

595

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

**BRUSELLOZ ŞÜPHESİ OLAN
HASTALARDA TANI ŞANSININ
ARTTIRILMASI VE TANIDA
KULLANILAN TESTLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Cemal ÇİFTÇİ

UZMANLIK TEZİ

T1595/1-1

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Latife MAMIKOĞLU

“ Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir ”

“ Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Tarafından
2002 04 0103.003 Proje No ile Desteklenmiştir ”

Antalya, 2004

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, aynı zamanda tezimin hazırlanmasının her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Latife Mamukoğlu'na teşekkür ederim

Yine uzmanlık eğitimim süresince yardım ve desteklerini her zaman gördüğüm Sayın hocam Doç. Dr. Filiz Günseren, Yar. Doç. Dr. Rabin Saba, Yar. Doç. Dr. Dilara İnan ve Prof. Dr. Ata Nevzat Yalçın'a teşekkür ederim

Merkez laboratuvarında çalışma imkanı sağlayan ve tez çalışmam sırasında yardımlarından ve desteklerinden dolayı Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalından değerli hocam Prof. Dr. Meral Güntekin'e ve her zaman desteklerini gördüğüm Yar. Doç. Dr. Dilara Ögünç'e, Yar. Doç. Dr. Gözde Öngüt'e, Doç. Dr. Dilek Çolak'a teşekkür ederim

Tezin yapılması aşaması başta olmak üzere her aşamasında sonsuz yardımlarını gördüğüm Dr. Feryal Öztürk'e ve asistanlığım süresince birlikte çalışma imkanı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim

Hayatımın her aşamasında desteklerini gördüğüm, hep yanımda olan anneme, ağabeyime, her iki ablama ve sevgili eşime teşekkürlerimi sunuyorum

Dr. Cemal ÇİFTÇİ

Antalya, 2004

İÇİNDEKİLER

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tarihçe	3
2.2 Epidemiyoloji	4
2.3 Morfoloji ve Boyanma Özellikleri	8
2.4 Patogenez ve Bağışıklık	10
2.5 Tanı	14
2.5.1 Rutin Laboratuvar İncelemeleri	15
2.5.2 Özgül Tanı Yöntemleri	15
2.5.3 Diğer Test ve İncelemeler	21
2.6 Klinik Tablolar	21
2.6.1 Akut Bruselloz	22
2.6.2 Subakut Bruselloz	22
2.6.3 Kronik Bruselloz	22
2.6.4 Organ ve Sistem Tutulumları	24
2.7 Tedavi	25
2.8 Önlemler ve Korunma	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1 Hastalar	29
3.2 Kan Kültürü	31
3.3 Serolojik Testler	31
3.3.1 Rose Bengal Testi	31
3.3.2 Standart Tüp Aglütinasyon (STA) Testi	31
3.3.3 Rivanol'lu Aglütinasyon Testi	32
3.3.4 Brusellozda Coombs Testi	33
3.3.5 ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)	34

4	BULGULAR	36
5	TARTIŞMA	45
	ÖZET	51
	KAYNAKLAR	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
Ig	İmmünglobulin
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
Ccb	Kokobasil
LPS	Lipopolisakkarit
RES	Retikulo Endotelyal Sistem
SSS	Santral Sinir Sistemi
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
PNL	Polimorfonükleer lökosit
ESR	Eritrosit Sedimentasyon hızı
CRP	C-Reaktif Protein
DIC	Disseminated intravascular Coagulation
RTD	Rutin Test Dilüsyonu
PCR	Polimeraz Chain Reaction
STA	Standart Tüp Agglütinasyon
IM	İntramüsküler
BUN	Blood Urea Nitrogen
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
TMB	Tetramethylbenzidine
Agg	Aglütinasyon
CELİSA	Competitive Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
A	Abortus
M	Melitensis

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
2 1. <i>Brucella</i> türleri ve rezervuar hayvanlar	4
2 2. Dünyada insan brusellozunda türler, konakçılar ve coğrafi dağılım	6
2 3. Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de son 33 yılda bruselloz vakaları ve ölümler	8
2 4. <i>Brucella</i> spp ile diğer gram negatif kokobasillerin ayrımı	10
2 5. <i>Brucella</i> izolatlarının ayrımında ana özellikler	11
2 6. <i>Brucella</i> türlerinin ayırıcı özellikleri	16
2 7. Brusellozun çeşitli formları arasında klinik farklılıklar	23
3 1. Tez çalışmasında kullanılan form	30
4 1. Hastaların olası klinik evreleri ve test sonuçları	37
4 2. Kan kültürü sonuçları ile Rose Bengal sonuçlarının karşılaştırılması	40
4 3. Kan kültürü sonuçları ile Tüp agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması	40
4 4. Kan kültürü sonuçları ile Coombs agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması	40
4 5. Kan kültürü sonuçları ile Rivanollü Tüp agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması	40
4 6. Kan kültürü sonuçları ile ELISA IgA sonuçlarının karşılaştırılması	41
4 7. Kan kültürü sonuçları ile ELISA IgM sonuçlarının karşılaştırılması	41
4 8. Kan kültürü sonuçları ile ELISA IgG sonuçlarının karşılaştırılması	41

4 9 Tüp agglütinasyon sonuçları ile Rose Bengal sonuçlarının karşılaştırılması	41
4 10 Tüp agglütinasyon sonuçları ile ELISA IgA sonuçlarının karşılaştırılması	42
4 11 Tüp agglütinasyon sonuçları ile ELISA IgM sonuçlarının karşılaştırılması	42
4 12 Tüp agglütinasyon sonuçları ile ELISA IgG sonuçlarının karşılaştırılması	42
4 13 Akut, subakut ve kronik olgularla Rivanol Agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması	42
4 14 Akut, subakut, kronik olgularda ELISA IgA sonuçlarının karşılaştırılması	43
4 15 Akut, subakut ve kronik olgularda ELISA IgM sonuçlarının karşılaştırılması	43
4 16 Akut, subakut ve kronik olgularda ELISA IgG sonuçlarının karşılaştırılması	43
4 17 Akut, Subakut ve Kronik olgularda Kan Kültürü sonuçlarının karşılaştırılması	44

1. GİRİŞ

Bruselloz, bir zoonoz olup, ilk kez 1887 yılında Sir Bruce tarafından *Brucella melitensis*'in keşfedilmesiyle tanımlanmıştır. Daha sonra sırasıyla *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis*, *Brucella canis* ve son yıllarda deniz memelilerinde gösterilen *Brucella maris* bulunmuştur (1). Koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların etleri, süt, idrar gibi vücut sıvıları, infekte süt ile hazırlanan süt ürünleri, infekte hayvanın gebelik materyali aracılığı ile insanlara bulaşabilen; titreme ile yükselen ateş, kas ve büyük eklem ağrıları ile seyreden bir hastalıktır (2). Bruselloz, insanlara hayvanlardan bulaşan, uzun süren genel semptomlarla seyreden önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastalığın klinik tablosunda hemen hemen tüm organlar tutulabilir ve oldukça değişik klinik formlar görülebilir. İnkübasyon süresi 2-3 haftadır (bu süre bir haftadan üç aya kadar değişebilir). Hastalar sıklıkla titremelerle yükselen ateş, gece terlemesi, halsizlik, baş ağrısı, miyalji, artralji gibi özgün olmayan yakınmalarla hastaneye başvururlar (3). Bu semptomlar birkaç gün veya 1 hafta kadar sürebilir, daha sonra yakınmalar azalır. Haftalık olarak ateşli ve ateşsiz dönemlerle devam eder, bu ateşe ondülan ateş denir. Ondülan ateş özellikle *B. melitensis* infeksiyonu sırasında daha net olarak izlenir.

Hastalık semptomların süresine göre; Akut (8 haftadan kısa), Subakut (8-52 hafta) ve Kronik (52 haftadan uzun) olarak sınıflandırılabilir (4). Hastalık bir yıldan uzun sürdüğü takdirde hastalığın kronikleştiği kabul edilir. Tanı oldukça güçtür. Kronik bruselloz dört şekilde ortaya çıkabilir:

- Hastalık sinsi seyir gösterebilir.
- Akut hastalığı izleyerek tekrarlayan nüks atakları olabilir.
- Hastalık lokalize organ tutulumları gösterebilir.
- Hastalık antimikrobiyal tedaviye yanıtızsız olabilir (5)

Kronik seyirli vakaların ortalama % 85'i asemptomatiktir. Bakterinin hemen hemen tüm vücutta ve intrasellüler bulunuşu tanıda bir çok karışıklıklara yol açar. Sistemik brusellozda ilk atakta tanı koymak nispeten kolay ise de nükslerde, kronik brusellozda ve eskiden komplikasyon olarak adlandırılan, fakat yeni anlayışa göre brusellozun değişik formları şeklinde nitelenen menenjit, spondilit, epididimit, orşit gibi tablolarda klinik bulgularla tanıya ulaşmak

olanaksız denecek kadar güçtür. Bu bakımdan brusellozda kesin tanı laboratuvara dayanılarak konulabilmektedir. Tüm infeksiyon hastalıklarında olduğu gibi brusellozda da etkene yönelik tanı sıklıkla bakteri izolasyonu ve serolojik testler ile konur. Ancak bu yollar ile her zaman sonuca ulaşılmaz. Örneğin kan kültürlerinde izolasyon şansı her zaman olmamaktadır. Buna neden olarak; hastanın antibiyotik kullanması, kandaki bakteri sayısının düşük olması gibi faktörler ileri sürülmektedir. Olgularda tam tedavi almalarına rağmen 3-6 ayda nüksler görülebilir. Saptanan nüksler antibiyotik direnci ile ilgili olmayıp invitro antibiyotik direnci farklı değildir. Oluşan antikorların koruyucu etkisi yoktur. Hastanın hücresel ve humoral yanıtı vardır. Hastalığın tanısı: klinik bulgular, nonspesifik olarak serolojik testler ve kesin olarak kan-kemik iliği-doku örneklerinden mikroorganizmayı izole etmekle olur. Ancak bakterinin geç üremesi ve öncesinde antibiyotik kullanımı gibi nedenler ile bakteriyolojik tanımlama olmadığı zaman, artan antikor titrasyonu tanıda kesin olarak kabul edilebilir. Kan kültürü, bruselloz tanısında hala standart bir tanı yöntemidir. Brucella bakterisi yavaş ürer, bu nedenle zengin besi yerine alınan kan örnekleri en az üç hafta bekletilmelidir. Otomatize kültür sistemlerinde bu süre 10 güne kadar kısaltılmıştır. Yapılan çalışmalarda kronik vakalarda, akutlara göre kemik iliğinde etkeni üretme oranının daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Bruselloz kuşkulu hastalarda; Rose Bengal Testi, Standart Tüp Aglütinasyon Testi, Coombs Tüp Aglütinasyon Testi, Rivanol Testi, ELISA ile IgA, IgG ve IgM testleri yapılarak bu serolojik testlerin birbirleriyle karşılaştırılmasını ve tanı şansının artırılmasını amaçladık.

