşük bulunmuştur(25,86).

2.12.2.Doksisiklin-Gentamisin

Bu kombinasyonun etkinliğini değerlendiren çalışmalarda gentamisin genellikle kısa süreli kullanılmıştır. Doksisiklinin 45 gün, gentamisinin 7 gün kombine kullanıldığı randomize çalışmada; bu kombinasyon standart tedavi önerisi olan doksisiklin 45 gün + streptomisin 14 gün tedavisine eşdeğer bulunmuştur.Ayrıca aminoglikozid kaynaklı nefrotoksik etkiler tedavi süresi kısaltılarak azaltılması hedeflenmiştir. Üçlü kombinasyonlarda (rifampisin ve doksisiklin ve gentamisin)relaps oranları daha düşük görülmektedir(86).

2.12.3. Kinolon içeren kombinasyonlar

Özellikle ofloksasin ve siprofloksasinin gibi kinolon grubu antibiyotiklerin in vitro etkinliğinin iyi olduğu gösterilmiştir. Fagositik hücrelerde yüksek konsantrasyona ulaşabildiklerinden bruselloz tedavisinde ideal antibiyotiklerdir.Bruselloz tedavisindeki ilk tercih edilen tedavi kombinasyonlarına bağlı toksik etkilerin görüldüğü veya cevap alınamadığı/relaps görüldüğü durumlarda kombinasyona dahil edilebilir ya da komplike bruselloz vakalarında, mevcut tedavi rejimine üçüncü bir ajan olarak kinoloneklenebilir. Yan etki sıklığı daha az olmakla birlikte yüksek tedavi maliyetinedeniylekinolonlar kısa süreli tedavilerde tercih edilmelidir(16,86).

2.12.4. Trimetoprim/Sulfametoksazol-Rifampisin

Trimetoprim/Sulfametoksazol (TMP/SMZ)zayıf etkinliği ve yüksek relaps oranları nedeni ile bruselloz tedavisinde ilk tercih olarak önerilmemektedir.TMP/SMZ, 8 yaş altı çocuklarda ve gebe bruselloz olgularında kombine tedavide tercih edilmektedir. Ayrıca brusellozdavisinde, üçlü kombinasyon şeklinde başarıyla kullanılmıştır(16,25).

TMP/SMZ kullanımı ile birlikte, *B.melitensis* suşlarında %62'ye varan direnç oranları bildirilmiştir. TMP/SMZ içeren ilaç kombinasyonları ile çalışılacağı zaman, bu dirençolasılığının dikkatle izlenmesi yararlı olacaktır(86).

2.12.5. Seftriakson

Seftriaksonunbrusella türleri üzerine in vitro etkinliği oldukça farklılık gösterdiği için, tetrasiklinin kontrendike olduğu ya da ko-trimaksazol tedavisinin yetersiz kalacağı durumlarda kullanımı önerilmektedir. Ayrıca nörobruselloz vakalarında BOS'ageçişi iyi olduğundan üçlü kombinasyonlarda tercih edilmektedir(16).

2.12.6. Diğer Antimikrobiyal Ajanlar

Oksitetrasiklin: Bruselloz tedavisinde doksisiklinin eşdeğer alternatifi olup, günlük doz sayısı fazla olduğundan hasta uyumsuzluğu nedeni ile geri planda kalmıştır(86).

Minosiklin: Minosiklinin tek başına veya rifampisinle kombine kullanıldığı ve nüks oranlarının az olduğunu bildiren çalışmalar bulunmakla birlikte diğer tedavi kombinasyonları ile karşılaştırılma yapılmadığı içintedavide tercih edilmemektedir. Ayrıca toksik etkileri nedeniyle hasta uyumu yeterli bulunmamıştır(86).

Tigesiklin: Tigesiklin, paranteral yolla uygulanan pahalı bir ilaçtır.Bruselloz tedavisinde tercih edilmesi için, öncelikle klinik etkinlik vetedavi süresi anlamında diğer klasik tedavi rejimlerle karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.Brusellozun intravenöz tedavi gerektiren ağırseyirli formlarında tigesiklininetkinliğininaraştırılması faydalı olabilir(86).

2.12.7. Özel durumlarda bruselloz tedavisi

2.12.7.1. Spondilit tedavisi

Brusellozdaspondilit tedavilerine genel olarak bakıldığında, çeşitli tedavi kombinasyonları denenmektedir. Streptomisin-doksisiklin-rifampisin kombinasyonu ile kalıcı iyileşme oranı yüksektir.Spondilitte tedavi rejimi ile birlikte tedavi başarısını etkileyen diğer önemli faktör tedavi süresidir. Tedavi süresi, 6-12 hafta arasında değişmekle birlikte, 3 aydan kısa olmaması genel olarak kabul görmektedir.Spinal instabilite, cauda-equina sendromu, paraspinal apse, bası nedeni ile oluşan ağır kas güçsüzlüğü veya vertebra cisminde kollaps gibi komplikasyonların eşlik etmesi durumunda cerrahi müdahale gerekir(12,25,86).

2.12.7.2. Nörobruselloz tedavisi

Tedavide kullanılacakajanlarınBOS'a iyi geçmesi ve bakterisidaletkisinin olması gerekir. Kullanılan kombinasyonlar hakkında net bir görüş birliği olmasa da doksisiklinle birlikte, rifampisin, seftriakson, streptomisin, gentamisin, siprofloksasin, ko-trimaksazol ikili veya üçlü kombinasyonları önerilmektedir. Tedavi süresinin belirlenememiş olması nedeniyle, tedavi süresinin hastaya göre kişiselleştirilmesive en az 3-9 ay tedavinin sürdürülmesi önerilir.Steroidlerin nörobruselloztedavisindeki yeri kesin olarak gösterilmemekle birlikte beyin ödemini varlığında ödemi azaltmak amacı ile klinik pratikte kullanılmaktadır(25,41,86).

2.12.7.3. Endokardit tedavisi

Brusellozun nadir görülen fakat mortalitesi yüksek komplikasyonudur.Vakaların çoğunda medikal tedavi tek başına yeterli olmayıp, cerrahi girişim gerekmektedir.Endokarditin tedavisi süresi konusunda görüş birliği olmamasına karşın 8 hafta boyunca doksisiklin + aminoglikozit + rifampin/kotrimoksazol verilebilir. Cerrahi uygulanan olgularda tedavinin cerrahi sonrası birkaç hafta daha devam edilmesi önerilmektedir (41,86).

2.12.7.4. Gebelerde tedavi

Bruselloz, gebeliğin herhangi bir evresinde fetusun kaybı ile sonuçlanabilir.Bu nedenle, annenin enfeksiyonu ister hafif seyirli ister şiddetli olsun tedavi gerektirir.Gebelerdetetrasiklinve aminoglikozidlerin kullanımı önerilmemektedir. Tedavide rifampisin/ko-trimaksazol veya rifampisin/seftriakson, ikili kombinasyonlarıönerilmektedir(41,86).

2.12.7.5. Çocuklarda tedavi

8 yaş ve altındaki çocuklardatetrasiklinlerinve kinolonlarınkullanılması önerilmez.Ko-trimaksazol/rifampisin/gentamisin kombinasyonları önerilmektedir. 8 yaşın üzerindeki çocuklardatetrasiklin içeren tedavi rejimleri verilebilir(41,86).

2.12.8. Temas sonrası profilaksi

Canlıbrusellabakterisi ile temas edilmesi durumunda kolaylıkla bulaşabildiğinden temas sonrası profilaksi verilmesi gündeme gelmiştir.Temas

sonrası profilaksi ile klinik hastalığın ortaya çıkma riski azalmaktadır.Laboratuvar çalışanlarınınaerosol üretme potansiyeli olan işlemler sırasında riskli bir temas durumundateması takiben en kısa süre içinde; doksisiklin 2x100 mg/gün + rifampisin 600 mg/gün kombine tedavisinin başlanması ve en az 3 hafta verilmesi önerilir. Gebe olanlar için öneri, TMP/SMZ 2x160/800 mg/gün şeklindedir(86).

Hayvanlar için geliştirilen canlı brusella aşıları veterinerlerde mesleki kaza sonucu enfeksiyona neden olabilmektedir. Yaralanma sonrası bruselloz bulaşma riski nedeniyle seçilecek profilaksi rejimi 3 haftalık doksisiklin olmalıdır.Brusella aşısının göze sıçraması daenfeksiyonun bulaşması açısından risk taşımakta ve bu durumda da lokal bakım ile birlikte en az 6 haftalık doksisiklin profilaksi verilmelidir. *B. abortus* RB51 suşunun RIF'e dirençli olduğu unutulmamalıdır. Bu suşu içeren brusella aşısı ile temas durumunda profilaksi amacıyla doksisiklin + TMP/SMZ kombinasyonu kullanılmalıdır.Temaslıların mümkün ise haftalık semptom takibi yapılmalı ve temas sonrası hastaya kendi kendine günlük ateş takibi yapması önerilmelidir (41).

2.12.9. Tedavi başarısızlığı

Akut bruselloz olgularında tedavinin üçüncü haftasında semptomların gerilememesi ve kan kültürüpozitifliğinin devam etmesi, kronik ve subakutolgularda ise tedavi sonrası semptomların artması, CRPve ESHdüzeyinde artış ile IgG tipindeki antikor titrelerinde yükseklik olması tedavi başarısızlığını olarak kabul edilir. Relapsta olduğu gibi tedavi başarısızlığında da asıl sebep direnç olmayıp uygun olmayan tedavinin seçilmesi, tedavi süresinin yetersizliği ve hasta uyumsuzluğudur(16).

2.13. Korunma

Brusellozun kontrolü için en etkili primer yaklaşım evcil hayvanlarda hastalığın kontrolü ve eliminasyonun sağlanmasıdır. İnsan brusellozunun önlenmesi için onaylanmış, etkili ve güvenilir bir aşı mevcut değildir. Bu nedenle aşılama, hayvanlara yönelik yapılmaktadır.Hastalığın eradikasyonunu sağlamak amacıyla her yıl yenidoğan buzağı, kuzu ve oğlaklar aşılanarak bruselloz yönünden bağışık bir hayvan topluluğu elde edilmelidir(87).

Hayvanlara yönelik aşı programı kapsamında4-8 aylık dişi danalara uygulanan*B.abortus*S19 aşısı, 8 aylıktan büyük dişi sığırlarauygulanan *B. abortus* S19 ergin aşısı, koyun ve keçilere uygulanan canlı aşı *B.melitensis*REV1 aşısı veinaktif aşı *B.melitensis* H38 aşısımevcuttur(87).

Brusellozun insanlarabulaşmasının önüne geçmek için, süt ve süt ürünlerinin pastörize edilerek tüketilmesi önerilmelidir. Çiğ sütlerin yeterli süre kaynatıldıktan sonra ve etlerin iyi pişirilerek tüketilmesi bulaşı önlemede önemlidir. Özellikle kırsal kesimdeki halka, çiğ sütten peynir ve yağ yapımınınriskleri anlatılmalıve hayvan aşılaması açısından eğitilmelidir(16,87,88).

Bruselloz bulaşı açısından risk altında olan kasaplar, veterinerler,hayvancılık yapanlar ve et paketleyicilerininhayvan atıkları ile temas etmemeleri ve eldiven giymeleri konusunda eğitilmelidir. Laboratuvar kaynaklı bulaşı önlemek adınaişlem sırasında genel koruyucu ekipmankullanılmalıdır(87,88).

2.14.BrusellaTanısında Yeni EnflamatuarBiyobelirteçler

2.14.1. Decoyreseptör-3(DcR3)

Decoy reseptör- 3 (DcR3) ilk olarak 1988’ de tümör nekrozfaktorü reseptör ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmıştır.Bu protein aynı zamanda tümör nekroz faktörü reseptör süper ailesi membranı 6B (TNFRSF6B), TR6 veya M68 olarak da bilinir.Bir bağlayıcı alanı olan ancak bir transmembran yerleşimi olmayan yalnızca salgılanan, bir tuzak reseptörüdür. DcR3 proteini 20. kromozom üzerindeki Tnfrsf6b geni tarafından kodlanır ve 300 amino asit içeren moleküler ağırlığı yaklaşık 35 kDa olan bir proteindir(89–91).

TNF ailesinin bazı üyelerindenolan, LIGHT(TNFSF14), TNF benzeri molekül (TL1A/TNFSF15) ve FAS ligandına bağlanarak bu moleküllerin biyolojik aktivitelerini inhibe eder. Etkilerini inhibe ettiği bu moleküller, immün hücrelerin apoptoz ve inflamasyon yanıtında rol oynadığından, DcR3 hem antiapopitotikhem de proinflamatuar özelliklere sahiptir(90,91).