Dünyada en yaygın görülen zoonozdur. Akdeniz havzası ülkeleri, Ortadoğu, Orta Amerika, Meksika ve Peru gibi birçok ülkede hiperendemik olarak görülür. Bruselloz ülkemizde endemiktir. Ülkemiz ve bölgemizde önemli bir sağlık sorunu olup, hastalar çeşitli klinik tablolarla farklı polikliniklere başvurmaktadırlar. Mevcut laboratuvar testlerinin yetersizliği nedeniyle tanısı ve dolayısıyla tedavisi gecikmektedir.

Amacımız, epidemiyolojik ve klinik önemi olan bu hastalığın, daha erken ve doğru tanımlanmasını sağlamak; pratik hekimlikte kullanılan testleri, güncel bilgiler kapsamında yeniden değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

Bruselloz dünyanın bir çok ülkesinde yaygın olarak görülen, ciddi ekonomik kayıplara neden olan ve pek çok ülke için önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam eden zoonotik bir hastalıktır. Titreme ile yükselen ateş, kas ve büyük eklem ağrıları ile seyreden ve infekte hayvanların etleri, sütleri, idrar gibi vücut sıvıları, infekte süt ile hazırlanan süt ürünleri, infekte hayvanların gebelik materyali aracılığı ile bulaşan bir hastalıktır. Dünyada 100 ülkeden yaklaşık her yıl 500 000 civarında yeni vaka bildirilmektedir (4). *Brucella* cinsi bakterilerle oluşan ve ondulan ateş, Malta humması, Akdeniz humması, Bang hastalığı gibi isimlerle bilinen bruselloz insan ve hayvanlarda ciddi klinik tablolara ve ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır (6).

2.1. Tarihçe

İlk olarak Bruselloz ilk kez 1860 yılında bir cerrah olan Marston tarafından tanımlanmıştır. 1887'de Sir David Bruce ateş, terleme, splenomegali, sık relaps, eklem ya da baş ağrısı, eklem şişliği ve orşit ile karakterize bir hastalık tanımlamış ve Malta hastalığından ölen askerlerin dalaklarından patojeni izole etmiştir. 1905'de Zammit kaynatılmamış keçi sütü kullanımının yasaklanmasıyla ordudaki infeksiyon ve ölümlerin azaldığını keşfetmiş ve keçileri *B. melitensis*'in rezervuarı olarak tanımlamıştır. *B. abortus*, düşük yapmış ineklerin intrauterin membranlarından veteriner hekim olan Bang tarafından Danimarka'da 1895'de izole edilmiştir (3, 5, 7). Ülkemizde 1915'de Kuleli Askeri Lisesi'ndeki askerlerde Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından tanımlanmıştır. Koyunlarda *B. melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında saptanmıştır. Ülkemizde sığırlarda ilk izolasyon 1931-1932 yıllarında Berke tarafından bildirilmiştir (5, 8).

Traum, domuzlardan 1914 yılında *B. suis*'i izole etmiştir. *B. suis* domuzlarda hastalığa neden olur. *B. canis* av köpekleri ve onların yetiştiricilerinde epidemik olarak Carmichael tarafından 1966 yılında tanımlanmıştır. *B. Ovis* 1953 yılında koyunlardan, *B. Neotomae* 1957 yılında ratlardan izole edilmişlerdir (2, 4, 9).

2.2. Epidemiyoloji

Bruselloz dünyanın bir çok ülkesinde yaygın olarak görülen, ciddi ekonomik kayıplara neden olan ve pek çok ülke için önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam eden zoonotik bir hastalıktır. Dünyada 100 ülkeden yaklaşık her yıl 500 000 civarında yeni vaka bildirilmektedir (4). Ülkemizde bruselloz, morbiditesi oldukça yüksek, ancak mortalitesi çok düşük bir infeksiyon hastalığıdır (2). Her yıl binlerce insan hastalığa yakalanmakta ve hastalık fizik yetersizliğe ve iş gücü kaybına neden olmaktadır. Çizelge 2.1’de *Brucella* türleri, konak ve diğer konaklar, insanlarda görülme sıklıkları gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. *Brucella* türleri ve rezervuar hayvanlar (Gotuzzo’dan, 4).

Türler	Konak	Diğer konaklar	İnsanlarda görülme sıklığı
<i>B. melitensis</i>	Keçi, koyun	Sığır, ceylan	+++++ (% 70)
<i>B. abortus</i>	Sığır, manda, çakal, sırtlan	At	+++ (% 25)
<i>B. suis</i>	Domuz, kurt, tilki	Sığır, geyik	++ (% 5)
<i>B. ovis</i>	Koyun	-	yok
<i>B. canis</i>	Köpek	-	az
<i>B. neotomae</i>	Çöl ağaç faresi	-	yok

Günümüzde bu hastalık; gelişmiş ülkelerde kontrol altına alınmış olmakla birlikte, gelişmekte olan ülkelerdeki prevalansı tam olarak bilinmemektedir ve bu bölgelerde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Prevalans, Akdeniz ülkeleri, Arap yarımadası, Asya, Hindistan, Meksika, orta ve güney Amerika’da daha sıktır. Ülkemizde hayvanlar arasında oldukça yaygın bir hastalıktır. Özellikle Ankara ovasında, Konya yöresinde, güneydoğu Anadolu’da Diyarbakır ve Urfa yörelerinde hayvanlarda yaygındır. Kırsal kesimde daha çok *B. Melitensis* infeksiyonu görülürken, büyük şehirlerde daha çok *B. Abortus* infeksiyonuna rastlanır. Hayvanlarda bruselloz ömür boyu kalıcı bir kronik infeksiyon oluşturur. *Brucella*’nın üreme organlarına yerleşmesi, başlıca belirtisi olan düşük ve kısırılığı açıklar. *Brucella* infekte hayvanların süt, idrar ve gebelik artıklarında bol miktarda bulunur. Bu nedenle bruselloz çiftçi, veteriner hekim, mezbaha işçileri ve laboratuvar personeli için bir meslek hastalığı olabilir. İnsanlara kesik ya da sıyrık deriden hayvanlarla ya da onların sekresyonlarıyla

direkt temas, infekte aerosollerin solunması ya da konjonktival bulaş, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleriyle bulaşabilir (3).

Bruselloz hipokrat zamanında humma olarak tanımlanmış ve ilk kez hastalığın kesin tablosu 1860 yılında Malta adasında İngiliz askeri cerrah Marston tarafından açıklanmıştır. 1887 yılında aynı adada Bruce, hastalığın etkeni olan *Brucella melitensis*'i bir hastanın dalağından izole etmiştir. Aynı yıl Wright ve Emple insan kanında *Brucella* aglütininlerini göstermiştir. Yine 1887 yılında Bang Danimarka'da sığırlarda bulaşıcı abortusun etkeni olan *B. abortus*'u izole etmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk insan olgusu 1906'da Washington'da bir hemşirede görülmüştür. *Brucella suis* 1914 yılında düşük yapan bir domuzdan Traum tarafından izole edilmiştir (10, 11). İnsanlar üç klasik türle de infekte olabilirler, ancak dünya genelinde vakaların çoğundan en invaziv ve patojenik tür olan *B. melitensis* sorumludur (4). Ülkemiz açısından da epidemiyolojik önemi olan tür *B. melitensis*'tir. Çizelge 2.2'de dünyada insan brusellozunda türler, konakçılar ve coğrafi dağılım gösterilmektedir.

Çizelge 2.2. Dünyada insan brusellozunda türler, konakçılar ve coğrafi dağılım (Gotuzzo'dan, 4).

Tür	Konakçı	Diğer konakçı	İnsanlarda görülme sıklığı	Dünyadaki coğrafi dağılım
<i>B. melitensis</i>	Koyun, keçi	Sığır	Vakaların % 70'i	Akdeniz ülkeleri, Arap yarım adası, Hint yarımadası, Latin Amerika, Orta ve Batı Avrupa, Batı ve Orta Asya ve Meksika'nın bir bölümü
<i>B. abortus</i>	Sığır, manda	At	Vakaların % 25'i	Avrupa, Batı Asya'daki bazı ülkeler, Kanada ve Japonya'nın kuzeyi
<i>B. suis</i>	Domuz, kurt	Sığır	Vakaların % 5'i	Amerika'nın güneyi, Güneydoğu Asya ve Latin Amerika

İnfeksiyon insanlara infekte hayvanların bakımları veya kesimleri sırasında ya da infekte hayvanın kontamine sütü veya süt ürünlerinin yenmesi ile bulaşır. Ülkemizde en çok çiğ süttten yapılmış taze peynir ve krema ile bulaş söz konusudur. Özellikle kırsal kesimde bazı yörelerde yaz aylarında sütler kaynatılmadan peynir mayası ile mayalanır veya santrifüj esasına dayalı yağ makinelerinden krema yağlar elde edilir. Kaşar ve tulum peyniri ile bulaşma olmaz. Yoğurt elde edilirken süt kaynatıldığı için ve mayalanma ile asit ortam oluştuğundan hastalık yoğurt ile bulaşmaz (2, 3, 4, 12).

Hastalığın insandan insana organ transplantasyonu veya cinsel temasla bulaşabileceği konusunda veriler yetersizdir; ancak teorik olarak bulaş mümkündür. Anne sütü ile brusellozun bulaşmadığı klasik kitap bilgilerinde yer alırken, 1995'te İtalya'dan yapılan bir bildiride anne sütünde *B. melitensis* izole edilmiş, ancak bulaş gösterilememiştir. Bunun yanı sıra 1998'de İspanya'dan bildirilen iki olguda ise anne sütüyle bulaş olduğu bildirilmiştir (13).

Türkiye'de ilk insan bruselloz vakası 1915 yılında Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi edilen bir askerde tespit edilmiştir. Ülkemizde ise, bruselloz endemik bir hastalıktır. Son on yıllık süreçte (1991-2000 yılları arası) Sağlık Bakanlığı'na bildirilen yıllık olgu sayısı ~9000'dir (insidans: 14/100.000). Wright testi ile toplumdaki seropozitiflik oranı % 1.8'dir (1054/58707) ve bu oran ülkemizde brusellozun daha da sık olduğunu düşündürmektedir (14). Hastalık hayvancılıkla uğraşanlarda ve veteriner hekimlerde, infekte hayvanların sekresyonlarıyla direkt temas sonucu eldeki açık yaralardan bulaşabilir. Gelişmiş ülkelerde, brusellozun endemik olduğu bölgelere yapılan seyahatlerden dönüşten kısa bir süre sonra hastalık, seyahat infeksiyonu olarak görülmektedir. Laboratuvar çalışanlarında bakterinin kültür işlemleri sırasında inhalasyonla veya deri bütünlüğünün bozulduğu yerlerden direkt temasla bulaşabilmektedir. Laboratuvar kaynaklı bakteri infeksiyonlarının en sık nedenidir. İnsan brusellozu, hayvanlarla yakın teması olan veteriner hekim, sağlık memurları, çiftçi, mezbaha işçileri, et sanayiinde çalışanlar gibi meslek gruplarının yanı sıra süt ve süt ürünlerini taze tüketme durumunda olanlarda daha sık görülür. Ülkemizde insan brusellozu her yaş ve cinste görülmektedir. Seropozitiflik oranı genel olarak % 2-6 arasında değişmektedir. Ülkemizde bruselloz seroepidemiolojisi konusunda en kapsamlı çalışma 1987 yılında yapılmıştır TÜBİTAK destekli bu projede toplumun çeşitli kesimlerinden alınan toplam 70.009 örnek incelenmiş, normal popülasyonda *Brucella* seropozitiflik oranı %1.8 bulunmuştur. Bu oran risk gruplarında %6'ya yükselmektedir. En yüksek pozitifliğin Diyarbakır, Konya ve Antalya yörelerinde olduğu belirlenmiştir (14). Hastalığın görülme oranı 15-35 yaş grubunda en yüksektir. Çocuklar infeksiyona büyükler kadar duyarlıdır. İlkbahar ve yaz aylarında insanların kırsal kesime seyahat etme olanaklarının artması, süt ve süt

ürünlerinden taze peynir ve krema tarzında taze yağları elde etme olanaklarının artması nedeniyle hastalığın görülme sıklığı da artar. Yine bu mevsimlerin hayvanların doğurganlık mevsimi olması ve abortuslar nedeniyle çevrenin kontamine olması da görülme sıklığını artırır. Bunun yanısıra zaman zaman hayvanlar arasındaki salgın hali, insanlardaki infeksiyon sıklığını artırır (15). Çizelge 2.3'te Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de son 33 yılda Bruselloz vakaları ve ölümler gösterilmektedir.

Çizelge 2.3. Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de son 33 yılda bruselloz vakaları ve ölümler (T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Şube Müdürlüğü Verileri, Ekim 2003).

Yıllar	Vaka Sayısı	Ölüm
1970-1979	753	3
1980-1989	13103	6
1990-1999	84646	22
2000-2002	44051	9

2.3. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Brucella spp. küçük, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz gram negatif kokobasildir (2, 3, 4, 5, 7, 9). 0.6-1.5 mm boyundadır. Bunlar aerobiktir, ancak bazı suşlar primer izolasyon için % 5-10 CO₂'ye ihtiyaç duyar. Organizmadan yeni ayrıldıklarında besi yerlerinde yavaş ürerler. Genelde kullanılan besi yerlerinde üremede güçlük gösterirler. Özellikle serum, gliserin ve glukozlu besi yerlerinde üremeyi tercih ederler. Kolonileri küçük, yuvarlak, kabarık, saydam, şebnem tanesi görünümünde, durdukça bazen esmer-kahverengi renk alan ve çabucak R kolonilerine dönüşen kolonilerdir (16).

Kolonileri hemolizsiz ve pigmentsizdir. Serum ya da kan eklenmesiyle kültürde üreme saptanır. In vitro yavaş ürer, primer izolasyon için 4 haftalık inkübasyon gerekebilir. Optimum üreme ısı 37 °C'dir. Katalaz pozitifdir. Ancak oksidaz, üreaz, H₂S yapımı değişkendir. Fakültatif intrasellüler parazittir (17). Evcil ve vahşi hayvanları infekte eder. DNA'nın G+C içeriği % 58-59 mol'dür. DNA-DNA hibridizasyonu brucellanın tüm tipleri arasında % 95'den fazla homoloji gösterir. *B. melitensis* ve multipl biyovarları tek tür gibi düşünülebilir. Pratikte konak özgüllüğünün farklılığıyla türlerin ayrımı daha kullanışlıdır.

Brucella suşları, 1957 yılında *Brucellaceae* ailesi içinde, 1974 ve 1984 yıllarında *Bordetella* gibi sınıfı belli olmayanlar arasında sınıflandırılmıştır. Moleküler ve genetik çalışmalar, bakterinin filogenetik olarak *Agrobacterium*, *Phyllobacterium*, *Ochrobactrum* ve *Rhizobium* ile yakın ilişkili olduğunu göstermiştir. Filogenetik olarak Brucella cinsi, bakterilerin *Rhizobiaceae* grubuna aittir. Ayrıca *Proteobacteria* sınıfının α -2 alt sınıfı ile yakın olarak alakalıdır. Filogenetik yapısı ile ilgili rRNA çalışmaları, doğada bulunan ve fırsatçı enfeksiyon yapabilen bir bakteri olan *Ochrobactrum anthropi* ile çok yakın olduğunu göstermiştir. Ayrıca *Vibrio cyclosites* 5S rRNA yapısı ile % 90'ın üzerinde benzerlik göstermektedir (18, 19).

Brucella'nın 6 türü vardır. Bunlardan 4'ü insanlarda enfeksiyona yol açar (1). *Brucella melitensis* çok virulandır ve insan enfeksiyonun çoğundan sorumludur. Hem *B. abortus* hem de *B. suis* evcil hayvanlarda brusellozun görüldüğü ülkelerde hastalığa neden olur (9).

Brucella bakterileri 60 °C'de ısıtılmakla 10 dakikada, % 1 fenol eriyiğinde ise 15 dakikada ölürler. Süt içinde 17 gün yaşadığı, tereyağında 142 gün kaldığı, dondurmalarda 1 ay, tuzlanmış domuz etinde 3 hafta, çeşme suyunda 8 °C'de 57 gün, 25 °C'de ise 10 gün canlılığını koruduğu, insan idrarında en az 7 gün, hayvan dışkısında açıkta 100 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay canlı kaldığı bildirilmiştir. Pastörizasyon sırasında çabuk ölmelerinin epidemiyolojik önemi vardır. Penisiline dirençli, sülfonamid, streptomisin ve tetrasiklinlere duyarlıdır (5). *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis*; A (abortus) ve M (melitensis) olarak isimlendirilen, ısıya dayanıklı, aglütinasyon reaksiyonlarından sorumlu, yüzey antijenlerine sahiptirler. *B. abortus* ve *B. suis*'te A antijeni fazla, M antijeni az, *B. melitensis*'te ise M antijeni fazla, A antijeni ise az miktarlardadır (5, 20). Çizelge 2.4'de Brucella spp ile diğer Gram Negatif basillerin ayrımı gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. *Brucella* spp ile diğer gram negatif kokobasillerin ayrımı (Shapiro'dan, 7).

Test	<i>Brucella</i> sp	<i>Bordetella</i> <i>bronchiseptica</i>	<i>Acinetobacter</i> spp	<i>Moraxella</i> <i>phenylpyruvica</i>	<i>Oligella</i> <i>ureolytica</i>	<i>Haemophilus</i> <i>influenzae</i>
<i>Brucella</i> antiserumuyla aglutinasyon	+	-	-	-	-	-
Oksidaz	+	+	-	+	+	+
Hareket	-	+	-	-	+/-	-
Ure	+	+	+/-	+	+	+/-
Nitrat redüksiyonu	+	+	-/+	+	+	NA ^b
Kanlı agarda üreme	+	+	+	+	+	-
Gram boyanma morfolojileri	Çok küçük ccb ^c hafif boyanma	Küçük basil ve ccb, belirgin boyanma	Büyük ccb, belirgin boyanma	Ccb, belirgin boyanma	Çok küçük ccb	Küçük ccb

^a*B. canis*'in oksidaz testi değişkendir ve *Brucella* antiserumuyla aglutine olmaz

^bNA; not applicable (uygulanamaz)

2.4. Patogenez ve Bağışıklık

Brucella spp. 0.5-0.7 µm eninde, 0.6-1.5 µm boyunda kısa basillerdir. Kokoid veya kokobasil formunda olabilirler. Gram negatif olarak boyanırlar. Taze kültürlerinden hazırlanan gram boyalı preparatlarda genellikle kokoid, bekleyen kültürlerde ise daha uzun olarak görülürler. Sıklıkla tek tek olarak, bazen ikili, kısa zincir veya küme yapmış halde de bulunabilirler. Hareketsiz ve sporsuzdur. Aerob bakterilerdir. İntrasellüler yaşama özelliği vardır. Katalaz ve genellikle oksidaz pozitiflerdir. DNA'daki G+C oranı % 58-59 arasındadır. *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis* kabul edilen türleridir. *B. melitensis*, koyun, keçi ve insanlarda, *B. abortus* öncelikle sığırdan enfeksiyon yapar. Türlerin ayrımında; konak dağılımı yanında, eritritol, CO₂ gereksinimi, thionin ve bazik fuksin gibi maddelerin değişik konsantrasyonlarında üreme, H₂S yapımı, üre hidrolizi ve değişik substratların oksidasyonundaki farklılıklarından yararlanılır (5, 16). Çizelge 2.5'te *Brucella* izolatlarının ayrımında ana özellikler gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. Brucella izolatlarının ayırımında ana özellikler (Shapiro'dan, 7).

Test	<i>B. abortus</i>	<i>B. melitensis</i>	<i>B. suis</i>	<i>B. canis</i>
Boya duyarlılığı				
Bazik fuksin	R ^a	R	S ^b	S
Tiyonin	S	R	R	R
Üre hidrolizi	>90 dakika	>90 dakika	<90 dakika	<90 dakika
H ₂ S üretimi	2-5 gün	Yok	1-6 gün	Yok
Tb fajıyla lizis	+	-	-	-
CO ₂ gereksinimi	+/-	-	-	-

^aR = Resistant ; ^bS = Sensitive

Brucella türlerinin majör antijenleri olan A ve M antijenleri, hücre duvarında yer alan lipopolisakkarit tabakasının O yan zincirinde (LPS-O) yer alan N-formyl perosamine'in farklı moleküler yapılanması ile oluşmaktadır. *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*, A ve M antijenlerine tek tek veya birlikte sahip olabilirler. Özellikle S koloni formu oluşturan suşlar A ve M antijenleri ile tiplendirilebilirler (17).

E. coli O157, *Salmonella* O:30, *Yersinia enterocolitica* O9, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae* bakterilerinin LPS-O yan zincirinde perosamine yer almaktadır ve Brucella spp S formunda koloni oluşturan suşlar ile çapraz pozitif aglutinasyon reaksiyonu oluşturmaları bu benzerlik ile açıklanmaktadır. Bununla birlikte, *Francisella tularensis* ile Brucella spp arasında çapraz reaksiyon olduğu halde, *F. tularensis* yapısında perosamine bulunmamaktadır. R tipi koloni yapan brucellalar ise, *Actinobacillus*, *Pasteurella*, *Pseudomonas* türleri ile çapraz agglutinasyon reaksiyonu verebilmektedir.