DcR3 ekspresyonu fizyolojik durumda neredeyse hiç saptanmaz. Bu nedenle, çalışmaların çoğu patolojik koşullarda lokal ya da sistemik DcR3 ekspresyonuna yöneliktir.DcR3 granüloza hücrelerinde, endometriyal hücrelerde ve teka hücrelerinde saptanabilmektedir. DcR3 ayrıca farklılaşmamış primer keratinositlerde de saptanabilir ve ayrıca UVışığı,EGF ve TGF-α tarafından düzenlenir(89).

DcR3' ün, çeşitli kanser hücrelerinde ve birçokenflamatuar dokuda düzeyleri artar.Enflamatuar hastalık ilerlemesini ve kanser metastazını tahmin etmede potansiyel bir biyobelirteç olarak kabul edilir.Enflamatuarsüreçte artan DcR3 düzeyleriinflamasyonunbaskılanmasında rol alır. Kanser patogenezinde DcR3 sevilerinde artış tümör hücrelerinin büyümesini sağlar, invazyonunu kolaylaştırır veapoptozunuengeller.Bu nedenle, DcR3 ekspresyonunuartırmakinflamatuar hastalıkların tedavisi için uygun olabilir ve doku onarımını hızlandırabilir. DcR3 ekspresyonunun engellemek tümör apoptozunu artırabilir ve invivo olarak tümör büyümesini baskılayabilir(89).

DcR3 çeşitli kanserlerde tümör hücreleri tarafından eksprese edilir.LIGHTve Fas ligandını (FasL) rekabetçi bir şekilde bağlar etkilerini nötralize eder ve apoptozun inhibisyonuna yol açar. Tümör hücrelerinin konakçı immün sisteminden kaçarak hayatta kalmasına, çoğalmasına ve metastaz yapmasına olanak sağlar.Ayrıca DcR3 makrofajların (özellikle tümörle ilişkili makrofajların)immünosupresif özellik gösterenM2 fenotipindeki makrofajlara farklılaşmasını sağlayanimmünomodülatör etkileriyle karsinojenezidestekler. Bu değişiklikler, tümörün hayatta kalmasını ve büyümesini destekleyen bir mikro ortam oluşturur(91,92).

Özofaguskanseri, mide kanseri, kolorektal kanser, hepatoselüler kanser gibi gastrointestinal sistem malignitelerinin fizyopatolojisinde artan DcR3 seviyelerinin rol aldığını gösteren çalışmalar mevcut.Hem lokal tümör yayılımı hem de uzak metastaz anlamında DcR3'ün yüksek ekspresyonunu ileri neoplazi ile ilişkilendirilmektedir. AyrıcaDcR3 tanısal, öngörücü ve prognostik belirteç olarak önemini korumaktadır(92,93).

İnflamatuar hastalıklarda ve otoimmün hastalıklarda, DcR3 monosit, makrofaj gibi hücrelerinin farklılaşmasını ve olgunlaşmasını modüle eder ve

Tollbenzeri reseptör ligandları tarafından B hücrelerinin aktivasyonunu negatif olarak düzenler. TL1A/DcR3 (DR3/TNFRSF25) ekseni, çeşitli otoimmün romatizmal hastalıkların patogenezinde yer alan yeni bir yoldur. Osteoartrit hastalarının romatoid artrit hastaları ile karşılaştırıldığı bir çalışmada romatoid artrithastalarının sinovyal sıvıları ve serumlarındaki DcR3 konsantrasyonu osteoartrit hastalarınınkinden önemli ölçüde yüksek olarak ölçülmüştür(94).

DcR3 ayrıca hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), interlökin-8 (IL-8) gibi moleküllerin endotelyal hücrelerden salınımını arttırır. DcR3 ün kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkili olan bu molekülleri artırarak inflamasyon ve aterosklerozun ilerlemesinde rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur(90).

Akut ve kronik inflamasyona ek olarak, çeşitli enfeksiyon hastalıklarında da DcR3 seviyesinde yükselme gözlenmektedir. Son zamanlarda, DcR3 sepsis için yeni bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir ve serum seviyesi prokalsitoninile koreledir. Sepsis hastalarında DcR3 serumdüzeyleri yüksek olarak ölçülmektedirve sepsis sonucunu öngörmede değerli bir belirteç olarak kabul edilmektedir(95).

HIV-1 ile enfekte olmuş hücreler, DcR3'ü aktive ederek hayatta kalma avantajı elde edebilmektedirler. HIV-1 hastalığının ilerlemesinde bir biyobelirteç olarak serolojik DcR3 düzeylerinin yararlılığını değerlendirmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır(96).

DcR3 seviyeleri, kronik karaciğer hastalığı sırasında yükselir ve karaciğer hasarının şiddeti ile ilişkilidir. DcR3, karaciğer fibrozu şiddeti ve son dönem karaciğer hastalığına ilerleme için bir belirteç görevi görebilir. Bu konuda ileri ve daha kapsamlı çalışmalar devam etmektedir(97).

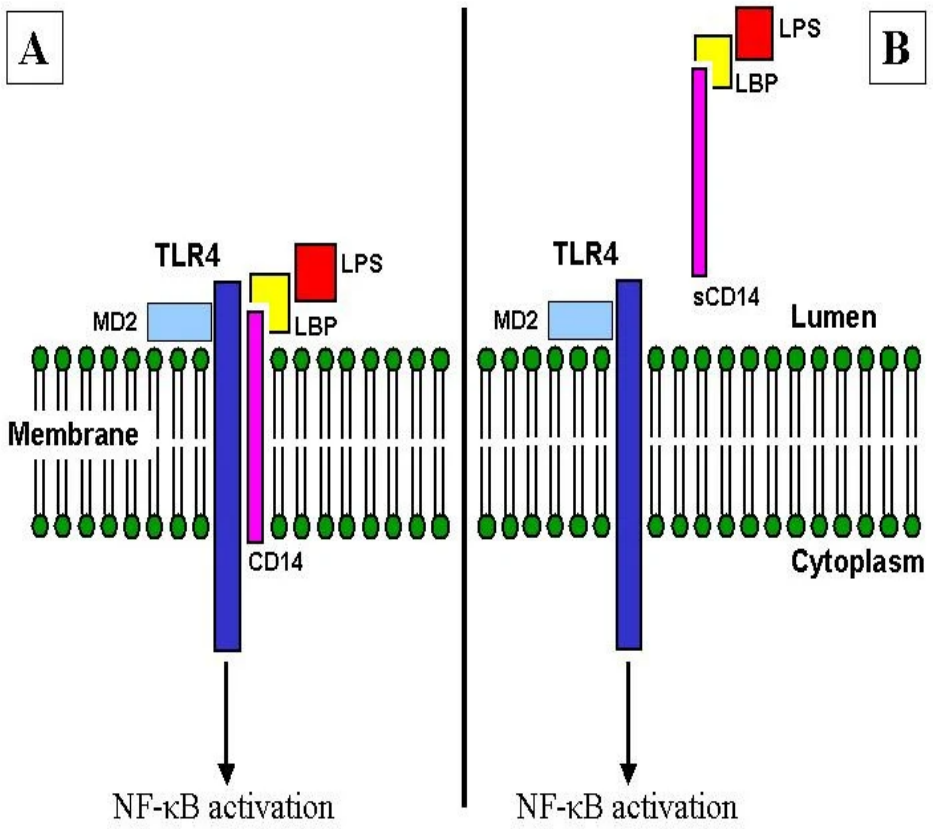
2.14.2. Lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP)

Lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LPB), 20. kromozom üzerinde bulunan LBP geni tarafından kodlanır. Başlıca karaciğerde, daha az oranda barsak ve yağ dokuda sentezlenen, bakterilere karşı verilen doğal immün yanıtın temel

elemanlarından biridir. LBP 50 kDa ağırlığında bir polipeptit olup posttranslasyondansonra kan dolaşımına 60-65 kDa ağırlığında bir glikoprotein olarak salınır. LBP, inflamasyon durumunda 15-30 dk içinde salgılanmaya başlar ve 24-48 saatte pik değerine ulaşır(98).

Gen ve yapı benzerliğinden dolayı LBP, bakterisidal geçirgenliği arttırıcı protein (BPI), kolesteril ester transfer proteini (CETP) ve fosfolipid transfer proteinini de içeren lipid transfer/LPS bağlayıcı protein ailesi içinde sınıflandırılır(98). LBP, lipopolisakkarit (LPS) ve diğer bakteri yüzeyindeki bileşenlerekarşı afinitesi yüksekbir akut fazproteinidir.Bilinen en temel görevi bakteriyel enfeksiyonu algılamak ve LPS'yi zara bağlı CD14'e aktararak sinyali savunma hücrelerinin zar yüzeyine iletmektir. Ayrıca LBP, bağışıklık hücrelerinin biyolojik aktivitesini modüle ederek diğer bakteriyel bileşiklerle de etkileşime girebilir(98,99).

LBP'nin yapısı, LPS'nin monosit/makrofaj ve granülositlerin yüzeyine bağlanması ve transferinde rol oynayan bir LPS bağlanma alanını içerir. LBP, LPS'nin Lipid A kısmına bağlanarak oluşan LBP-LPS kompleksi hem membrandaki CD14 (mCD14) hem dedolaşıma geçerek dolaşımda bulunan soluble CD14 (sCD14) ve Toll- like reseptör 4/MD2-kompleksine bağlanırmonosit ve makrofajları uyarır. Daha sonra inflamatuaryanıttan sorumlu tümör nekroz faktörü (TNF)-α, interlökin (IL)-1β, IL-8, IL-12, trombosit aktive edici faktör, tamamlayıcı doku faktörü ve diğer proinflamatuar mediatörlerin üretimini uyarır ve inflamatuar süreci başlatır.LBP düşük konsantrasyonlarda bu etkilere sahipken, yüksek konsantrasyonlarda antienflamatuvar etki gösterir. Bu etki, LBP'ninLPS'yi LDL ve HDL gibi serum lipoproteinlerine aktarabildiği ve LPS'nin dolaşımdan temizlenmesiyle açıklanmaktadır(98–101).



Şekil 2. LBP' ninCD4 ve TLR4 İlişkisi (A), LBP 'nin sCD14 ve TLR4 İlişkisi (B)(101).

LBP'nin etkileri LPS'yi bağlama ve sunma ile sınırlı değildir. S. pneumoniae ve S. Aureus gibi gram pozitif bakteri enfeksiyonlarında toll-likereseptör 2 (TLR-2) aktivasyonu yolu ile yine proinflamatuar süreci başlatır. Gram pozitif ve mantar enfeksiyonu olan hastalarda artan LBP serum düzeylerinin, gram negatif enfeksiyonlu hastalarla aynı yüksekliğe sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcut. Ayrıca diğer akut faz proteinleri gibi LBPde *Salmonella spp* ve *K. pneumoniae*'ye bağlanarak ve fagositozlarını kolaylaştırarak opsonin görevi görebilir(98,99,101).