Genom büyüklüğü 2.37×10^9 dalton ve Brucella genomu, 2.1 ve 1.5 mbp büyüklüğünde iki kromozomdan oluşur. İki genomda da metabolik ve replikatif özellikler olduğu için plazmid olarak kabul edilmemektedir. Doğal plazmidlerinin olmadığı kabul edilmektedir. Ancak elektroporasyon ile çeşitli plazmidlerin transformasyonu olabilmektedir. Konjugasyon ve bununla ilişkili yapılar saptanmamıştır. Ancak, atipik *B. abortus* suşlarından elde edilen fajlar ile deneysel olarak transdüksiyon ile antibiyotik direnci aktarılmıştır.

B. abortus, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis* kabul edilen türler olup; *B. abortus*'un 7, *B. melitensis*'in 3 ve *B. suis*'in 5 biyovarı olduğu, diğerlerinin varyantları olmakla beraber biyovarlarının olmadığı kabul edilmektedir (21). Deniz canlılarından izole edilen farklı bir grup olan *B. maris* henüz klasifikasyonda yer almamaktadır.

Brucellaların besin gereksinimleri komplekstir. Aerob bakteriler olmakla beraber, bazı türleri, özellikle ilk izolasyonda artmış CO₂'e gereksinim duyar. 20-40°C arasında, optimal olarak 37°C'de ürerler. Fagositlerle sindirim sonrası, organizmalar lokal lenf nodlarında çoğalırlar. Enfeksiyon yayılımı hematojen yolla, dalak, lenf nodu, kemik iliği ve karaciğeri içeren Retikülo Endotelyal Sistem (RES)'e olur. Böbrek, kalp, SSS ve eklemleri içeren diğer dokulara lokalize olabilir.

İnsanlarda *Brucella* enfeksiyonu epitelooid hücre, PNL, lenfosit ve bazı dev hücreleri içeren küçük granülom formasyonu ile sonuçlanır (2). Bu granümatöz yanıt *Brucella abortus* enfeksiyonu için karakteristiktir. *B. melitensis* enfeksiyonunda granümatöz reaksiyon çok küçüktür fakat sıklıkla toksemi belirleyicidir. *B. suis* granümatöz reaksiyonu; sıklıkla dalak ve eklemlerdeki kronik apse formasyonu ile birlikte olur.

Brucella antijenlerine hipersensitivite ve endotoksinlere bağlı olarak kilo kaybı ve ateşi içeren brusellozun semptomlarının bazıları ortaya çıkar. Hastalığın akut fazının başlangıcında birkaç gün içinde *Brucella* LPS'ye karşı antikorlar oluşur ve reinfeksiyonun önlenmesinde önemlidir. Buna rağmen hücre aracılı immünite, kısmen aktive mononükleer fagositlerin ürünleri, düzelmede daha önemlidir.

Makrofajlar *Brucella* antijenlerini işleyerek T-lenfositlerine sunarlar. T-lenfositler lenfokinleri salarlar, böylelikle makrofajların bakterisidal mekanizmaları inaktive edilir. T-lenfosit lenfokinleri granülom formasyonu, enfeksiyon odağına kemotaktik hücre cevabını sağlar. Aynı zamanda hücre aracılı immünitenin gelişmesi çeşitli antijenlere karşı gecikmiş tip aşırı duyarlılık gösterebilir (9).

Brucella bakterisi; gastrointestinal sistem, deri, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra, ilk üremesini bölgesel lenf

bezlerinde (mezenterik, aksiller, servikal, supraklavikular) yapar. İlk üremesini bölgesel lenf düğümünde yaptıktan sonra hematojen yolla RES organlarına yayılır. Yerleştiği başlıca organlar; karaciğer, dalak, kemikiliği, böbrek, santral sinir sistemi, endokard, testis ve overlerdir (1, 2, 20). Pek çok enfeksiyon hastalığında olduğu gibi, brusellozda da, bakterinin konağa giriş yolu ve miktarı ile konağın immün durumu hastalığın seyri ile ilişkilidir. Polimorfonükleer lokositler, kemotaksis ile bakterinin giriş bölgesine taşınır. Normal insan serumunun bakterisidal aktivitesi düşüktür, ancak bakterinin fagosit olabilmesi için opsonize olmasına olanak sağlar. Brucellalar intrasellüler olarak yaşama ve çoğalma özelliğine sahip olan bakterilerdir. Hücre içinde yaşama, koruyucu immün cevabı önemli oranda etkiler. İntrasellüler bakteri enfeksiyonlarında, hümmoral immün cevabın yeri sınırlıdır. Konağın korunmasında hüccresel immün cevap ve T-lenfositler önemlidir. T lenfositlerin başlıca görevi, infekte makrofajlarda, antibakteriyel fonksiyonları aktive etmektir. İntrasellüler bakterilerde bu gerçekleşmez ve bakteri hücre içinde yaşamını sürdürür. Bakteri intrasellüler yaşama ve çoğalma özelliği nedeniyle, hematojen yayılım ile, karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi retiküloendotelyal sistemden zengin dokularda lokalize olur. Dalak hücrelerinde üremeleri hüccresel immüniteyi indükler. Bakterinin oluşturduğu klinik tablo, retiküloendotelyal sistemde yerleşme özelliği ile ilişkilidir. Bruselloz'da görülen ondulan ateş paterninin bakterinin ve lipopolisakkarit gibi bakteriyel ürünlerin periyodik olarak fagositik hücrelerden salınması sonucu olduğu düşünülmektedir (1).

Brucella spp S-LPS antijenine karşı antikor cevabı oluşur. Monoklonal ve poliklonal antikorlar ile yapılan çalışmalar, S-LPS antikorlarının kısa süreli koruma sağladığını ortaya koymuştur. S-LPS antikorları aynı zamanda hastalığın serolojik tanısında kullanılmaktadır (22). Wright aglutinasyon testi, immünglobilin izotiplerini ayırmadan total miktarı belirler, ancak 2-merkaptotanol uygulanması ile IgM tipi antikorlar haraplanarak, IgG ayırımı sağlanabilir. Hastalığın ilk haftasında IgM, 2. haftadan itibaren IgG tipi antikorlar oluşur. Zamanla IgM antikorları azalırken IgG yapımı devam eder. Tedavi ile IgG antikorları da azalır, iyileşme ile düşük düzeyini sürdürür. IgG titresinin düşmesindeki gecikme kronikleşme, yeniden yükselmesi relaps ile ilişkilidir.

O nedenle hastalığın izlenmesinde IgG antikorlarının takibi önemlidir. Bruselloz'da relaps ve rekürrenslerin, konakçının immün yanıtı ile organizmanın virülansı arasındaki denge ile kontrol altında tutulduğu düşünülmektedir (1). *B. melitensis*'in daha virülan olduğu kabul edilir (23). *B. melitensis*'te relapslar daha sık iken *B. abortus*'ta tedavi cevabı iyidir (8).

2.5. Tanı

Sistemik brusellozda ilk atakta tanı koymak nispeten kolay ise de nökslerde, kronik brusellozda ve eskiden komplikasyon olarak adlandırılan, fakat yeni anlayışa göre brusellozun değişik formları şeklinde nitelenen menenjit, spondilit, epididimit, orşit gibi tablolarda klinik bulgularla tanıya ulaşmak olanaksız denecek kadar güçtür (5). Tüm hastalıklarda olduğu gibi brusellozda da hastanın hikayesi, fizik muayenesi, radyolojik tetkikleri ve laboratuvar incelemeleri gereklidir. Brusellozda kesin tanı, ancak laboratuvara dayanılarak konulabilmektedir. Kesin tanı kan, kemik iliği veya doku örneklerinden *Brucella* spp'nin izolasyonuna bağlıdır. Kemik iliği kültürlerinden daha yüksek oranda izole edilir. Ancak modern kan kültür yöntemleriyle vakaların % 80'inde pozitif sonuç alındığından kemik iliği kültürüne genellikle gerek kalmamıştır. Bifazik Castaneda şişeleri subkültür süresince kontaminasyon riskini azaltmak için önerilir. Kültürler 37 °C'de ve 6 hafta süresince inkübe edilmelidir. Modern yarı otomatize kan kültür teknikleri (BACTEC, DUPONT gibi) *Brucella* spp'nin izolasyonu için uygundur ve birçok laboratuvar da kullanılır. Pozitif kültürler serum dekstrozu agar veya benzer besi yerlerine pasajlanmalıdır. Seçici besi yerleri insan kan kültürleri için gerekli değil, ancak kontamine materyal için gerekebilir. *Brucella* spp küçük, düz, şeffaf koloniler 48 saatten sonra 37 °C'de ve % 5-10 CO₂'li ortamda inkübe edildiklerinde saptanabilir (9, 24). Tür veya biyovar seviyesinde tanımlamanın epidemiyolojik yararı olabilir. Tür düzeyinde tanımlamalar Class III önlemlerle referans laboratuvarlarda yapılır (25).

Brusellozun laboratuvar tanısı; diğer infeksiyonların tanı yöntemlerinde olduğu gibi rutin laboratuvar incelemeleri ve özgül laboratuvar tanı yöntemlerini uygulamakla konulmaktadır (26).

2.5.1. Rutin Laboratuvar İncelemeleri:

Brusellozda sıklıkla eritrosit sedimentasyon hızında (ESR) ve C-Reaktif Protein (CRP) düzeyinde orta düzeyde artış, anemi, lökopeni, lenfomonositoz, nadiren trombositopeni, dissemine intravasküler koagülopati (DIC), pansitopeni şeklinde hematolojik bozukluklar ve karaciğer enzimlerinde artış gözlenmektedir (2). Beklenen bozukluk ve değişikliklere yönelik rutin testlerin yapılması önerilmektedir (26).

2.5.2. Özgül Tanı Yöntemleri :

Monofazik kan kültür metodu; klasik bir yöntem olup Brucella türlerinin üremesi için 30 gün gibi bir süre gerektirebilir. Üremenin saptanması amacı ile üç günde bir katı besiyerine pasaj yapmak gerekmektedir. Bu durum iş yükünü arttırdığı gibi uzun bir inkübasyonu süresi boyunca şişelerin saklanması gerektirir, kontaminasyona yol açabilir ve tanı gecikir. Ortalama üç haftada üreme saptanır (27). Bifazik kan kültür metodu; tekrarlayan pasajlarla kontaminasyon yapmaktan kaçınmak için Castenada tarafından geliştirilmiş katı ve sıvı besiyerlerinin aynı şişede olduğu kültür ortamlarıdır. Kan ekimi sıvı kısma yapılır. 2-3 günde bir eğmek suretiyle katı besiyeri yüzeyine bulaştırılıp yine dik durumda 37°C'de bekletilerek koloni oluşturmaları beklenir. İnkübasyondan sonra her 3 günde bir muayene edilir. Katı besiyerinde herhangi bir koloni görüldüğünde subkültür yapılır, eğer koloni yoksa inkübasyona ve 3 günde bir kontrole devam edilir. İnkübasyon 35 gündür. Çalışmalar 7-21 günde sonuç alındığını göstermiştir. Ortalama 10 günde üreme saptanır (27, 28, 29, 30).