LBP sağlıklı bireylerinin serumunda 5 ila 10µg/ml fizyolojik konsantrasyonda bulunurken sepsis sırasında, 24 saat içinde yedi kata kadar daha yüksek seviyeler gözlenmiştir. Sepsis nedeni ile takipli olan hastalarda yapılan birçok çalışmada gram pozitif, gram negatif ve fungal sepsiste benzer değerlerde ölçülmüş olup etkene

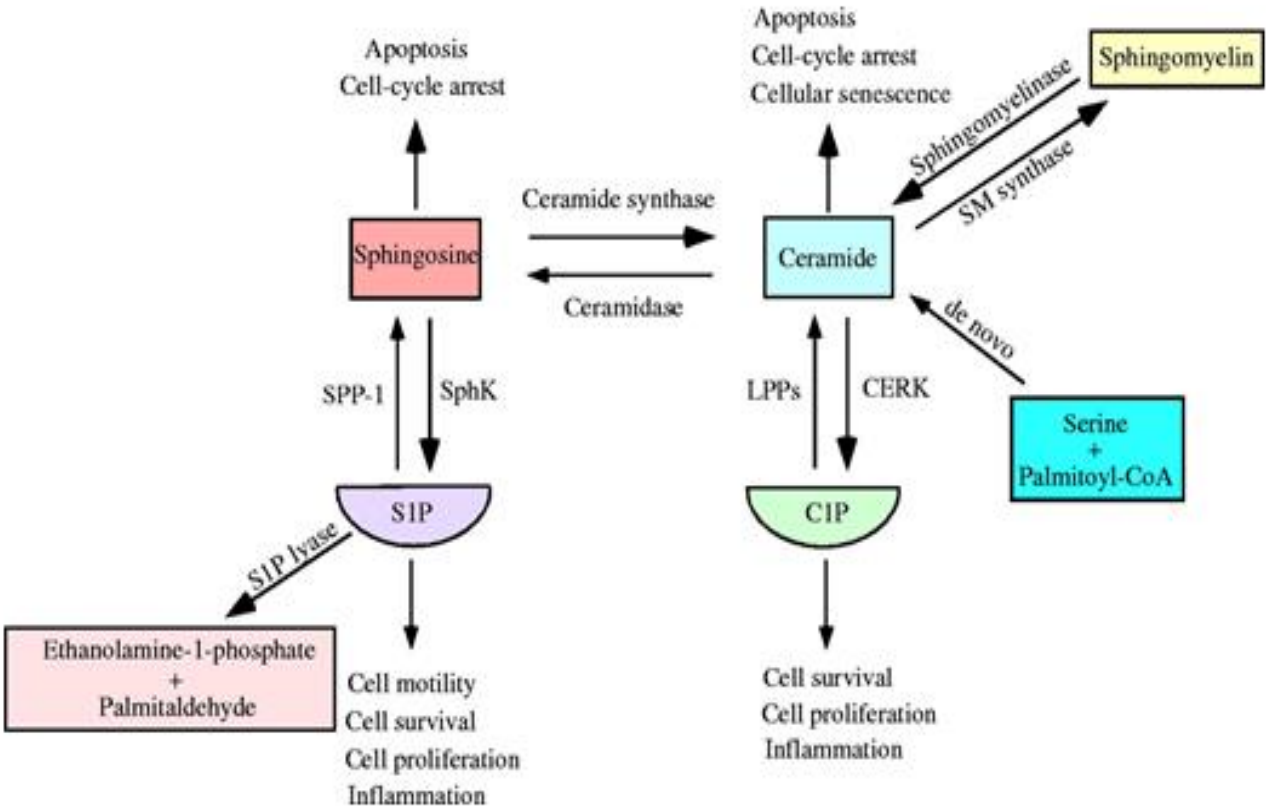
özgüolmamasıve kan düzeylerinin hasta ciddiyeti ile korele olmamasınedeni ile LBP sepsis için spesifik olmayan bir belirteç olarak kabul edilmektedir(101,102). Bununla birlikte48 saatin altındaki kritik hastalığı olan yenidoğanlarda yapılan bir çalışmada şüpheli enfeksiyonun ilk gününde LBP, IL-6 ve PCT'den daha iyi ve CRP'ye benzer bir sepsis belirteci olarak değerlendirilmiş(103). Yapılacak ileri araştırmalar ile LBP'nin sepsisteki değeri daha net belirlenmelidir.

Enfektif endokardit(EE), tanı ve tedavi izleminde LBP'nin destekleyici bir belirteç olarak kullanılabileceğine yönelik yapılan çalışmanın sonucunda LBP'nin CRP ile güçlü bir şekilde korele olduğunu ve EE'nin teşhisinde ve hastalığın tedaviye yanıtını takip etmede yararlı bir belirteç olarak kullanabileceğini göstermiştir.Yapılacak ileri araştırmalar ile LBP'nin değeri daha net belirlenmelidir(104).

2.14.3.Sfingozin1 Fosfat (S1P)

Sfingozin-1-fosfat (S1P), birçok hücre tipinde, özellikle de bağışıklık ve vasküler sistemlerde çoğalma, göç, hücre iskeletinin yeniden yapılandırılması, yapışma ve inflamasyon gibi çeşitli hücresel işlevlerde yer alan bir pleiotropik lipid aracıdır.S1P, ilk olarak 1960'larda keşfedildi ve ikinci haberci olarak tanımlandı.S1P, hücre içi haberci ve membran reseptörleri için bir ligand olarak görev yapan sfingolipidlerinmajor biyoaktif bir metabolitidir(105,106).

Sfingolipidler tüm ökaryotik hücrelerin plazma zarlarının bir parçasıdır ve yaygın olarak lipid tabakanın mekanik olarak stabil ve kimyasal olarak dayanıklıbir dış yapı oluşturmasını sağlayarak hücre yüzeyini korumada görevlidirler.Sfingolipidlerin sentezi endoplazmik retikulumun sitozolik kısmında seramid yapılandırmak üzere başlar.Seramid, sfingolipidlerin metabolizmasındaki merkezi çekirdek lipiddir. Seramidtenseraminidaz yardımıyla oluşturulan sfingozin, sfingozin kinazlar (SphK1 veSphK2) tarafından fosforile edilerek sfingozin 1-fosfat (S1P) üretilir.S1P iki yolla yıkılabilir. Geri dönüşümlü olarak fosfataz ile sfingozine veya geri dönüşümsüz olarak S1P liyaz ile heksadekenala ve fosfoetanolamine yıkılır(106,107).



Şekil 3. Biyoaktif Sfingolipid Metabolitlerinin Birbirine Dönüşebilirliği ve Bu Yolakta Rol Alan Enzimler Gösterilmiştir (107).

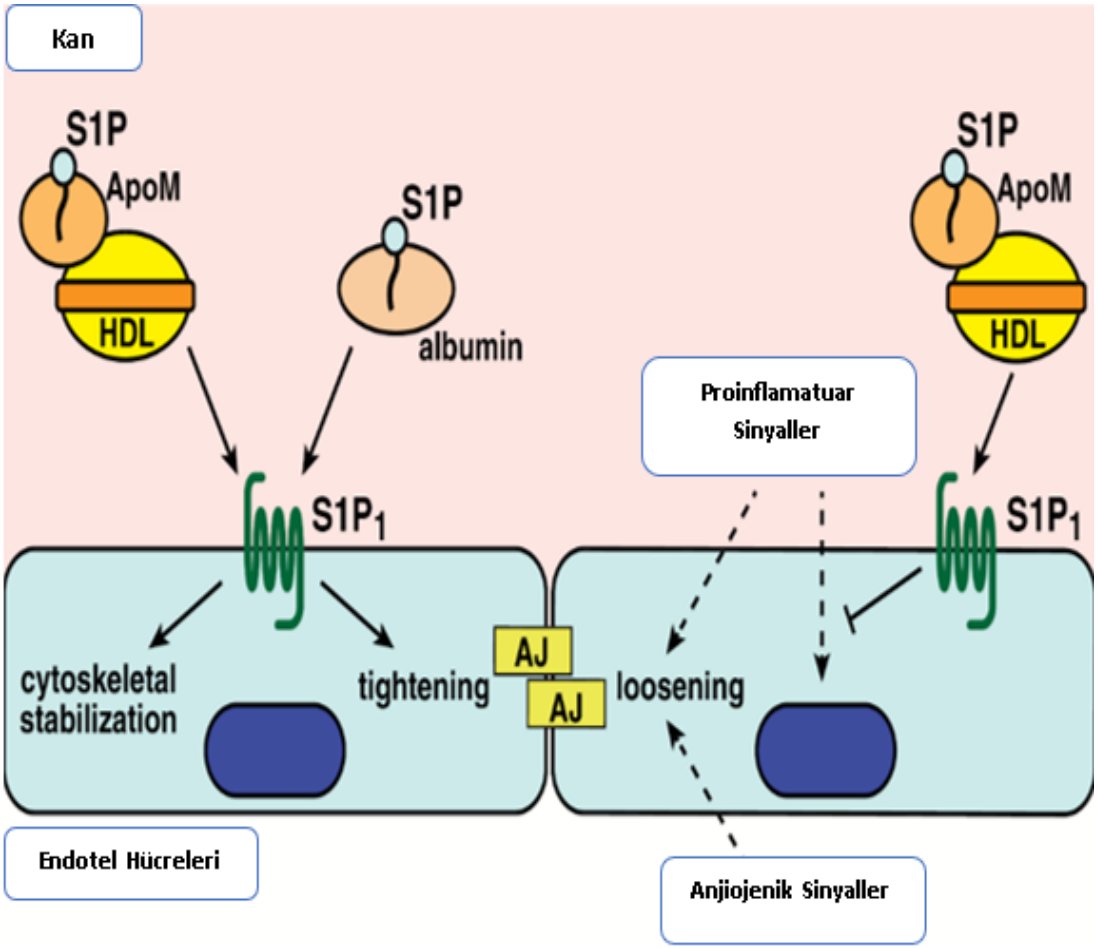
Dolaşımdaki S1P'nin başlıca kaynakları, eritrositler ve endotelyal hücrelerdir. Hidrofobik özelliği nedeniyle S1P suda az çözünür ve verimli taşıma ve dolaşım için taşıyıcı proteinlere ihtiyaç duyar. Plazmada, S1P'nin yaklaşık %65'i yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve geri kalanı albümin tarafından taşınır(106).

Sfingozin-1 fosfathem hücre içi hem de hücre dışı alanda,reseptörlerine bağlanaraketki gösterir.Şimdiye kadar,S1P reseptörünün G proteini bağımlı beş adet reseptörü tanımlanmış ve S1P $_{1\text{-}5}$ olarak adlandırılmıştır. S1PR1 reseptörü, endotel, sinir, düz kas, atriyoventriküler düğümde yer alır ve lenf düğümlerinden lenfosit çıkışını, nöron göçünü, endotel geçirgenliğini ve anjiogenezisi sağlar.S1PR2

reseptörü, düz kas veendotel hücreleri üzerinden endotel geçirgenliğine ve vasküler sistemin tonusu üzerine etkisi mevcuttur. S1PR3 reseptörü, AV düğüm ve düz kas hücreleri üzerineetki göstererek endotel geçirgenliği, hücre göçü, kalp ritminin yavaşlatılmasınısağlar. S1PR4 reseptörü, ise sadece lenfositlerde bulunur ve lenfoid doku ekspresyonunuetkilemektedir. S1PR5 reseptörü ise ağırlıklı olarak merkezi sinir sisteminde dentritik hücreler üzerinde etkili olmaktadır (106,108,109).

S1P reseptörleri (S1PR) dağılım ve fonksiyonel çeşitliliği nedeni ile birçok hastalıkta potansiyel terapötik hedefler haline geldi. S1PR modülatörleri ilk olarak akut böbrek nakli reddini önlemek için bir immünosupresan olarak geliştirildi daha sonra çeşitli hastalıklarda da araştırıldı. Şu anda S1PR modülatörleri için onaylanmış tek endikasyon, tekrarlayan remitting ve aktif sekonder progresif multipl sklerozdur. Bu bağlamdailk üretilen S1PR modülatörü S1P1,3,4,5 reseptörlerinin agonisti olan fingolimodtur. S1PR modülatörleri multipl skleroz ve potansiyel olarak diğer hastalıklarda terapötik kullanım için umut verici olarak değerlendirilmektedir(108).

S1P insan serumunda 0.1-1 µM konsantrasyonda bulunmaktadır. Hücre büyümesi, hücre proliferasyonu, anjiyogenezis, vasküler maturasyon, hücre migrasyonu, hücre iskeleti yapısının yeniden düzenlenmesi, gibi birçok aşamayı düzenler, ek olarak apoptozu ve lenfositlerin trafiğini inhibe eder. S1P akciğerde endotel hücreleri arasındaki bağlantıları sağlamlaştırarak, kapiller aşırı geçirgenliği önlemektedir. S1P, S1P1 reseptör üzerinden deri ve akciğer kapiller bütünlüğün sürdürülmesinde önemli bir rol oynar. S1P, endotel hücre proliferasyonunu başlatır, dolayısıyla, VEGF tarafından sinyal iletisi ile kan damarlarının oluşumuna neden olur (105,109,110).



Şekil 4. HDL-ApoM Tarafından Taşınması ve S1P-S1P Reseptör Sinyalizasyon Sisteminin Vasküler Bütünlüğün Korunması Üzerine Etkileri Gösterilmiştir(106).

S1Plenfositlerin sekonder lenfoid organlardan periferik kana çıkışında rol oynamaktadır. T hücre üzerindeki etkileri konsantrasyon bağımlıdır. S1P düşük konsantrasyonlarda apoptozu inhibe eder ve kemotaksisi artırırken yüksek konsantrasyonlarda ise T hücre kemotaksisini inhibe eder. Ayrıca S1P1 reseptör aktivasyonu hücre iskeletini yeniden düzenleyerek mast hücre migrasyonuna aracılık eder(106,109,110).

Normal hücreler S1P'a hassas değilken tümör hücrelerinde hassasiyet artmıştır. S1P, endotel hücrelerinde anjiyogenez için gerekli olan matriks metalloproteaz aktivasyonuna yol açarak, tümör gelişimini, yeni damarların oluşumunu ve hücre proliferasyonunu sağlar(111).

S1P'ye bağlı reseptör sinyallemesindeki bir hata kanser, ateroskleroz veya multipl skleroz gibi birçok hastalığın gelişmesine yol açabilir. S1P ve reseptörleri ek olarak sepsis, diyabet, astım ve romatoid artrit gibi diğer hastalıkların patogenezinde rol oynar. Belirli patofizyolojik koşullarda S1P reseptörlerinin farklı ekspresyonları göz önüne alındığında, her bir S1P reseptörünü spesifik olarak hedefleyen tedavilerin yakın gelecekte geliştirilmesi beklenmektedir(112).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Planı

Çalışma, tek merkezliprospektifbir kohort çalışması olarak planlanmıştır. Çalışmada Ağustos 2021 ve Aralık 2021 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servisinde yatan ve polikliniğine başvuran brusella tanısı alan hastalarda tanı ve prognozda yeni inflamatuar biyobelirteç olan Decoy Reseptör-3(DcR3), Lipopolisakkarit BağlayıcıProtein (LBP) ve Sfingozin 1- Fosfat'ın(S1P) rolünündeğerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla belirtilen sürede Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servis veya poliklinikte takip edilen çalışma kriterlerimize uyanbrusellatanısı konan 50 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 18 yaşından büyük olmak
- Klinik olarak brusella düşündüren bulguları olan hastalarda (ateş, gece terlemesi, iştahsızlık, kilo kaybı, baş ağrısı, kas-eklem ağrısı) brusella tanı testleri çalışılarak kesin brusella tanısı konup tedaviye başlanması

Çalışmanın dışlama kriterleri;

- 18 yaşından küçük olmak
- Kronik brusella hastaları
- Rekurrenbrusella hastaları
- Yeni tanı alıp> 7 gün tedavi almış hastalarolarak belirlendi.

Çalışmaya yukarda belirtilen kriterler baz alınarak kesinbrusellatanısı konulan 50 hasta alınmıştır.

Hastaların beyaz küre sayısı ve C- reaktif proteindeğerleri ölçüldü. Aynı anda hastalardan düz biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı. Alınan kanlar santrifüjedilerek serum ayrıştırıldı. Elde edilen serum örneklerinden Decoy Reseptör-3, Lipopolisakkarit Binding Protein ve Sfingozin 1- Fosfatdeğerlerinin çalışılacağı zamana kadar -80 derecede derin dondurucuda saklandı. Çalışmada değerlendirilecekinflamatuar biyobelirteçlerin sağlıklı bireylerdeki değerlerini ölçmek adına, bilinen kronik hastalığı bulunmayan,herhangi bir ilaç kullanma öyküsü olmayan ve BMİ<25 olan 30 kişilik sağlıklı kontrol grubu seçildi.

Hasta grubu ve kontrol grubu kanları çalışmanın yapılacağı günden bir gün önce, -80 dereceden çıkarılıp +4 derecede bekletildi.DcR3, LBP, S1P testi için enzim-linkedimmunosorbentassay (ELİSA) yöntemi kullanıldı.Serum DcR3, LBP,S1Pseviyeleri Human DcR3, Human LBP, Human S1P (SunredBiologicalTechnology, Shanghai, Çin) ticarikitlerine uygun olarak BioTek ELx50 MicroplateWasherve BioTek ELx800 Microplate Reader (BioTek Instruments,Inc. USA) cihazları kullanılarak ölçümleri yapıldı. DcR3 değerleri ng/ml, LBP değerleri ug/ml ve S1P değerleri ng/L cinsinden elde edildi. Elde edilen değerler istatistik hesaplamalar yapılmak üzere SPSS programına kaydedildi.

Hasta grubundaki beyaz küre, CRP değerlerinin eş zamanlı alınan kanlarda bakılan DcR3, LBP ve S1Pdeğerleri ile korelasyonu ve aynı zamanda brusellahastalarında elde ettiğimiz DcR3, LBP ve S1P değerlerinin kontrol grubundaki değerleri ile karşılaştırılması planlandı.

Bruselloz tanısı konan hastalardan alınan kan kültürlerinde üreme olan ve olmayan hastalar tespit edildi.Kültürlerde üreme olan ve olmayan hastalar arasında DcR3, LBP ve S1P düzeyleri arasında fark olup olmadığı değerlendirildi.

Hastaların yaş, cinsiyet, başvuru anındaki şikayetleri, ek hastalıkları, yaşadığı yer,eklem tutulumu ve diğer organ tutulumları, kültürde üreme varlığı, beyaz küre, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri çalışmadaki değişkenler olarak belirlendi.

Bu tez çalışması Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 21/09/2021 Tarihli 406 sayılı karar ile onaylanmıştır.

3.2. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 forwindows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama ± standart sapma (SD) ile, kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığına Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile bakıldı. İkili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi ve ikiden fazla olan karşılaştırılmalarda Kruskall- Wallis Htesti kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişki için spearman korelasyon analizi kullanıldı. Hipotezler çift yönlü alındı, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Hasta Grubunun Temel Özellikleri

Ağustos 2021 ve Aralık 2021 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servis ve/veya polikliniğine başvuran bruselloz tanısı konulan hastalardan 50 hasta seçildi.İki hastanın kanları hemoliz nedeni ile çalışılamadığından çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya 48 hasta dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen 48 hastanın yaş ortalaması 38,06±17,73 olarak tespit edildi. Hastaların 25'ı (%52,1) kadın, 23'ü ise ((%47,9) erkek cinsiyete sahipti. Meslek açısından değerlendirildiğinde17'i (%37,5) diğer (5 öğrenci, 7 işçi,5 emekli), 14'ü (29,2) ev hanımı,11'i (22,9) hayvancılık,5'i ise (%10,4) çiftçiidi. Yaşadığı yer açısından 32'si (%66,7) kentte, 16'sı (%33,3) kırsalda yaşamaktaydı.

Hastaların komorbiditeleri değerlendirildiğinde 48 hastanın; 32'sinde (%66,7) herhangi bir komorbidite saptanmazken, hastaların 9'unda (%18,8) diğer (Sjögren hastalığı, kalp yetmezliği, kronik böbrek hastalığı, parkinson, kolon kanseri, kronik hepatit B)4'ünde (%8,3) diyabetesmellitus ve hipertansiyon, 2'sinde (%2,4)sadece hipertansiyon 1'inde isesadece diyabetesmellitushastalıkları tespit edildi. Bazı hastaların birden fazla komorbiditesi mevcut idi.

Hastalar bulaş yolu açısından değerlendirildiğinde 35'inde (%72,9) taze peynir, 7' sinde (%14,6) hayvan teması ve 6'sında ise (%12,5) süt ile bulaş bildirildi.

Hastalar başvuru şikayetleri açısından değerlendirildiğinde 14'ünde (%29,2) eklem ağrısı, 12'sinde (%25) ateş, gece terlemesi,10'unda (%20,8) baş ağrısı, 6'sında (%12,5) halsizlik, 3'ünde (%6,3) birden fazla (ateş, gece terlemesi, baş ağrısı)şikâyet mevcuttu.

Hastalar organ tutulumu açısından değerlendirildiğinde 9'unda(%18,7) organ tutulumu saptanmazken, hastaların17'sinde (%35,4) bakteriyemi, 9'unda (%18,8)spondilodiskit, 6'sında(%12,5)sakroileit, 4'ünde (8,3)diğer (üveit,orşit,septik artrit,enfektif endokardit) organ tutulumları, 3'ünde (%6,3) menenjitsaptandı.

Hastalar BrusellaCapturetitreleri açısından 1/160 ve üstü pozitif kabul edilerek değerlendirildi. 36' sında (%75) yüksek titrelerde (≥1/1280)**,** 12'sinde (%25) daha düşük titrelerde (<1/1280) pozitiflik saptandı.

Hastalar kan kültüründe üreme olup olmamasına göre değerlendirildiğinde 17'sinde (%35,4) kan kültüründe üreme saptanırken, 31'inde(%64,6) üreme olmadı. Üreme olan kan kültürlerinin hepsinde etken olarak *B. melitensis*izole edildi.

Hastalar çekilen batın ultrasonografi (USG) açısından değerlendirildiğinde 38'inde (%79,2) batın USG doğal,10'unda (%20,8) hepatosplenomegali saptandı. Çekilen ekokardiyografi (EKO) açısından değerlendirildiğindede 47'sinde (%97,9) herhangi bir patoloji saptanmazken,1'inde (%2,1) vejetasyon saptandı.

Tablo 2. Hastaların Temel Özellikleri

Özellik	**Ortalama ± SS veya sayı (%), (n:50)**
Yaş	38,06±17,73
Cinsiyet	
Kadın	25(%52,1)
Erkek	23 (%47,9)
Meslek	
Çiftçi	5(%10,4)
Hayvancılık	11(%22,9
Ev hanımı	14(%29,2)
Diğer	17(%37,5)
Yaşadığı yer	
Kent	32(%66,7)
Kırsal	16(%33,3)
Ek Hastalıklar	
Yok	32(%66,7)
Var	16 (%33,3)
Ek hastalıklar	
Hipertansiyon	2 (%4,2)
Diyabet	1(%2,1)
Hipertansiyon +Diyabet	4(%8,3)
Diğer	9(%18,8)

Bulaş yolu	
Taze peynir	35(%72,9)
Taze süt	6(%12,5)
Hayvan teması	7(%14,6)
Başvuru şikâyeti	
Ateş+ gece terlemesi	12(%25)
Baş ağrısı	10(%20,8)
Ateş+ gece terlemesi + Baş ağrısı	3(%6,3)
Eklem ağrısı	14(%29,2)
Halsizlik	6(%12,5)
Diğer	3(%6,3)
Organ tutulumu	
Var	39(%81,3)
Yok	9(%18,7)
Tutulum yeri	
Bakteriyemi	17(%35,4)
Spondilodiskit	9(%18,8)
Sakroileit	6(%12,5)
Menenjit	3(%6,3)
Diğer	4(8,3)
Brusellacapturetitreleri	
<1/1280	12(%25)
≥1/1280	36(%75)
Kan Kültüründe Üreme Durum	
Yok	31(%64,6)
Var	17(%35,4)
USG	
Doğal	38 (%79,2)
HSM	10(%20,8)
Eko	
Doğal	47 (%97,9)
Vejetasyon	1 (%2,1)

HSM: Hepatoseplenomegali

4.2. Birincil Sonuçlar

İlk olarak hasta grubu ve kontrol grubunda ölçülen DcR3, LBP ve S1P sonuçlarını değerlendirdik. Hastaların brusella tanısı aldıkları gün alınan kanlarında ölçülen DcR3, LBP ve S1P değerleri ile kontrol grubundan alınan kanlardaki ölçülen değerlerle karşılaştırıldı. Hasta grubunda ölçülenDcR3 değerleri ile kontrol grubunda ölçülen DcR3 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Hasta grubunda DcR3 değerlerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu tespit edildi (**p=0,000**). LBP değerlerine baktığımızda, hasta grubunda ölçülen LBPdeğerleri ile kontrol grubunda ölçülen LBP değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Hasta grubunda LBP değerlerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu tespit edildi(**p=0,000**). S1Pdeğerleri açısından değerlendirdiğimizde ise, hasta grubunda ölçülen S1P değerleri ile kontrol grubunda ölçülen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Hasta grubundakiS1P değerlerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu tespit edildi**(p=0,001) (Tablo 3).**

Tablo 3. Biyobelirteçlerin Hasta-Kontrol Grubu Değerleri

	Hasta Grubu		**Kontrol Grubu**		**P değeri**
	Ort± SS	**Medyan(min-Max)**	**Ort+SS**	**Medyan(min-Max)**	
DcR3, ug/mL	12,71±14,24	5,91 (0,69-59,12)	26,11± 16,88	596,9 (1,54-56,38)	**0,000**
LBP, pg/mL	8,66± 8,04	5,74 (1,33-34,73)	19,22± 11,43	18,2 (2,86-41,04)	**0,000**
S1P, ng/L	212,18± 225,89	125,4 (33,98-840,55)	444,81± 312,49	424,32(13,35-1042,39)	**0,001**

DcR3: Decoy reseptör 3, LBP: lipopolisakkaridbinding protein, S1P: Sfingozin 1 fosfat

Hastaların kanlarında ölçülen WBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerlerinin birbirleriyle olan korelasyonlarıdeğerlendirildi. Hasta grubunda DcR3, değerleri ile LBP değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon tespit edildi**(p=0,000).**DcR3 değerleri ile S1P değerleri arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon olduğu tespit edildi**(p=0,000).** Diğer bir biyobelirteç olan LBP değerleri ile S1P değerleri arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon tespit edildi**(p=0,000).** Hasta grubu kanlarında ölçülen WBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerlerinin birbirleriyle olan diğer korelasyonlarını değerlendirdiğimizde istatistikselanlamda pozitif ya da negatif korelasyon tespit edilmedi **(Tablo 4).**