Lizis santrifügasyon yöntemi; Bu yöntemde santrifüj aşamasında organizmaların konsantrasyonu sağlanır, ardından kan hücrelerinin ozmotik lizisi yapılır. Ekim agar besiyerine veya kan kültür şişelerine yapılır (27). 2-5 günde sonuç verir. Ancak otomasyon için uygun olmayışı, örneğin kapsamlı manüplasyon gerektirmesi, kontaminasyon ve laboratuvar personeli için risk oluşturmaları gibi dezavantajları vardır (31, 32).

Monofazik ve bifazik kültür metodları klinik laboratuvarlarda rutin olarak kullanılmaz. Onun yerine, otomatize kan kültür sistemi rutin klinik laboratuvarlarında kullanılır. Otomatize kan kültür sistemleri mikroorganizmaların metabolizması sonucu oluşan CO₂'in sürekli monitörizasyon ile kolorimetrik tespitine

dayanır. Birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan bu teknoloji ile rutin 7 günlük inkübasyon süresi *Brucella* türlerinin tespitini sağlar (31).

Brucella izolasyonunda geleneksel kültür yönteminde 30-35 gün olan inkübasyon süresi otomatize kan kültürü sistemlerinde çok kısalmıştır. Yagupsky, BACTEC NR 660 sisteminde, inkübasyon süresini 7 gün ile sınırladığında, kesin tanıli olguların % 78.8'ini yakalarken, süreyi 21 güne uzattığında, örneklerin tümünde üreme olduğunu belirtmiştir (33). Kan kültürlerinde izolasyon şansı her zaman olmamaktadır. Buna neden olarak; hastanın antibiyotik kullanması, kandaki bakteri sayısının düşük olması gibi faktörler ileri sürülmektedir. Gotuzzo ve arkadaşlarına göre antibiyotik kullanmış olanlarda kan kültürü ile % 50 olan izolasyon oranı, kemik iliği kültürü ile % 90'a ulaşmakta; antibiyotik kullanmayanlarda kan kültürü ile % 75 olan izolasyon oranı % 92,5'e yükselmektedir (4). Çizelge 2.6'da *Brucella* türlerinin ayırıcı özellikleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.6. *Brucella* türlerinin ayırıcı özellikleri (Erdenliğ'den, 34)

Tür	Koloni Morf	Serum ihtiyacı	Fajlarla lizis			Oksidaz	Üreaz
			Tb	R/C			
				RTD	10 ⁴ xRTD		
<i>B. melitensis</i>	Smooth	-	-	-	-	+	+
<i>B. abortus</i>	Smooth	- ^a	+	+	-	+	+
<i>B. suis</i>	Smooth	-	-	+	-	+	+
<i>B. neotomae</i>	Smooth	-	-	+	-	-	+
<i>B. ovis</i>	Rough	+	-	-	+	-	-
<i>B. canis</i>	Rough	-	-	-	+	+	+

^a*B. abortus* biyovar 2 seruma ihtiyaç gösterir.

Bruselloz tanısı için PCR tanımlanmıştır ama standardizasyon ve değerlendirmesi devam etmektedir. Antijen aranması diğer potansiyel tanı yöntemidir. Bruselloz için birçok serolojik test tanımlanmıştır. Bakterinin zor üreme özelliği, kanda intermittan olarak bulunması, hastanın önceden tedavi almış olması, klinik dönem gibi çeşitli nedenlerin etkisiyle bakteriyi kan, kemik iliği ve diğer dokulardan izole etmek her zaman mümkün olmayabilir (32, 35)

Seroloji kesin tanıyı koydurmasına rağmen ön tanıyı destekleyici ve hızlı sonuç veren bir tanı yöntemidir. Brusellozun laboratuvar tanısında yaygın olarak kullanılan serolojik testler kullanılmaktadır. Serolojik testlerin

duyarlılığı % 65-95 dolaylarındadır ama özellikle endemik bölgelerdeki olgularda özgüllüğü düşüktür (26)

Etkenin üremesinde ve izolasyonundaki güçlükler ve zaman alması, gerek hayvan gerekse insan brucellozunda serolojik tanı yöntemlerini daha kıymetli hale getirmiştir. Ancak hücre içi paraziti olmaları, blokan antikorların sıklığı, bazı bakterilerle çapraz serolojik reaksiyonlar vermiş olması, bazı olgularda antikor yanıtının oluşmaması; serolojik araştırmalarda gözlenen zorluklardır.

İnsan brucellozunun serolojik tanısında birçok serolojik test kullanılmaktadır; lam aglütinasyon (Spot test) deneyi, Rose Bengal testi, Standart Tüp Aglutinasyon (STA) testi, Rivanol testi, 2- mercaptoethanol testi, Coombs agglütinasyon ve kompleman birleşmesi testi, kompetitif ve standard ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) testi, rapid dipstick testi

Lam Aglütinasyonu Testi: Tam kan kullanılarak yapılan lam aglutinasyon deneyi, özellikle kitle taramalarında yoğun brucella bakteri süspansiyonundan hazırlanmış antijenin bir damlası üzerine, parmak ucundan alınan bir damla kan damlatıldığında, aglütinasyonun görülmesi prensibine dayanır. Bu testlerde bakterinin konsantrasyonu belli değildir. Alınan pozitif sonuçların standart tüp agglütinasyonu ile doğrulanması gerekmektedir (24).

Rose Bengal Testi: *B. abortus* S99 ya da S1119-3 suşundan hazırlanan ve özel teknikle Rose-Bengal boyası ile boyanan tamponlu tuzlu sudaki yoğun Brucella antijeni kullanılarak yapılan bir testtir. *Vibrio cholerae*, *Yersinia* infeksiyon-larında, lenfoma ve tüberkülozda yalancı pozitiflik görülebilir (27). Testi yapmak için bir cama 0.03 ml antijen konarak üzerine aynı miktarda hasta serumu damlatılır, el ile çevrildiğinde 4 dakikada sonuç verir (2) Pozitif sonuçlarda aglütinasyon görülür. Rose Bengal, Spot test gibi aglütinasyon yöntemleri, taramalarda özellikle asemptomatik olguların saptanmasında uygulanması kolay, ucuz, pratik testlerdir. Gerek Rose Bengal gerekse Spot deneylerinde olumlu bulunan serumların tüp deneyleri ile yeniden incelenmeleri gerekir (36).

Standart Tüp Aglütinasyon (STA) Testi: Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır (24). Brucella bakterileri hızlı antijen yapısı değiştirdiklerinden deneyde antijen olarak standart, iyi aglütinasyon veren kökenlerin S kolonilerinden üretilmiş, ısı ile öldürülmüş fenollü bakteri

süspansiyonları kullanılır (36) Sulandırımı yapılmış tüplerin üzerine, standart ısı ile öldürülmüş fenollü *B. abortus* S99 suşundan hazırlanmış bakteri süspansiyonundan eşit miktarda konur (5). Antijen ilavesinden sonra 37 °C’de kırksekiz saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda, tüpteki sıvının tamamen berrak olması negatif sonuç, tüpün dibinde yaygın bir kümeleşme şeklinde görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilir. 1/160 ve üzerindeki titrelerdeki pozitiflik anlamlı kabul edilmektedir (5). İki hafta sonra 4 kat titre artışı yine tanı için oldukça önemlidir (36). Normal kimselerde ve özellikle veteriner, kasap, çoban, mezbaha çalışanları, çiftçi gibi meslekleri olanların serumlarında 1/80-1/100 titresinde aglütininler bulunabileceğinden serumlar 56 °C’de yarım saat inaktive edilirse, bunların etkisi önlenabilir (5). Yine bruselloz için yapılan aglütinasyonlarda prezon olayına yani aglütinasyonun antikor fazlalığına bağlı olarak engellenmesi olayına sık rastlandığından yapılacak olan aglütinasyon deneylerinde sulandırımın oldukça ileri oranlarda yapılması gereklidir. *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*’e karşı antikorlar belirlenirken, *B. canis*’e karşı (S-LPS yapısında A determinantını bulundurmadiğinden) antikorlar belirlenemez. STA testi ile hem IgM hem de IgG yapısındaki total antikorlar gösterilir. STA ile yüksek antikor titreleri klinik bulgularla uyduğu takdirde tanı da sorun olmamaktadır. Ancak STA ile akut olgularda daha çok yanlış negatiflikler karşımıza çıkarken (prezon olayı, blokan antikorlar), subakut ve kronik olgularda aglütinin titrelerinin zaman zaman düşük kalabilmesi tanıda karışıklığa yol açar (39). STA testi *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* infeksiyonları ve *Vibrio cholerae* aşısı olanlarda, *Salmonella* O:30, *Escherichia hermannii*, *Escherichia coli* O:157, *Stenotrophomonas maltophilia*, *V. cholerae* O:1 ve *Y. enterocolitica* O:9 lipopolisakkaritleri ile çapraz reaksiyon verebilir (24). Ancak bu hastalarda titre genellikle 1/160’ın altındadır, nadiren 1/320 olur (1).

Prezon olayı; aglütinasyon, serumun düşük dilüsyonunda ve özellikle serumun yüksek titrede antikor içerdiği zaman maskelenebilir. Sıklıkla 1/20 dilüsyonda görülür, 1/80 ve üzerinde nadirdir. Prezon olayını önlemek için serumun 1/320’den daha çok dilüsyonu önerilir. Blokan antikorlar; Griffiths tarafından 1947’de tanımlanmıştır. Smooth LPS’ye karşı oluşan antikorlardır ve IgG₁ ve IgG₂ izotipleridir. Coombs aglütinasyon testi ile bu önlenir (27).

Coombs Testi: Ara sıra özellikle kronik brusellozda antikorlar blokan tiptedir. Antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglütinasyon reaksiyonu oluşturmamasını engelleyen mekanizmaların var olmasından dolayı aglütinasyon meydana gelmez. Bu antikorlar Coombs serumu (antihuman-globulin) kullanmak suretiyle ortaya çıkarılırlar (5). Bu amaçla STA uygulamasında aglütinasyon görülmeyen tüpler santrifüjde çevrilir, üç kez yıkanan çöktelde, Coombs reaktifi ilavesi sonucu aglütinasyon olup olmadığına bakılır (2). Blokan antikorlar olarak da tanımlanan bu tip immunglobulinlerin varlığında antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmek-tedir. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. STA'da alınan pozitiflik oranı ile karşılaştırıldığında bu test sonucu pozitif sulandırım oranında STA testine göre dört kat gibi bir artış gözlenirse test sonucu pozitif olarak değerlendirilir (24). Bu testin özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önemi vardır.

Rivanol veya 2- Mercaptoethanol Testi: IgM sınıfı antikorlar hastalığın ilk haftasından sonra ortaya çıkarlar, 3 ayda en yüksek düzeye ulaşırlar, sonra yavaşça azalır ve kaybolurlar. Ancak birçok olguda düşük düzeyde ve bazen yüksek düzeyde uzun süre kanda bulunabilirler. IgG antikorları ise hastalığın başlangıcından 3 hafta sonra yükselmeye başlarlar. 6-8 haftada en yüksek düzeye ulaşırlar. IgG antikorları kronik infeksiyon süresince uzun süre anlamlı düzeyde kanda bulunurlar. Süregen dönemde yalnız IgG antikorlarının ortaya çıkarılabilmesi için bu testler uygulanır. Her ikisi de IgM'deki bisülfid köprülerini kırarak ve antikorları depolimerize ederek bunların aglütinasyon etkinliklerini yok ederler. STA ile 2-mercaptoethanol veya rivanol testinde benzer titrelerin ortaya konması, olayın kronik olduğuna işaret etmektedir (1). 2-mercaptoethanol ile muamele edilmiş herhangi bir serum örneğinde 1/40 üstü titreler aktif infeksiyon olarak değerlendirilir.

Kompleman Birleşmesi testi: Antijen olarak Brucella bakterileri süspansiyonu kullanılır. Makro ve mikro teknik olarak yapılır. Blokan antikorlar da devreye girdiğinden Coombs testi kadar yararlı bir testtir. Kompleman birleşmesi deneyinde özellikle IgG'ler daha az oranda IgM'ler rol oynar. Bir süre sonra negatifleşen, bu nedenle geçirilmiş olguların belirlenmesinde yetersiz kalan

bu test, STA ile sonuç alınamayan kronik brusellozun tanısında uygundur. Ancak antikomplementer aktivitenin ortaya çıkması, kompleman gibi kararsız reaktiflerin kullanılması, hastalığın başlangıç dönemlerinde kompleman fiksasyonuna yanıtın tespit edilmesindeki yetersizlik ve teknik gereksinimler gerektirmesi, STA ile saptanan çapraz reaksiyonların kompleman birleşmesi testi için de geçerli olması gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir (24).

ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay): Bruselloz tanısında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. *B. abortus* smooth LPS, 18-kDa stoplazmik protein veya *B. melitensis* smooth LPS'in solit faz antijen olarak kullanıldığı ELISA yöntemi ile *Brucella* IgA, IgG, IgM antikorları kantitatif olarak hızlı ve duyarlı bir şekilde saptanabilmektedir (27). Brusellozun seyrinin belirlenmesinde özgül antikorların aranması hekime hastasına uygulayacağı tedavide yol gösterici olmaktadır (24). IgG ve IgA akut enfeksiyonun en iyi göstergesidir (9, 32). Arıza ve arkadaşları nüklü olgularda *Brucella* IgG ve IgA düzeylerinde ikinci bir yükselme olduğunu, IgG düzeyinin yüksek olarak devam etmesi durumunda, fokal enfeksiyondan şüphelenilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Duyarlı, özgül, hızlı ve çok sayıda örneğin bir arada incelenmesine olanak tanıyan bir teknik olmasına karşılık ELISA sonuçlarının değerlendirilmesinde henüz tam bir standardizasyon sağlanamamıştır. Son zamanlarda geliştirilen "competitive enzyme linked immuno sorbent assay (CELISA)'in özgüllüğü % 96.5-100, duyarlılığı ise % 94.8-100 arasında bulunmuştur (37). ELISA ile STA testinin yapılan karşılaştırmalı çalışmalarında, ELISA'nın daha üstün olduğu vurgulanmaktadır. Ancak STA testine göre pahalı bir yöntem olması ve her yerde bulunmaması dezavantajdır (1). Brusellozda başlangıçta spesifik IgM, 7-10 gün sonra spesifik IgG seropozitifliği görülür. Daha sonraki süreçte IgM azalırken IgG artışı devam eder. IgG antikorları düzelme döneminde yavaşça aylar içinde düşer, ancak birkaç yıl boyunca IgM antikorları düşük titrede kalmaya devam eder (9). Yeterli antimikrobiyal tedaviyi takiben, 3-6 ay içerisinde serum IgG titreleri 4-8 kat azalmaktadır. Daha sonra gelişecek IgA ve IgG titrelerindeki artış relapsı gösterir. Tedaviye rağmen IgG seviyelerindeki yavaş düşme veya yüksek seyir, relaps olmaksızın fokal enfeksiyon varlığını göstermektedir. Bu nedenle serolojik testler yalnızca tanı amaçlı değil, tedavi takip kriteri olarak da kullanılmaktadır (1, 5).

Bruselloz tanısında kullanılan serolojik test ne olursa olsun, konunun bir başka önemli yanı da, antijenin hazırlandığı bakteri türüdür. Yurdumuzda en sık görülen etken *B. melitensis* ve *B. abortus* türleridir; ancak kullanılan serolojik testlerin antijenleri *B. Canis* antikorlarını saptayamadığından, oran az da olsa *B. canis* enfeksiyonlarını saptayamıyor olabiliriz. Diker ve ark., Bursa bölgesinde 1984’de yaptıkları bir çalışmada 123 serum örneğinden 2 tanesinde *B. canis* antikorlarının 1/400 titrede olumlu olduğunu bildirmişlerdir. Bu da yukarıdaki tezi kanıtlar durumdadır (5, 37, 38).

2.5.3. Diğer Test ve İncelemeler :

Allerjik Deri Testleri: Hücresel immüniteyi gösterir. Özellikle hastalığın erken dönemlerinde, belirgin antikor yanıtı bulunmayanlarda allerjik tanı için bakterilerden elde edilmiş ve saflaştırılmış “Brucellergen” (nükleoprotein kompleksinden oluşmuş) deri içine şırınga edilir. 24 saat içinde kızartı, ödem ve sertlik şeklinde görülen reaksiyon pozitif olarak kabul edilerek, bu kişilerin brucella’lara karşı aşırı duyarlı oldukları anlaşılır. Hastaların bir çoğunda bu test pozitif ise de, negatif olması, bruselloz tanısından uzaklaştırmaz (5).

Radyolojik İncelemeler: Kemik yerleşimleri için gereklidir. Basit radyografi, kemik sintigrafisi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans yöntemi ile yapılır. Sintigrafi sakroiliak ve omur tutuluşlarında, spinal ve ekstra spinal yerleşimlerde, erken hastalık periyodunda değerli bir araçtır. Lezyon bölgelerinde radyoaktif tutuluş artmaktadır. Bilgisayarlı tomografi enfeksiyonun spinal lezyonlarında ve spinal kanala geçişinde daha yararlı olmaktadır. Manyetik rezonans yöntemi ile özellikle spondilitler vertebra posteriordaki ve spinal kanal yakınındaki lezyonlarda daha duyarlıdır (26).

2.6. Klinik Tablolar

Bruselloz sistemik bir enfeksiyon hastalığı olmasına rağmen birçok farklı kliniklerle karşımıza çıkabilmektedir. Klinik belirti ve bulgular çok çeşitlidir. Hastalık oldukça geniş bir semptomlar ve bulgular yelpazesine sahiptir. Ateş, gece terlemesi ve eklem tutulumu olan kişilerde ilk akla gelmesi gereken hastalıklardandır. Semptomların süresine göre bruselloz üç farklı klinik formda ele alınabilir: akut, subakut, kronik (25, 29). Ayrıca asemptomatik, subklinik,

fokal tutulumlu, relaps veya reinfeksiyon şeklinde de görülebilir. Komplikasyonlarıyla da ortaya çıkabilir.

2.6.1. Akut Bruselloz

Hastalık belirtilerinin başlamasından sonraki sekiz haftalık süreye kadar olan dönemdir. Klasik seyirli vakalarda hastalık 2-3 haftalık bir inkübasyon süresine sahiptir. Bu sürenin sonunda hafiften çok ağır seyirli toksik bir tabloya kadar değişik klinik şekillerle kendini gösterir. Hastaların yaklaşık yarısı akut başlangıç gösterir. Bu vakalarda klinik olarak tanı koymak kolay değildir. Özellikle risk gruplarında görülen yüksek ateş, terleme ve yaygın vücut ağrıları varlığında brusellozda ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Genellikle öğleden sonra yükselen intermittant veya remittan karakterde bir ateş görülür. Ateş, üşüme titreme ile yükselir, gece yarısından sonra bol terleme ile düşer. Ateş 7-10 günde yavaş yavaş düşer ve 3-5 günlük ateşsiz dönemden sonra tekrar aynı ateş periyodu görülür. Tarif edilen bu ateş şekli, bruselloz için tipik ondülan ateş trasesi olarak tanımlanır (39). Ondülan ateş, özellikle *B. melitensis* infeksiyonu sırasında daha net olarak izlenir (1). Ancak pratikte ondülan ateşe sık rastlanmamaktadır. Çocuklarda ondülan ateş genellikle görülmez. Erişkinde ise uzun süre tedavisiz hastalığı olanlarda daha çok rastlanır.

Akut brusellozda, *Brucella* cinsi bakteriler tam otomatize hemokültür sistemlerinde ilk 7 gün içinde yüksek oranda üreyebilmektedirler (8, 40). Buna karşın, kültür pozitiflik oranı hastalığın süresine ve öncesinden antibiyotik kullanıp kullanmadığına bağlı olarak değişebilmektedir (3).

2.6.2. Subakut Bruselloz

İki aydan bir yıla kadar devam eden hastalık dönemine denir. Akut bruselloz vakalarının tedavi edilmeyen bir kısmı subakut döneme geçebilir ya da hastalık subakut şekilde başlayabilir. Orta derecede artrit ve epididimoorşit bu dönemde daha sık görülür.

2.6.3. Kronik Bruselloz

Semptomların tanıdan sonra bir yıldan daha fazla sürmesidir. Belirtiler genellikle çok ağır değildir, semptomlar siliktir. Klinik tanı oldukça güçtür.