Tablo 4. Bruselloz Tanısı Konan Gün Biyobelirteçlerin Korelasyonları

	Spearman korelasyonu		**Sonuç**
	r korelasyon katsayısı	**p değeri**	
WBC- CRP	-0,072	0,626	İlişki yok
WBC-DcR3	0,035	0,815	İlişki yok
WBC-LBP	0,003	0,981	İlişki yok
WBC-S1P	0,077	0,601	İlişki yok
CRP- DcR3	-0,160	0,279	İlişki yok
CRP- LBP	-0,082	0,578	İlişki yok
CRP- S1P	-0,087	0,556	İlişki yok
DcR3- LBP	0,775	**0,000**	**Pozitif Yönde bir ilişki var. DcR3 azalırken LBP' de azalmıştır**
DcR3- S1P	0,730	**0,000**	**Pozitif Yönde bir ilişki var. DcR3 azalırken S1P' de azalmıştır.**
LBP- S1P	0,874	**0,000**	**Pozitif Yönde bir ilişki var. LBP azalırken S1P' de azalmıştır.**

DcR3: Decoy reseptör 3, LBP: lipopolisakkaridbinding protein, S1P: Sfingozin 1 fosfat, CRP: C-reaktif protein, WBC: Beyaz kan küresi

4.3. İkincil Sonuçlar

Hasta yaşı ile alınan kanlarda ölçülen WBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri arasındaki korelasyon değerlendirildi. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif ya da negatif korelasyon tespit edilmedi(**Tablo 5).**

Tablo 5. Yaş ve Biyobelirteçlerin Korelasyonu

	Spearman korelasyonu		
Yaş	**r korelasyon katsayısı**	**p değeri**	**Sonuç**
WBC	0,284	0,05	İlişki yok
CRP	0,244	0,095	İlişki yok
DcR3	-0,084	0,571	İlişki yok
LBP	-0,231	0,113	İlişki yok
S1P	-0,06	0,683	İlişki yok

DcR3: Decoy reseptör 3, LBP: lipopolisakkaridbinding protein, S1P: Sfingozin 1 fosfat, CRP: C-reaktif protein, WBC: Beyaz kan küresi

Hastaların cinsiyeti ile alınan kanlarda ölçülen WBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri arasında anlamlı fark olup olmadığıyönünden değerlendirildi. Hastaların ölçülen WBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri ile kadın ve erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi**(Tablo 6).**

Tablo 6. Cinsiyete Göre Biyobelirteçlerin Değerlendirilmesi

	Sayı (n)	Ort + SS	Medyan (Min-Max)	P değeri
WBC				
Kadın	25	6,34 ± 2,29	6,40(1,4-11)	
Erkek	23	7,25 ± 2,78	6,20 (2,2- 13,6)	0,421
CRP				
Kadın	25	3,05 ± 3,56	0,9(0,1-11)	
Erkek	23	3,29 ± 3,45	2 (0,3 -15)	0,335
DcR3				
Kadın	25	10,96±14,53	5,54(0,69-59,12)	
Erkek	23	14,62 ±13,97	9(1,02- 42,75)	0,297
LBP				
Kadın	25	7,33±7,46	4,50(1,33-34,73)	
Erkek	23	10,10±8,55	6,71(1,78-28,16	0,140
S1P				
Kadın	25	158,84±179,14	92,2(33,98-796,86)	
Erkek	23	270,15±259,34	161,8(34,78-840,55)	0,119

DcR3: Decoy reseptör 3, LBP: lipopolisakkaridbinding protein, S1P: Sfingozin 1 fosfat, CRP: C-reaktif protein, WBC: Beyaz kan küresi

Kan kültüründe üreme olan ve olmayan hastalardakiWBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri arasında anlamlı fark olup olmadığı değerlendirildi. Kan kültüründe üreme olan hastalarda ölçülen CRP değerleri, kan kültüründe üreme olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek ölçüldü**(p=0,071).** Kan kültüründe üreme olan hastalarda ölçülen WBC değerleri, kan kültüründe üreme olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek ölçüldü**(p=0,0445).** Kan kültürlerinde üreme olan ve olmayan hastalar arasında; DcR3, LBP ve S1P değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı **(Tablo 7).**

Tablo 7. Kan Kültüründe Üremeler ve Biyobelirteçlerin İlişkisi

	Sayı (n)	Ort± SS	Medyan (Min-Max)	P değeri
WBC				
Üreme var	17	5,90±3,14	5,50(1,4-13,6)	**0,0445**
Üreme yok	31	7,26±2,07	6,80(4,2-12)	
CRP				
Üreme var	17	3,72±2,80	3(0,2-9,7)	**0,071**
Üreme yok	31	2,86 ±3,80	1(0,1-15)	
DcR3				
Üreme var	17	9,77±11,28	5,54(1,18-38,85)	0,419
Üreme yok	31	14,323 ±15,56	5,94(0,69-59,12)	
LBP				
Üreme var	17	8,50 ±7,64	5,81(2,91-27,91)	0,535
Üreme yok	31	8,75±8,37	5,66(1,33-34,73)	
S1P				
Üreme var	17	233,11±245,74	135,51(39,23-840,55)	0,590
Üreme yok	31	200,70 ±217,61	103,15(33,98-796,86)	

DcR3: Decoy reseptör 3, LBP: lipopolisakkaridbinding protein, S1P: Sfingozin 1 fosfat, CRP: C-reaktif protein, WBC: Beyaz kan küresi

Hastaların Brusellacapturetitreleri ilealınan kanda ölçülenWBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleriarasında anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirildi. Hastaların Brusellacapturetitreleri ile ölçülen WBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı

Tablo 8. BrusellaCaptureTitrelerive Biyobelirteçlerin İlişkisi

	Sayı (n)	Ort± SS	Medyan (Min-Max)	P değeri
WBC **<1/1280** **≥1/1280**	12 36	6,68±1,42 6,81±2,85	6,35(4,2-8,8) 6,40(1,4-13,6)	0,821
CRP **<1/1280** **≥1/1280**	12 36	2,10+2,78 3,52+3,64	0,75(0,1-9) 2,25(0,2-15)	0,129
DcR3 **<1/1280** **≥1/1280**	12 36	19,97±19,82 13,29±11,16	11,51(0,69-59,12) 5,52(1,02-42,75)	0,171
LBP **<1/1280** **≥1/1280**	12 36	12,23±11,06 7,46±6,51	6,99(3,15-34,73) 5,40(1,33-28,16)	0,234
S1P **<1/1280** **≥1/1280**	12 36	266,36±267,92 194,11±211,23	138,13(33,98-796,86) 113,06(34,78-840,55)	0,668

DcR3: Decoy reseptör 3, LBP: lipopolisakkaridbinding protein, S1P: Sfingozin 1 fosfat, CRP: C-reaktif protein, WBC: Beyaz kan küresi

Komorbiditesi olan hastalarda ölçülenWBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerlerinin komorbiditeye göre arasında farklılık olup olmadığı değerlendirildi. Bu amaçla hastalar hipertansiyon, diyabet hem hipertansiyon hem de diyabeti olan ve diğer hastalıkları olanlar şeklinde gruplandırıldı. Gruplar arası ölçülen WBC, CRP, DcR3 ve S1P değerleri açısından anlamlı fark tespit edilmedi.

Hastalar organ tutulumu olup olmamasına göreWBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri arasında farklılık olup olmadığı yönünden değerlendirildi. Organ tutulumu olan ve olmayan hastalar arasında; WBC, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi.

5. TARTIŞMA

Brusella gram negatif hücre içi çoğalan mikroorganizmaların neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. Her yıl 500.000 yeni vaka ile dünyada en sık görülen zoonotik hastalık olmaya devam etmektedir. Ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz ülkelerinde hiperendemik bir hastalık olarak önemini korumaktadır.Brusellahayvanlardan insanlara bulaşan, tüm sistemleri tutan ve çeşitli klinik semptomlarla karşımıza çıkabilen bir hastalıktır. Spesifik semptomlarla seyretmemesitanı ve tedaviyi geciktirir (1).

İnsanlara bulaş yolları, kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi, az pişmiş etlerin tüketilmesi, enfekte damlacıkların inhalasyonu, enfekte sekresyonlarınbütünlüğü bozulmuş cilt ve mukoza ile direkt temasıdır. Hastalığın endemik seyrettiği ülkelerde sıklıkla bulaş kaynağı iyi kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketimi iken, gelişmiş ülkelerde bulaş nedeni doğrudan temas ve inhalasyon yolu ile olduğu görülmektedir(16,17). Demirdağ ve arkadaşlarının 146 bruselloz olgusunun değerlendirildiği retrospektif bir çalışmada 112 (%76,7) hastada taze peynir tüketme öyküsü olduğu tespit edilmiştir(113). Bizim çalışmamızda ise 48 hastanın 35'inde (%72,9) taze peynir tüketme öyküsü mevcuttu. Çalışmamızbrusellozun endemik olduğu bölgemizde bulaş yolununen sık nedeninintaze süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi olduğunu desteklemektedir.

Bruselloz cinsiyet fark etmeksizinher yaşta görülebilmektedir.Hastalık görülme yaşı ortalama 15-35 yaş grubundadır(15). Şahin ve ark.'nın 83 brusella olgusunda yaptıkları çalışmada yaş ortalaması35,3 (15-84) tespit edildi(114).Bizim çalışmamızda yaş ortalaması 38,06±17,73 olarak saptandı. Elde ettiğimiz ortalama değerler erişkinlerle yapılan diğer çalışmalardaki değerler ile uyumlu idi.

Cinsiyet açısından hastalığın düşük insidansla seyrettiği ülkelerde, mesleksel risk nedeniyle erkek cinsiyette daha sık görülmesine karşın endemik olduğu ülkelerde cinsiyet farkı olmadığı bilinmektedir(25).Ülkemizde yapılançalışmalarda daha çok kadınlar %52-53.2oranında etkilenmiştir(80,114).Bizim çalışmamızda da kadınların oranı %52,1 olarak daha yüksek tespit edilmiştir.

Hastalığın klinik seyrinde en sık görülen şikayetler, vakaların %75 ila %100'ünde görülen artralji, titreme ile yükselen ateş ve yorgunluktur, bunu aşırı terleme, kötü kokulu terleme, iştahsızlık, kas ağrısı izler (25,115). Güler ve ark.'nın yaptığı çalışmada ateş, halsizlik, eklem ve kas ağrısı %86, terleme %72 gibi yüksek oranlarda bulunmuştur. Çalışmamızda 48 hastanın 14'ünde (%29,2) eklem ağrısı birinci sırada yer alırken, ikinci sırada 12 (%25) hastada ateş gece terlemesi şikâyeti mevcuttu.

Bruselloz hastaları, akut sistemik belirtilerle birlikte ya da sadece organ tutulumuyla da hekime başvurabilir. Literatürde incelendiğinde%10-85 oranındaosteoartikülertutulum en sık tanımlanan komplikasyondur(25,38,40,41).Bizim çalışmamızda %31,25 oranında kemik ve eklem tutulumusaptandı. Hastaların %18,8' inde spondilodiskit, %12,5' inde sakroileit mevcuttu.

Brusellozun kesin tanısında altın standart tanı yöntemi kan ve kemik iliği gibi örneklerden bakterinin izole edilmesidir(15,16).Brusellozda, kan kültürü pozitifliği incelenen çalışmalarda %15-72,5 arasında değişmektedir(34,73,74).Çalışmamızda %35,4 oranında kan kültüründe üreme saptandı.

Bakteriyemi ile seyreden bruselloz olgularında etken olarak en sık *B. melitensis* izole edilmektedir(25).Aygün ve ark.'nın yaptığı çalışmada bakteriyemi ile seyreden tüm hastaların kan kültüründe etken olarak *B.melitensis*saptanmıştır (116). Bizim çalışmamızda da kan kültünde üreme olan hastaların %100' ünde *B.melitensis* izole edildi.

Bruselloz tanısı klinik belirti ve bulgular, serolojik testler ve kültürpozitifliğiyle konulmaktadır. Kesin tanı yöntemi kültür olmakla birlikte,bakteriyi üretmek için uzun süreye ihtiyaç duyulması, üretme oranlarının değişkenliği, bulaş riskinin yüksek olması, her kurumda kan kültürü çalışma imkanlarının olmaması nedeniyle tanıda serolojik testler ön plana çıkmaktadır. Fakat endemik bölgelerde çoğu zamanbrusella tanısını koymada rutinde kullanılan laboratuvar parametreleri yetersiz kalmaktadır.Brusellayaait antikor titrelerinintedavi sonunda uzun süre yüksek düzeylerde seyretmesi tedaviyi sonlandırma kararı almada

veyanüks tanısı koymada sıkıntı oluşturmaktadır.Bunun içinbu hastaların tanı ve tedavi takibinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçler gündeme gelmiştir. Brusella tanı ve takibinde decoyreceptor 3 (DcR3), lipopolisakkarit bindingprotein (LBP), spingozin 1 fosfat (S1P) gibi yardımcı parametrelerfaydalı olabilir.

Decoy reseptör- 3 (DcR3) ilk olarak 1988' de tümör nekrozfaktorü reseptör ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmıştır. Transmembran yerleşimi olmayan yalnızca salgılanan, bir tuzak reseptörüdür. Tuzak reseptör özelliği ile TNF ailesinin bazı üyelerinden olan, LIGHT (TNFSF14), TNF benzeri molekül (TL 1A/TNFSF15) ve FAS ligandına bağlanarak bu moleküllerin biyolojik aktivitelerini inhibe eder. Bu etkileri ile hem antiapopitotik hem de proinflamatuar özellik gösterir.Dentritik hücrelerden Th2 polarizasyonu, makrofaj fenotipinde farklılaşma sağlaması, endotel hücrelerinden ICAM-1, VCAM-1 ve IL-8 salınımını artırması non-decoyetkileridir. DcR3 ekspresyonu fizyolojik durumda neredeyse hiç saptanmaz(89).

DcR3 çeşitli kanserlerde tümör hücreleri tarafından eksprese edilir. Kanser patogenezinde DcR3 sevilerinde artış tümör hücrelerinin büyümesini sağlar, invazyonunu kolaylaştırır ve apoptozunu engeller. DcR3 ekspresyonunun engellemek tümör apoptozunu artırabilir ve in vivo olarak tümör büyümesini baskılayabilir(89).Tong ve ark.'lnın yaptığı 3294 gastrointestinal kanser hastasını içeren 28 çalışmanın meta analizindeDcR3'ün aşırı ekspresyonunun TNM evresi, lenf nodu metastazı, farklılaşma ve uzak metastaz ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir(93).

Çeşitli enfeksiyon hastalıklarında da DcR3 seviyesinde yükselme gözlenmektedir. Son zamanlarda, DcR3 sepsis için yeni bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir ve serum seviyesi prokalsitonin ile koraledir. Hou ve ark.'nın 118 sağlıklı kontrol, 24 sepsis hastası ve 43 SIRS hastasının değerlendirildiği çalışmada, SIRS hastaları ve sağlıklı kontrol hastaları ile karşılaştırıldığında sepsis hastalarında serum DcR3 düzeyleri anlamlı olarak yüksek izlenmiştir. Bu çalışmada DcR3' ün sepsis için yeni biyobelirteç olarak kullanılma potansiyeline sahip olabileceği yönünde görüş bildirilmiştir(117).

DcR3' ün, birçok inflamatuar dokuda düzeyleri artar. İnflamatuar süreçte artan DcR3 düzeyleri inflamasyonun baskılanmasında rol alır.Hayashi ve ark.'nınyaptığı bir çalışmada 28 romatoid artrit (RA) ve 10 osteoartrit (OA) tanısı olan hastanın sinoviyal sıvıdaki DcR3 düzeyleri karşılaştırılmıştır. RA grubundaki 26 hastanın sinoviyal sıvıdaki DcR3 düzeyi OA grubundaki hastalara göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür. RA tanılı iki hastada değerler düşük ölçülmüş olup ayrıca OA grubundaki iki hastada da DcR3 düzeyleriokdukça yüksek ölçülmüş olup bu durum ile ilgili net bilgi bildirilmemiştir(94).

Literatürde ağırlıklı olarak inflamatuar süreçte DcR3 düzeylerinde artışın olduğunu gösterençalışmalar mevcutolsada bunun aksini gösteren yayınlar da mevcut.Jiang ve ark.'nın yaptığı çalışmada 50 ankilozan spondilit(AS) tanılı hasta ve 50 sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmış. AS tanılı hastalarda serum DcR3 düzeylerinindaha düşük olduğunu göstermişlerdir(118).Yeh ve ark.'nın yaptığı çalışmada 104 normal gebe kadında birinci trimester, ikinci trimester ve üçüncü trimesterde plazma DcR3 düzeyleri ölçülmüştür. Gebelik ilerledikçe plazma DcR3 düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışma üçüncü trimesterde preeklempsi tanısı konulan 10 gebe kadın ile 94 normal gebe kadının plazma DcR3 düzeyleri karşılaştırıldığında preeklempsi tanısı konulan kadınların plazma DcR3 düzeylerinin normal gebe kadınlarınkinden önemli derecede düşük olduğu gösterilmiştir(91).

Literatür çalışmalarına baktığımızdabrusella hastalarında serumda DcR3 düzeylerinin çalışıldığı bir çalışma ile karşılaşmadık. Çalışmamızdabrusella hastalarında ölçülen DcR3 değerleri, kontrol hastalarında ölçülen DcR3değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük tespit edildi**(p=0,000).**Bu sonuca görebrusellahastalarının tanısında serumda DcR3 değerinin ölçülmesinin yararlı olacağını söyleyebiliriz. Brusellahastalarında ölçülenDcR3ile LBP ve S1P değerlerini karşılaştırdığımızda DcR3 düzeyleri ile LBP ve S1Pdüzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif korelasyon olduğunu tespit ettik**(p=0,000, p=0,000).** DcR3 değerleri ile WBC-CRP değerleri arasında anlamlı farklılık belirlemedik.Alt grup analizlerine baktığımızda; yaş, cinsiyet, BrusellaCapturetitreleri, kan kültüründe üreme olup olmamasına göre alt

gruplardaDcR3 seviyeleri değerlendirildi. Bu alt gruplarda DcR3 düzeyleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Çalışmanın diğer bir biyobelirteci olan lipopolisakkarit binding protein (LBP);başlıca karaciğerde, daha az oranda barsak ve yağ dokuda sentezlenen, bakterilere karşı verilen doğal immün yanıtın temel elemanlarından biridir. LBP, inflamasyon durumunda 15-30 dk içinde salgılanmaya başlar ve 24-48 saatte pik değerine ulaşır.LBP, lipopolisakkarit (LPS) ve diğer bakteri yüzeyindeki bileşenlere karşı afinitesi yüksek bir akut faz proteinidir. LBPdüşük konsantrasyonlardaproinflamatuaretkilere sahipken,yüksek konsantrasyonlarda anti inflamatuar etki gösterir (98).Pavcnikve ark.'nın yaptığı çalışmaya 47 genel durumu riskliyenidoğan ve 49 SIRS veya sepsis ön tanısı olan çocuklaralınmıştır.Hastalar SIRS ve sepsis olarak iki gruba ayrılmıştır. Sonuç olarak sepsis grubunda serum LBP seviyeleriSIRS grubuna göre daha yüksek ölçülmüştür(103).Blairon ve ark.'nın yaptığı çalışmada 24 sepsis tanılı hasta ile 18 sağlıklı kontrolun serum LBP düzeyleri karşılaştırılmış.LBP serum seviyeleri, enfekte hastalarda kontrol grubundakilerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek ölçülmüştür. Ayrıca gram pozitif, gram negatif ve fungal sepsiste LBP serum düzeyleri benzer değerlerde ölçülmüştür(99).

Vollmer ve ark.' nın yapmış olduğu çalışmada, serum LBP düzeyinin enfektif endokardit (EE) tanı ve takipteki yeri araştırılmıştır. Çalışmaya enfektif endokardit tanılı 57 hasta, kapak hastalığı olan40 hasta ve kontrol için 55 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda EE tanılı hastalarda serum LBP seviyeleri daha yüksek ölçülmüştür. Bunun yanında tedavi sonrası CRP ve LBP düzeylerinin düştüğügösterilmiştir(104).

Losanto ve ark.'nın yaptığı çalışmada sitemik lupus eritematozus (SLE) tanılı hastaların serum LBP düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış. Kontrol grubuna kıyasla SLE hastalarında düşük LBP seviyeleri ölçülmüştür. LBP seviyeleri ile hastalık aktivitesi arasında da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır(119).Çalışmamız bu çalışma ile benzerlik göstermekte olup brusella hastalarında ölçülen LBP düzeyleri, kontrol hastalarında ölçülen LBP düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı daha düşük tespit edildi**(p=0,000).**Bu sonuca göre brusella hastalarının tanısında

serum LBP düzeylerinin ölçümünün yararlı olacağını söyleyebiliriz.Brusellozun yavaş ilerleyen, kronik seyirli bir hastalık olması nedeni ile LBP'ninbrusellahastalığı seyrinde düşük konsantrasyonlardaki proinflamatuar etkisinin ön planda olduğunu düşünmekteyiz. Brusella hastalarında bakılan LBPile DcR3 ve S1P değerlerini karşılaştırdığımızda LBP düzeyleri ile DcR3 ve S1P düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon olduğu tespit edildi**(p=0,000, p=0,000).** LBP değerleri ile WBC-CRP değerleri arasında anlamlı farklılık belirlemedik.Alt grup analizlerine baktığımızda; yaş, cinsiyet, BrusellaCapturetitreleri, kan kültüründe üreme olup olmamasına göre alt gruplardaLBPdüzeyleri değerlendirildi. Bu alt gruplarda LBP düzeyleri arasında anlamlı tespit edilmedi.

Çalışmamızda araştırılan diğer bir biyobelirteç olan Sfingosin-1-fosfat (S1P), ilk olarak 1960'larda keşfedilmiş. Hücre büyümesi, hücre proliferasyonu, anjiyogenezis, vasküler maturasyon, hücre migrasyonu, hücre iskeleti yapısının yeniden düzenlenmesi, gibi birçok aşamayı düzenleyen sfingolipidlerinmajor biyoaktif bir metabolitidir.Dolaşımdaki S1P'nin başlıca kaynakları, eritrositler ve endotelyal hücrelerdir. Ayrıca lenfositlerin sekonder lenfoid organlardan periferik kana çıkışında rol oynamaktadır. T hücre üzerindeki etkileri konsantrasyon bağımlıdır. S1P düşük konsantrasyonlarda apoptozu inhibe eder ve kemotaksisi artırırken yüksek konsantrasyonlarda ise T hücre kemotaksisini inhibe eder. S1P insan serumunda 0.1-1 µM konsantrasyonda bulunmaktadır.Sfingozin-1 fosfat (S1P) hem hücre içi hem de hücre dışı alanda, reseptörlerine bağlanarak etki gösterir(105,106,109).

Winkler ve ark.'nın yaptığı tek merkezli prospektif-gözlemsel çalışmada, 100 hasta (SIRS (n=40), şiddetli sepsis (n = 30), septik şok (n = 30)) ve 214 sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiştir. Serum-S1P konsantrasyonları hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşükölçülmüştür. Ayrıca en büyük fark kontrol grubu ve septik şok grupları arasında olduğu belirtilmiştir (120).İkeda ve ark.'nın yaptığı çalışmada kronik hepatit C tanılı hastalar ile sağlıklı bireylerin serumS1P konsantrasyonları karşılaştırılmış. Kronik hepatit C tanılı hastalarda serumS1P konsantrasyonları sağlıklı bireylere göre azalmış olarak ölçülmüştür. Bu azalmadan sorumlu mekanizmanın karaciğer fibrozisi olabileceği şeklinde görüş bildirilmiştir(121).