Yaklaşık % 85 vaka asemptomatik seyirlidir. Relaps ve komplikasyonların en çok görüldüğü dönemdir. Kronik form çocuklarda nadirdir. Erişkinlerde baş ağrısı, halsizlik, depressif ataklar, uykusuzluk, emosyonel labilite, kronik yorgunluk sendromu ile kendini gösterebilir. Hafif derecede lenfadenopatiler vardır. Fizik bulgular akut veya subakut vakalardaki kadar zengin değildir. Kronik bruselloz gelişimi temel olarak dört şekilde ortaya çıkabilir: 1-Sinsi seyir, 2-Akut hastalık sonrası tekrarlayan relapslar, 3-Kalıcı hastalık, 4-Fokal organ tutulumları. Genellikle relaps hastalıktan 3-6 ay sonra gelişir. Tedavili veya tedavisiz iyileştikten sonra yeniden akut olarak başlar. Yüksek ateş veya daha şiddetli semptomlarla seyredebilir. Relaps ve reinfeksiyonun ayırt edilmesi zordur. Hastalarda humoral ve hücrel cevap olduğu halde oluşan antikorların koruyuculuğu yoktur. Fokal Bruselloz; Bruselloz lokal bir organı tutabilir. Fokal bruselloz; genellikle sistemik hastalığın belirli bir organda daha fazla yakınma yada komplikasyonunun göstergesidir. Hemen her sistem fokal olarak tutulum gösterebilir (29). Çizelge 2.7’de brusellozun çeşitli formları arasındaki klinik farklılıklar gösterilmiştir

Çizelge 2.7. Brusellozun çeşitli formları arasında klinik farklılıklar

Bulgular	Akut form (< 8 hafta)	Ondülan form (<52 hafta)	Kronik form (>52 hafta)
Yaş	Genç erişkin, çocuk	Genç erişkin	40 yaş üstü yetişkin
Artralji	Sık, ++	Sık, +++	oldukça sık, +++
Yüksek ateş	% 95	% 50-70	yok
Hepatomegali	% 66	% 50	oldukça az
Splenomegali	% 50-70	<% 40	nadir
Hematolojik tutulum	ara sıra	sık	nadir
Psikiyatrik rahatsızlık	yok	ara sıra	depresyon, nevristeni
Üveit	yok	nadir % 1-2	sık, % 5-10

2.6.4. Organ ve Sistem Tutulumları

Osteoartiküler tutulum; Brusellozun en sık görülen fokal formudur (30). Kemik ve eklem yakınmaları tüm brusellozlu hastaların % 20-60'ında rastlanır (25). Eklem bulguları hastalığın 3 ve 4. haftasında en siktir. Spondilit yaşlılarda, sakroileit ise daha çok gençlerde görülür. Spondilit genellikle hastalığın 1.-2. ayında ortaya çıkar. En sık lumbal ve torasik vertabraları tutar. Sırt ve bel ağrısı olan hastaların çoğunda sakroileitis vardır. Periferik artrit de siktir. Diz ve kalça eklemleri en sık tutulurlar.

Sinir sistemi; Nörolojik tutulum sıklığı % 2-25 arasında bildirilmiştir. Meningoensefalit, myelit, periferik nöropati, radikülit, nevrit şeklinde ortaya çıkabilir (41). Kronik hastalarda depresyon ve mental bozukluklar olabilir. Merkezi sinir sistemi tutulumu hastaların yaklaşık % 2-5'de görülür. Kendini genellikle meningoensefalit şeklinde gösterir. Brucella menenjitinde, beyin omurilik sıvısı (BOS) incelendiğinde; lenfosit ağırlıklı beyaz küre artışı, protein artışı, normal veya hafif azalmış şeker düzeyi görülür. BOS'tan bakteri izolasyonu oldukça zordur ancak spesifik antikorlar gösterilebilir. BOS ile yapılacak Wright testi oldukça yardımcıdır. BOS antikor seviyesi kandakinden daha düşüktür.

Gastrointestinal sistem; Vakaların % 70'inden fazlasında gastrointestinal sistem tutulumu olur. İştahsızlık, karın ağrısı, bulantı, kusma, diyare veya kabızlık olabilir. Akut veya kronik seyirli vakaların % 30-60'da karaciğer enzimlerinde 1,5-2 kat artış vardır. Hastaların % 15-60'ında yumuşak ve hassas bir hepatomegali bulunur. Karaciğer enzimleri yüksek olan vakaların % 20-60'ında hepatomegali, akut hastalıkta % 90 nonspesifik hepatit mevcuttur. B. abortus enfeksiyonu granülomlar ile karakterizedir, sarkoidoza benzer. B. melitensis ile viral hepatite benzer şekilde diffüz inflamasyon, parankimde yama tarzında nekroz odakları ve çevresinde mononükleer hücre birikimi olur (30).

Ürogenital sistem; Ürogenital tutulum nadir olmayan klinik formlardan biridir. En sık rastlanan ürogenital sistem tutulumu tek taraflı daha sık olmak üzere epididimoorşittir (% 2-20). Epididimoorşit tekrarlayabilir. Prostatit'de görülebilir.

Renal tutulum; akut piyelonefrit veya akut nefrite benzeyen geçici atak şeklinde olabileceği gibi, fokal veya diffüz glomerulonefrit şeklinde de olabilir.

Glomerülonefrit gelişenlerde proteinüri, hematuri, yan ağrısı, azotemi, piyüri ile karakterize endokardit ile birlikte üriner sediment anormallliği görülür. Gebe kadınlarda ilk trimesterde bu hastalığa bağlı olarak nadiren abortus görülür. Bu komplikasyon diğer bakteriyel infeksiyonlarda olduğundan daha fazla değildir (30).

Deri ve yumuşak doku; Brusellozlu hastaların % 5'inde cilt bulguları bulunabilir. Çoğu nonspesifik geçici olan eritema nodosum, raş, peteşi, purpura ve kutanöz vaskülit tanımlanmıştır (25, 42).

Kardiovasküler sistem; Hastaların % 1-2'sinde kardiovasküler tutulum bildirilmiştir. Bruselloz sırasında endokardit, myokardit ve perikardit gelişebilir. Bazen bu pankardit şeklinde de olabilir. Endokardit % 2'den az vakada görülmektedir ve fokal burusellozun en sık ölüm nedenidir. En sık aort, sonra mitral kapak tutulur.

Solunum sistemi; İnhalasyonla veya bakteriyemi sonucu etken akciğere yerleşebilir. İnfluenza benzeri semptomlarla, kuru veya yaş öksürük olabilir. Öksürük her zaman akciğer tutulumunu göstermez.

Hematolojik tutulum; Brusellozun hematolojik komplikasyonları hafif anemiden hipersplenizme bağlı pansitopeniye kadar geniş bir spektrum gösterir. Tek başına bir hücre serisinin etkilenmesi daha sıktır. Özellikle anemi sık olarak görülebilir. Daha az olarak bu belirgin hemolitik anemi şeklinde olabilir. Çok nadir olarak dissemine intravasküler koagülasyon gelişebilir. Hastalarda burun kanamaları ve purpurik döküntüler olabilir. Lenfadenopati % 10-20 vakada tespit edilir.

Göz tutulumu; Çok nadir görülen bir klinik formdur. Bruselloz, gözün tüm tabakalarını tutabilir. Papillit, papilla ödemi, keratit, retinopati, endoftalmit, nevrit ve üveit yapabilir (41).

2.7. Tedavi

Brusellozda tedavi, Dünya sağlık örgütü'nün de önerdiği şekilde ikili, bazı durumlarda üçlü kombine antibiyotik uygulanması şeklindedir. Tek antibiyotik kullanımının tedavi başarısızlığına yol açma nedenleri; hızlı direnç gelişimi ve bakterinin intrasellüler olarak çoğalabilmesi nedeniyle tek ilacın yetersiz kalarak relapsa yol açmasıdır (2). Brusellozun antimikrobiyal tedavisi semptomları

hafifletir, hastalık süresini kısaltır, komplikasyonların insidansını azaltır ki bazen bruselloz yaşamı tehdit edici olabilir. Çeşitli ajanlar brucellaya karşı etkilidir, invitro duyarlılık test sonuçlarıyla her zaman klinik etkinlik önceden kestirilemez. Örneğin β -laktam antibiyotikler in vitro aktif olmasına karşın sıklıkla klinik olarak etkisizdir. Brucellanın intrasellüler lokalizasyonunun antimikrobiyallere karşı biraz koruma sağladığına inanılır ve ilaçların iyi intrasellüler penetrasyonu tedavi için gereklidir.

Tetrasiklinler bruselloz tedavisinde en etkili ilaçlar arasındadır yine de tek ilaçla tedaviyle relaps oranı kabul edilemez yüksekliktedir ve genellikle kombinasyon tedavisi önerilir. Birçok çalışma göstermiştir ki, tetrasiklin (500 mg günde 4 kez oral) 6 hafta ve streptomisin (1 g/gün IM) ilk 3 hafta kombinasyonu en etkili tedavidir. Doksisiklin aynı derecede etkinliği, daha az sıklıkta alınması (200mg/gün) ve gastrointestinal yan etkisinin daha az olmasından dolayı tetrasiklin analoglarından tercih edilenidir. 1986'da WHO doksisiklin (200 mg/gün) ile rifampin (600-900 mg/gün oral) 6 hafta boyunca kombinasyonunun kullanılmasını kombinasyonda tercih olarak önermiştir. Daha sonra doksisiklin-rifampin ile doksisiklin-streptomisin kombinasyonunun karşılaştırıldığı çalışmalarda özellikle spondilit gibi komplikasyonları olan hastalarda ikinci kombinasyon tedavisinin daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla beraber rifampinin hamilelikte bruselloz tedavisinde etkili olduğu rapor edilmiştir. Çalışmalarda diğer ajanlarla in vitro ve klinik kullanımda sinerjistik etki ortaya çıkmasıyla tedavi rejiminde bir aminoglikozid bulunması önerilmiştir. Her ne kadar birçok çalışmada aminoglikozid tercihi olarak streptomisin kullanılmışsa da yerine gentamisin'in kullanılması kaçınılmaz sonuçtur. Gentamisin in vitro daha aktif, daha az toksik ve günde tek doz verilmekte ve bununla birlikte gentamisin kullanımı için optimal program halen belirlenmemiştir ve iki ajanın karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bruselloz tedavisinde trimetoprim-sulfametaksazolün kullanımı başlangıçta heyecan verici olmuşsa da daha sonra karşılaştırmalı çalışmalar kabul edilemez yükseklikte bir relaps oranını ortaya çıkarmıştır. Bununla beraber tetrasiklinlerin dişleri boyamasından dolayı kontrendike olduğu 8 yaş altı çocukların tedavisinde bir aminoglikozidle trimetoprim-sulfametaksazol

kombinasyonu başarılı sonuçlar vermiştir. Çocuklarda relaps oranı düşük ve kronikleşme az olduğu için tedavi süresi kısadır (43). Sekiz yaşın üzerindeki çocuklarda üç hafta süreyle doksisisiklin (5 mg/kg/gün) veya oksitetrasikline (30 mg/kg/gün) ek olarak ilk beş gün gentamisin (5 mg/kg/gün) önerilmektedir (2). Benzer şekilde kinolonların kullanımı in vitro aktivite ve iyi hücre içi penetrasyonuna rağmen hayal kırıklığı olmuştur. Sonuç olarak kinolonlar ek ajan olarak saklanmıştır.