Bizim çalışmamızda brusella hastalarında ölçülenS1P düzeyleri, kontrol hastalarında ölçülenS1P düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı daha düşük tespit edildi**(p=0,000).**Bu sonuca göre bruselloz hastalarının tanısında serum S1P düzeylerinin ölçümünün yararlı olacağını söyleyebiliriz.Brusella enfeksiyonunda hücresel immün yanıt ön planda olup bu süreçte S1P'ın düşük konsantrasyonlardaki T hücre üzerindeki etkilerinin rol aldığını düşünmekteyiz. Bruselloz hastalarında ölçülen S1P düzeyleri ileDcR3 ve LBP düzeylerini karşılaştırdığımızda S1Pdüzeyleri ile DcR3 ve LBPdüzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon olduğunu tespit edildi**(p=0,000, p=0,000).** Brusella hastalarında DcR3 ve LBP düzeyleri düşerken S1P değerleri de düşmektedir. S1P değerleri ile WBC-CRP değerleri arasında anlamlı farklılık belirlemedik.Alt grup analizlerine baktığımızda; yaş, cinsiyet, Brusellacapturetitreleri, kan kültüründe üreme olup olmamasına göre alt gruplardaS1P düzeyleri değerlendirildi. Bu alt gruplarda S1P düzeyleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

6. SONUÇveÖNERİLER

1. Literatür çalışmaları incelendiğinde,bruselloz hastalarında serumda DcR3, LBP ve S1P düzeylerinin çalışıldığı çalışmalara rastlanmadı. Çalışmamızın DcR3, LBP ve S1P düzeylerinin bruselloz tanısındaki rolüne ilişkin ilk çalışma olduğunu düşünmekteyiz.
2. Yeni inflamatuar biyobelirteçlerden olan DcR3, LBP ve S1P'ın bruselloz tanısında faydalı olabileceği düşünülmektedir.
3. Çalışmamızda brusella hastalarının tanı anındaki kanlarında ölçülen DcR3, LBP ve S1P düzeyleri değerlendirildi. Bu biyobelirteçlerinbrusella hastalığı seyrinde öneminin net olarak anlaşılabilmesi için tanı anında, tedavi süresi boyunca ve tedavi sonrası serum düzeylerinin ölçülmesi ve daha geniş hasta ve kontrol grubunda çok merkezli prospektif çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.
4. Brusellozda nüks ve tedavi başarısızlığının en sık nedeni hastanın tedaviye uyumsuzluğudur. Hastalar tedavi konusunda bilgilendirilmeli ve tedavi uyumu açısından yakın takip edilmelidir.
5. Brusella önlenebilir bir hastalık olup primer olarak hayvanlarda hastalığın kontrol altına alınması için hayvan aşılanmasının etkin olarak sağlanması gerekmektedir.
6. Laboratuvar kaynaklı bulaşı engellemek için genel koruyucu önlemlere dikkat edilmelidir.
7. Riskli temas olması durumunda proflaksi uygulanmalıdır.

8. Brusella A grubu bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Gerçek ülke verilerimizin net ortaya çıkarılması adına her sağlık kuruluşunun ve ilgili hekimlerin bruselloz bildirimi konusunda gerekli hassasiyeti göstermesi gerekmektedir.

8. KAYNAKÇA

1. Öncel S. Brusella Enfeksiyonları: Değerlendirme ve yönetim. kocaeli üniversitesi sağlık bilim derg. 2016;2(3):25–30.

2. Ural O, Dikici N. Brucellar epididymoorchitis: a report of five cases. klimik derg. 2010 1;23(1):22–5.

3. Yu J, Li S, Wang L, Dong Z, Si L, Bao L, et al. Pathogenesis of brucella epididymoorchitis.criticalreviews in microbiology. 2022 2;48(1):96–120.

4. Vassallo DJ. The Corps Disease: Brucellosis and Its Historical Association with the Royal Army Medical Corps. J R Army Med Corps .1992 1;138(3):140–50.

5. Akpinar O. Historical perspective of brucellosis: a microbiological and epidemiological overview. Le Infez Med. 2016;24(1):77–86.

6. Naudi JR. Brucellosis : the malta experience a celebration.Institute of health care biennial report 1905 - 2005. 2005;23–6.

7. Scholz HC, Nöckler K, Göllner 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(4):801–808.

8. Çevik M.A. Bruselloz epidemiyolojisi. Ankem derg. 2001; 15(3):568–570 .

9.Temel sağlık hizmetleri genel müdürlüğü zoonotik hastalıklar daire başkanlığı, Bruselloz. 2011. 32–51 p.

10. Atay E, Metintaş S. Bruselloz ve ekonomik yüzü. Estüdam Halk Sağlığı

Derg. 2018;7(1):1–5.

11. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos E V. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis. 2006 Feb;6(2):91–9.

12. Doganay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. Int J Infect Dis . 2003; 7(3):173–82.

13. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye' de bruselloz: genel bakış. Klimik Derg. 2006;19(16):87–97.

14. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları: Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi cilt-1.s.27, Ankara- 2014

15. Kaya S. Bruselloz ve tedav i sorunu. İnfeksiyon Derg. 2006;20(3):227–30.

16. Yumuk Z. Brucella türleri. Ed: Topçu Willke A, Söyletir G,Doğanay M.İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.. s. 1956–1962.İstanbul 2017

17. Yumuk Z, O'Callaghan D. Brucellosis in Turkey an overview. Int J Infect Dis. 2012 ;16(4):228-235.

18. Yapça ÖE, Satilmiş Ök, Yapça D, Gül S. Brucella seroprevalence among pregnant women in sorgun district of Yozgat. KÜ Tıp Fak Derg. 2013;15(1):26–8.

19. Vigeant P, Mendelson J, Miller MA. Human to human transmission of brucella melitensis. Can J Infect Dis. 1995;6(3):153–5.

20. Naparstek E. Transmıssıon of brucellosıs by bone marrow transplantatıon. Lancet. 1982;319(8271):574– 575.

21. Aydemir SŞ. Etken,ptogenez. Turkiye Klin J Inf Dis-Special Top. 2012;5(1):8–10.

22. Tiller R V., Gee JE, Frace MA, Taylor TK, Setubal JC, Hoffmaster AR, et al.

Characterization of novel brucella strains originating from wild native rodent species in North Queensland, Australia. Appl Environ Microbiol. 2010;76(17):5837–5845.

23. Islam MS, El Zowalaty ME, van Vliet AHM, Thakur S, Khatun MM, Saha S, et al. First genome sequence of brucella abortus biovar 3 strain bau21/s4023, ısolated from a dairy cow in Bangladesh. Microbiol Resour Announc. 2019;8(24):1-4.

24. Büyük F, Şahİn M. Kars yöresinde atık yapan ineklerin çeşitli örneklerinden brucella etkenlerinin kültürel ve moleküler yöntemlerle araştırılması. I Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2011;17(5):809-816.

25. Gul HC, ErdemH. Brucellosis. Ed: Bennett, John E.;Dolin, Raphael; Blaser MJ. Vol. 9, Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. p. 2753–2758, Philadelphia 2019

26. Suárez-Esquivel M, Ruiz-Villalobos N, Jiménez-Rojas C, Barquero-Calvo E, Chacón-Díaz C, Víquez-Ruiz E, et al. Brucella neotomae ınfection in humans, Costa Rica. Emerg Infect Dis. 2017;23(6):997–1000.

27. Nielsen K. Brucella ovis. ın: animal brucellosis. CRC Press; 2018. p. 361–88.

28. Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckaert A. Brucella ceti sp. nov. and brucella pinnipedialis sp. nov. for brucella strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. Int J Syst Evol Microbiol. 2007;57(11):2688-2693.

29. Jiao H, Zhou Z, Li B, Xiao Y, Li M, Zeng H, et al. The mechanism of facultative ıntracellular parasitism of Brucella. Int J Mol Sci. 2021;22(7):3673.

30. Tevfik, A. Cengiz; Dolapçı Gİ. Brucella'ların özellikleri ve brusellozda tanı yöntemleri.1997;50(1):41-46.

31. Keskin D, Toroğlu S. Süt ve ürünlerinde brucellosis ve önemi. Klimik Dergisi. 2007;16(1):58-69.

32. Alp Meşe E. İnsanlarda Bruselloz. Ed:Doğanay M, Altıntaş N. Zoonozlar, Hayvalardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar. s.85-119, Bilim Tıp Yayınevi Ankara 2009

33. Badur S. Bruselloz'da serolojik tanı ve seroepidemiyoloji. Klimik Derg. 1990;3(1):17-20.

34. Kılıç S. Mikrobiyolojik tanı. Turkiye Klin J Inf Dis-Special Top. 2012;5(1):46–66.

35. Deirdre L. Church , Elmer W. Koneman , Gail L. Woods , Gary W. Procop , Geraldine S. Hall , Paul C. Schreckenberger WMJ. Koneman's Color atlas and textbook of Diagnostic Microbiology. p. 516–532 2017.

36. Bodur H. Patogenez.Turkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics. 2012;5(1)5–23.

37. Hull NC, Schumaker BA. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. InfectionEcology&Epidemiology. 2018;8(1):1-13

38. Karahocagil MK. Bruselloz. Turkiye Klin J Inf Dis-Special Top. 2012;5(1):24-33.

39. Zachary Crees, MD, Cassandra Fritz, MD, Alonso Heudebert, MD, Jonas Noé, MD, Arvind Rengarajan, MD, Xiaowen Wang M. the washıngton manual of medical therapeutics. Ed:Dr. Alonso , Dr. Jonas , Dr. Arvind, Wang MD DX. p.503 , 2019.

40. Çelebi SHM. Brusellozis. Güncel Pediatr. 2004;(2):39–43.

41. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. WHO Library cataloguing in publication Data. 2006. p. 1–88.

42. Guler M, Avci M, Gokgoz A. Ninety-six cases of brucellosis: a retrospective evaluation. Klimik Dergisi. 2019;32(2):168-173.

43. Mermut G, Ozgenç O, Avcı M, Olut AI, Oktem E. Clinical, diagnostic and

therapeutic approaches to complications of brucellosis: an experience of 12 years. Med Princ Pract . 2012;21(1):46–50.

44. Akaltun İ, Kara SS, Ayaydın H, Kara T. Evaluation of depression among children and adolescents with brucellosis without neurological involvement. Çukurova Med J. 2019;44(2):587–593.

45. Gul HC, Erdem H, Bek S. Overview of neurobrucellosis: a pooled analysis of 187 cases. Int J Infect Dis. 2009;13(6):339-343.

46. Li X, Wang T, Wang Y, Xie S, Tan W, Li P. Short- and long-term follow-up outcomes of patients with Brucella endocarditis: a systematic review of 207 Brucella endocarditis cases. Bioengineered. 2021;12(1):5162-512.

47. Taamallah K, Hammami F, Gharsallah H, Koubaa M, Ben Jemaa M, Fehri W. Brucella prosthetic valve endocarditis: a systematic review. J Saudi Hear Assoc. 2021;33(3):198–212.

48. Randa T, Christelle E, Rachoin R, Bassam H, Nabil T, Madonna M, et al. Brucella involving the heart: a hidden disease. Int J Cardiovasc Imaging . 2021;37(10):2901-2904.

49. Gürses D, Candemir M, Baltalarlı A, Demir M. Aort ve Mitral kapak tutulumu gösteren brusella endokarditli bir olgu sunumu. Turkiye Klin J Cardiovasc Sci. 2009;21(1):1-4.

50. Hadjinikolaou L, Triposkiadis F, Zairis M, Chlapoutakis E, Spyrou P. Successful management of Brucella mellitensis endocarditis with combined medical and surgical approach. Eur J Cardio-Thoracic Surg. 2001;19(6):806–10.

51. Peker, Erdal; Doğan, Murat; Akbayram Sinan; Bektaş MS. Pulmonary ınvolvement in brucellosis. Selçuk Tıp Derg. 2010;26(2):57–9.

52. Günal Ö, Berk S, BaruT HŞ. Brusellozda akciğer tutulumu. J Exp Clin Med. 2011;28(4):128–31.

53. Batmaz E, Çakır Edis Açe, Ftç Aç, Akkoyun S, Hat ON, Lu PO, et al. Pulmonary ınvolvement in brucellosis : case report. Trak Univ Tip Fak Derg. 2007;24(1):70–3.

54. Yildiz S, Ertugrul A, Deniz O, Tozkoparan E, Bilgic H. Pulmonary brucellosis: one case. Gulhane Med J. 2015;57(2):178–80.

55. Nazik S, Kömür S, Ulu A, Bozok T, Kurtaran B, İnal AS. Pulmonary brucellosis case report. Kocaeli Med J. 2016;5(1):56–9.

56. Karlı A, Sensoy G, Belet N. A case of adolescent brucellosis presented with epididymoorchitis. Güncel Pediatr. 2013;11(3):150–2.

57. Aydın Teke T, Tokgöz B, Tanır G. Brucella epididymoorchitis: a case report. J Pediatr Infect . 2012;6(4):161–2.

58. Şahin, İdris; Arabacı, Filiz; Şahin, Hüseyin Avni; Üstün, Yusuf; Mercan, Rıdvan; Eminov L. Renal ınvolvement ın brucellosıs. Türk Nefroloji Diyal ve Transplant Derg. 2003;12(1):20–3.

59. Giannacopoulos I, Eliopoulou MI, Ziambaras T, Papanastasiou DA. Transplacentally transmitted congenital brucellosis due to brucella abortus. J Infect. 2002;(3):209–10.

60. Selçuk N, Atao E, Kara G, Elevli M. Two cases of brucellosis with different clinical manifestation. Türk Ped Arş. 2007;42:40–2.

61. Doyuk Kartal, Elif ; Özgüneş İ, Usluer G. Altmışsekiz bruselloz olgusunun sistem tutulumları açısından değerlendirilmesi. Flora Derg. 2004;9(4):258–65.

62. Ural S ., Karakurt S ., Örmen B .Bruselloz olgularinda hematolojik bulgular . İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi. 2010;48(3):102-106.

63. Sarı İ. Hematolojide sık görülmeyen infeksiyonlar . 35. Ulusal Hematoloji Kongresi s.115–118 Antalya , 7-10 ekim 2009

64. Gülmez TK, Maraşlı HM, Seğmen B, Dinçer Z, Acıpayam C, Davutoğlu M, et al. İmmün trombositopenik purpura etyolojisinde brusella. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2017;12(3):1–2.

65. Demirdal T, Balık R, UraL S, Vardar İ, El S. Makülopapüler döküntü ve pnömoni ile seyreden bir bruselloz olgusu tuna. Van Tıp Dergisi. 2015;22(3):182–4.

66. Erdem HA, Tasbakan M, Pullukcu H, Sipahi OR, Erdem Kıvrak E, Yamazhan T. A brucellosis case presenting with diffuse maculopapular rash. ANKEM Derg. 2014;28(3):110–3.

67. Sahin-Eker B, Aktug-Demir N, Ozcimen S, Ozturk B, Ural O, Bitirgen M. Optic neuritis due to brucellosis: a case report. Klimik Dergisi. 2010;23(1):26–8.

68. Elidan J, Michel J, Gay I, Springer H. Ear involvement in human brucellosis. TheJournal of laryngologyandotology. 1985;99(3):289–91.

69. Kanmaz L, Karakeçili F, Çıkman A, Özçiçek F, Karavaş E. A case of brucellosis presenting with suppurative parotitis involvement. Kulak burun bogaz Ihtis Derg. 2016 Jul 2;26(4):234–7.

70. Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, Mulimani MS, K V, Kariholu P, 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.

71. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, and Michael A. Pfaller. medical microbiology. 2013.;314–316 p.

72. Dağlar, Duygu Eren; Baysan BÖ. İnsanda Brusella Enfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Tanı Yöntemleri. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilim Derg. 2014;3(2):46–8.

73. Aktaş O. Brusellozda laboratuvar tanı. ANKEM Derg 17. 2003;3:336–339.

74. Ruiz J, Lorente I, Pérez J, Simarro E, Martínez-Campos L. Diagnosis of brucellosis by using blood cultures. J Clin Microbiol. 1997(9):2417–2418.

75. Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis the value of bone marrow culture. J Infect Dis. 1986;153(1):122–125.

76. Rahbarnia L, Farajnia S, Naghili B, Saeedi N. Comparative evaluation of nested polymerase chain reaction for rapid diagnosis of human brucellosis. Arch Razi Inst. 2021;76(2):203–11.

77. Çiftci A, İça T, Savaşan S, Sareyyüpoğlu B, Akan M, Diker KS. Evaluation of PCR methods for detection of Brucella strains from culture and tissues. Trop Anim Health Prod. 2017;49(4):755–763.

78. Dal T, Açıkgöz Zc, Başyiğit T, Zeybek H, Durmaz R. Comparison of two commercial DNA extraction kits and PCR master mixes for the detection of brucella from blood samples and blood culture bottles. Mikrobiyol Bul. 2018;2018(2):135–46.

79. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. Lancet Infect Dis. 2007 ;7(12):775–786.

80. Koçoğlu E, Karabay O, İnce N. Value of serological screening for brucellosis. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2008;38:23–6.

81. Çİftçi C, Öztürk F, Öztekin A, Karaoğlan H. Comparıson of the serologıcal tests used for the laboratory dıagnosıs of brucellosıs. J Mater Process Technol. 2005;39(3):291–299.

82. Yula E, Özer TT, Motor VK, Yengil E, İnci M. Assesment of brucellacapt (ımmunocapture-agglutination) and rose bengal tests in human brucellosis. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2015;12(2):176–84.

83. Sarigul F, Erdenlig-Gurbilek S, Sayan M, Tekin S, Guducuoglu H, Keskin O. Brucella canis coinfections in patients with brucellosis. Klimik Dergisi.

2019;31(3):214–7.

84. Boon TH, Williams E. Diagnosis of brucellosis. Lancet. 1970;296(7662):51.

85. Casao MA, Smits HL, Navarro E, Solera J. Clinical utility of a dipstick assay in patients with brucellosis: correlation with the period of evolution of the disease. Clin Microbiol Infect. 2003;9(4):301–5.

86. Yörük F. Brusellozda tedavi. Turkiye Klin J Inf Dis-Special Top. 2012;5(1):77–82.

87. Karabay O. Korunma. Turkiye Klin J Inf Dis-Special Top. 2012;5(1):83–8.

88. Bronz O. Biyolojik savaş / terör ajanı olarak brusella.. Turkiye Klin J Inf Dis-Special Top. 2012;5(1):89–98.

89. Hsieh S-L, Lin W-W. Decoy receptor 3: an endogenous immunomodulator in cancer growth and inflammatory reactions. J Biomed Sci . 2017;24(1):39.

90. Uysal S, Toker A, Türkmen K, Keskin S. The role of decoy receptor 3 in inflammation and atherosclerosis in patients with chronic kidney disease and renal transplant patients. Nefrología. 2022;7.

91. Yeh C, Yang M, Lussier EC, Tsai H, Lo P, Hsieh S, et al. Low plasma levels of decoy receptor 3 (DcR3) in the third trimester of pregnancy with preeclampsia. Taiwan J Obstet Gynecol. 2019;58(3):349–53.

92. Lagou S, Grapsa D, Syrıgos N, Bamıas G. The role of decoy receptor dcr3 in gastrointestinal malignancy. Cancer Diagnosis Progn. 2022;2(4):411–421.

93. Tong J, Ao R, Wang Y, Chang B, Wang BY. Prognostic and clinicopathological differences of DcR3 in gastrointestinal cancer: Evidence from meta-analysis. Int J Clin Exp Med. 2014;7(9):3096–3105.

94. Hayashi S, Miura Y, Tateishi K, Takahashi M, Kurosaka M. Decoy receptor 3 is highly expressed in patients with rheumatoid arthritis. Mod Rheumatol 2010;20(1):63–68.

95. Gao L, Yang B, Zhang H, Ou Q, Lin Y, Zhang M, et al. DcR3, a new biomarker for sepsis, correlates with infection severity and procalcitonin. Oncotarget. 2018;9(13):10934–10944.

96. Lin Y-T, Yen C-H, Chen H-L, Liao Y-J, Lin I-F, Chen M, et al. The serologic decoy receptor 3 (DcR3) levels are associated with slower disease progression in HIV-1/AIDS patients. J Formos Med Assoc. 2015;114(6):498–503.

97. Lin S, Wu B, Lin Y, Wang M, Zhu Y, Jiang J, et al. Expression and clinical significance of decoy receptor 3 in acute-on-chronic liver failure. Biomed Res Int. 2019;2019:1-6

98. Ceciliani F, Ceron JJ, Eckersall PD, Sauerwein H. Acute phase proteins in ruminants. J Proteomics. 2012;75(14):4207–31.

99. Blairon L, Wittebole X, Laterre P. Lipopolysaccharide-binding protein serum levels in patients with severe sepsis due to gram-positive and fungal infections. J Infect Dis. 2003;187(2):287–291.

100. Meng L, Song Z, Liu A, Dahmen U, Yang X, Fang H. Effects of lipopolysaccharide-binding protein (lbp) single nucleotide polymorphism (snp) in ınfections, ınflammatory diseases, metabolic disorders and cancers. Front Immunol. 2021;12(July):1–12.

101. Chen K-F, Chaou C-H, Jiang J-Y, Yu H-W, Meng Y-H, Tang W-C, et al. Diagnostic accuracy of lipopolysaccharide-binding protein as biomarker for sepsis in adult patients: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2016;11(4):1-13

102. Opal SM, Scannon PJ, Vincent J, White M, Carroll SF, Palardy JE, et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (lps) and lps-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. J Infect Dis. 1999;180(5):1584–1589.

103. Pavcnik-Arnol M, Hojker S, Derganc M. Lipopolysaccharide-binding protein in critically ill neonates and children with suspected infection: comparison

with procalcitonin, interleukin-6, and C-reactive protein. Intensive Care Med. 2004 Jul 4;30(7):1454–60.

104. Vollmer T, Piper C, Kleesiek K, Dreier J. Lipopolysaccharide-binding protein: a new biomarker for ınfectious endocarditis? Clin Chem. 2009;55(2):295–304.

105. Cartier A, Hla T. Sphingosine 1-phosphate: Lipid signaling in pathology and therapy. Science. 2019 18;366(6463).

106. Obinata H, Hla T. Sphingosine 1-phosphate and inflammation. Int Immunol. 2019;31(9):617-625.

107. Chalfant CE, Spiegel S. Sphingosine 1-phosphate and ceramide 1-phosphate: expanding roles in cell signaling. J Cell Sci. 2005;118:4605–4612.

108. McGinley MP, Cohen JA. Sphingosine 1-phosphate receptor modulators in multiple sclerosis and other conditions. Lancet. 2021;398(10306):1184–1194.

109. Tsai HC, Han MH. Sphingosine-1-phosphate (S1P) and S1P signaling pathway: therapeutic targets in autoimmunity and ınflammation. Drugs. 2016;76(11):1067-1079.

110. Tian J, Huang T, Chang S, Wang Y, Fan W, Ji H, et al. Role of sphingosine-1-phosphate mediated signalling in systemic lupus erythematosus. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2021;156(August):106584.

111. Leong WI, Saba JD. S1P metabolism in cancer and other pathological conditions. Biochimie. 2010;92(6):716–723.

112. Cuvillier O. Les récepteurs de la sphingosine 1-phosphate. médecine/sciences. 2012;28(11):951–957.

113. Demirdağ K, Özden M, Kalkan A, Çelik İ, Kiliç SS. Bruselloz : 146 olgunun retrospektif. flora Derg. 2002;7(2):120–125.

114. Şahin M, Cesur S, Enki S. Eighty-three cases of brucella infection from an endemic region. Ortadoğu Tıp Derg. 2019;11(2):101–116.

115. Hull NC, Schumaker BA. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. InfectionEcology&Epidemiologyl. 2018 Jan 24;8(1):1500846.

116. Akgün S, Tarhan G, Sayıner HS. The identification of brucella species isolated from blood cultures in Adıyaman province. Ortadoğu Tıp Derg. 2017;9(4):150-154.

117. Hou Y-Q, Xu P, Zhang M, Han D, Peng L, Liang D-Y, et al. Serum decoy receptor 3, a potential new biomarker for sepsis. Clin Chim Acta. 2012;413(7–8):744–748.

118. Y. Jiang, S. B. Wang1, X. Liao1, Y. X. He1 YFQ. Decoy receptor 3 and ıts sıgnal pathway contrıbute to pathogenesıs ın ankylosıng spondylıtıs. Ann Rheum Dis. 2022;81(1):1186-1187.

119. Losanto J, Langjahr P, Graciela Barrios. Relationship between serum lipopolysaccharide binding protein levels, disease activity, and clinical characteristics in Paraguayan patients with systemic lupus erythematosus. SAGE Dergileri. 2021;30(13):2089–2094.

120. Winkler MS, Nierhaus A, Holzmann M, Mudersbach E, Bauer A, Robbe L, et al. Decreased serum concentrations of sphingosine-1-phosphate in sepsis. Crit Care. 2015;19(1):372.

121. Ikeda H, Ohkawa R, Watanabe N, Nakamura K, Kume Y, Nakagawa H, et al. Plasma concentration of bioactive lipid mediator sphingosine 1-phosphate is reduced in patients with chronic hepatitis C. Clin Chim Acta. 2010;411(9–10):765–770.

Ek 2. İntihal Raporu

Brusella tanısında Decoy Reseptör 3, Lipopolisakkarit Binding Protein, Sfingozin 1 Fosfat gibi enflamatuvar biyobelirteçlerin rolünün değerlendirilmesi

ORIGINALITY REPORT

9%	6%	1%	3%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	acikerisim.dicle.edu.tr Internet Source	4%
2	Submitted to Dicle University Student Paper	3%
3	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	1%
4	openaccess.firat.edu.tr Internet Source	1%
5	libratez.cu.edu.tr Internet Source	1%