Menenjit ve endokardit gibi komplikasyonların tedavisi problem olmaktadır. Birçok otör, doksisisiklin kombinasyonu ile iki veya daha fazla ilacın kullanımını, tedaviye yanıtı bağlı olarak birkaç ay tedavinin sürdürülmesini önermektedir. Doksisisiklin kan-beyin bariyerini en iyi geçen tetrasiklindir, menenjit ve endokarditte trimetoprim-sulfametaksazol ve rifampinle başarıyla kullanılmıştır (44). Üçüncü kuşak sefalosporinler de BOS'a yüksek konsantrasyonda geçer fakat *Brucella spp*'in duyarlılığı değişkendir ve in vitro duyarlılık gösterilmelidir. *Brucella* endokarditli vakalarda tek başına antibiyotikler tedavi sağlasa da birçok vakada medikal ve cerrahi yaklaşım kombinasyonu gerekir (44, 45).

Kontrollü çalışmaların olmayışına rağmen kortikosteroidler nörobrusellozda sıklıkla önerilir, bunların etkinliği ispatlanmamıştır (3). Nörobrusellozda kortikosteroidler, antimikrobiyal tedavinin yanında beyin ödemi gidermek, yapışıklıkları önlemek amacıyla verilebilir (2).

2.8. Önlemler ve Korunma

İnsan brusellozundan korunmada ideal yol evcil hayvanlarda hastalığın elimine edilmesidir. Bu çeşitli ülkelerde başarılmıştır. Evcil hayvanlarda brusellozun azaltılması için duyarlı hayvanların aşılması eradikasyon kampanyaları ile amaçlanmıştır. *B. abortus* 19 suş aşısı ineklerde, *B. melitensis* Rev-1 suşu koyun ve keçilerde uygulanır. Kampanyanın ikinci fazı ineklerin kan veya sütlerinde serolojik testler, koyunlarda ise deri testleri ile infekte hayvanların saptanmasıdır. İnfekte hayvanlar itlaf edilmeli ancak sahipleri ekonomik olarak desteklenmelidir. Hayvan hareketleri yoğun bir şekilde kontrol edilmelidir. Özellikle kırsal kesimde yaşayan halk bilinçlendirilmeli, çiğ süttten peynir ve yağ yapımı önlenmelidir (1, 2, 8, 12, 20, 46).

Eradikasyonun sağlanamadığı durumlarda insanlarda infeksiyon riskini minimale indirmek için meslek riski olanların koruyucu kıyafet, eldiven, maske ve gözlük kullanması sağlanmalıdır. Yeni doğum yapan yada düşük yapan hayvanlarla uğraşıldığında bu önlemler kısmen önemlidir.

Geçmişte canlı atenüe hayvan aşıları bruselloz için yüksek riskli çalışanlara yapılırdı. Ancak bu aşılar insanlarda infeksiyona yol açabilir ve bu yüzden de idealden uzaktır. *B. melitensis*in pür mutandları üzerine son çalışma hayvanlarda umut vaat eden sonuçlar vermiştir. Fakat insanlarda klinik tecrübe yoktur. *Brucella* spp 60 °C' de 10 dakikada öldürölür. Kaynatılmış ya da pastörize edilmiş sütte geçiş riski yoktur.

Laboratuvar geçişli enfeksiyonları önlemek için tüm kültür ve *Brucella* spp ile infekte olabilecek materyaller 3. seviye laboratuvarında ve kategori 1 veya 3 güvenlik kabinlerinde çalışılmalıdır (9).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Eylül 2001-Eylül 2003 tarihleri arasında, 2 yıl süre zarfında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran, klinik olarak brucelloz şüpheli hastalar çalışmaya alındı. Her hasta için Brucelloz Tanı Formu dolduruldu. Hastaların ateşli olup olmamasına bakılmaksızın her hasta için 2 kan kültür şişesine ayrı koldan alınan kan örnekleri ekildi. Daha sonra çalışılmak üzere her hastadan yaklaşık 10 ml kan alındı ve serumu ayrılarak çalışma yapılncaya kadar -70°C 'de saklandı. Test sonuçları; Fisher's Exact testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

3.1. Hastalar

Çalışmaya Eylül 2001'den Eylül 2003'e kadar olan dönemde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji kliniğine başvuran brucelloz şüpheli hastalar dahil edildi. Ayrıca İç Hastalıkları, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, Nöroloji ve Nöroşirürji anabilim dallarının polikliniklerine başvuran veya servislerinde yatan brucelloz şüpheli hastalar da dahil edildi. Her hasta için hastanın genel bilgilerinin, semptomlarının, bulgu, komplikasyonlarının, rutin biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvar sonuçlarının yer aldığı Brucelloz Tanı Formu oluşturuldu. Hastalık semptomların süresine göre; akut (8 haftadan kısa), subakut (8-52 hafta), kronik (52 haftadan uzun) olarak sınıflandırıldı.

STA, Coombs Agglütinasyon ve Rivanol Agglütinasyon için klinik ile birlikte 1/80 ve üzeri, ELISA IgA-IgM-IgG için Cut-off değerinin üzerindeki pozitiflik anlamlı kabul edildi.

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan form.

BRUSELLOZ TANI FORMU

HASTA NO:

AKUT:			
SUBAKUT:			
KRONİK:			
GENEL BİLGİLER			
AD:	YAŞ:	BÖLÜM:	TARİH:
SOYAD:	CİNSİYET:	MERKEZ:	ADRES:
DOSYA NO:	MESLEK:	MERKEZ DIŞI:	TELEFON:
SEMPTOMLAR			
ATEŞ:	ÜŞÜME-TİTREME:	EKLEM AĞRISI:	KAS AĞRISI:
KİLO KAYBI:	İŞTAHSIZLIK:	HALSİZLİK:	TERLEME:
BULANTI:	KUSMA:	KARIN AĞRISI:	BAŞ AĞRISI:
İSHAL:	KABIZLIK:	BENZER KLİNİK TABLO:	DİĞER:
BULGULAR VE KOMPLİKASYONLAR			
TAZE PEYNİR YEME:	ÇİĞ SÜT ve SÜT ÜRÜNLERİ TÜK.:	HAYVAN BESLEME:	SEYAHAT:
OMURGA HASSASİYETİ:	ARTİRİT:	SAKROİLEİT:	SPONDİLİT:
HEPATOMEGALİ:	SPLENOMEGALİ:	LENFADENOPATİ:	MAKÜLOPAPÜLER DÖKÜNTÜ:
EPİDİDİMOORŞİT:	MENENJİT:	ENSEFALİT:	PERİKARDİT:
ENDOKARDİT:	MİYOKARDİT:	KERATİT:	ÜVEİT:
RETİNOPATİ:	OFTALMOPATİ:	DİĞER:	
LABORATUVAR			
ANEMİ:	LÖKOPENİ:	TROMBOSİTOPENİ:	LENFOMONOSİTOZ:
HEMOGLOBİN:	LÖKOSİT:	TROMBOSİT:	
SEDİMENTASYON:	CRP:	ALT YÜKSEKLİĞİ:	AST YÜKSEKLİĞİ:
		ALI:	ASI:
BUN:	KREATİNİN:	TAM İDRAR TETKİKİ:	
KAN KÜLTÜRÜ:	ROSE BENGAL:	STA:	RİVANOL:
COOMBS:	ELISA IgA:	ELISA IgG:	ELISA IgM:

3.2. Kan Kültürü

Hastanın ateşli dönemde olup olmamasına bakılmaksızın her hastadan her biri ayrı koldan olmak üzere 5-10 ml alınan kan 2 adet kan kültür şişesine (yetişkinler için Plus aerobic/F şişesi ve çocuklar için Peds Plus/F şişesi) ekildi. Bu şişeler 40 ml suplemante soybean casein broth içerir. Şişeler **BACTEC 9240 (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Towson, Md.)** otomatize kan kültürü sisteminde 21 gün süreyle inkübe edildi. BACTEC 9240 sistemi üremenin varlığını 10 dakikalık aralarla şişenin altındaki bir sensör tarafından floresans saçan CO₂ miktarını ölçerek tespit eder. Oluşan CO₂ mikroorganizmanın metabolizmasının belirleyicisidir (47, 48). Pozitif sinyal veren örnekler Kanlı agar ve Brucella agar besiyerine ekildi. Üreyen koloniler Gram boyası boyandı. Gram negatif küçük kokobasil morfolojisindeki mikroorganizmalara katalaz, oksidaz ve üreaz testleri yapıldı. İzole edilen suşlar tür tayini ve ileri incelemeler için saklandı. Bütün bu işlemler güvenlik kabiniinde yapıldı.

3.3. Serolojik Testler

3.3.1. Rose Bengal Testi

Tüm serumlar ve tüm antijen reaktifleri oda ısısına getirildi. Testi yapmak için bir cama 0.03 ml hasta serumu damlatıldı, üzerine aynı miktarda *B. abortus* S99 suşundan hazırlanan antijen (*Spinreact, Spain*) kondu. Bir kürdan ile karıştırılarak yaklaşık 1.5 cm'lik bir alana yayıldı. Elde çevirmeli hareketler yaptırılarak 4 dakika çevrildi. Sonuçta iri tanecikli çökeltiler ortaya çıkarsa pozitif, ince tanecikli çökelti oluşursa kuşkulu, homojen görüntü olursa negatif olarak kabul edildi (36).

3.3.2. Standart Tüp Aglutinasyon (STA) Testi

1/160 ve üzerindeki titrelerdeki pozitiflik anlamlı kabul edilmektedir. *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*'e karşı antikorlar belirlenirken, *B. canis*'e karşı (S-LPS yapısında A determinantını bulundurmadiğından) antikorlar belirlenemez. STA testi ile hem IgM hem de IgG yapısındaki total antikorlar gösterilir. İnkübasyon sonunda, tüpteki sıvının tamamen berrak olması negatif sonuç, tüpün dibinde yaygın bir kümeleşme şeklinde görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilir. Testin yapılışı; Tüm serumlar ve tüm antijen süspansiyonları oda

ısisına getirildi. Rose Bengal testi pozitif ya da negatif tüm hasta serumlarına STA testi uygulandı. *Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi tarafından üretilen antijen (B. abortus S99 suşu) kullanıldı.* Bir spora 10 adet serolojij tüp sıralandı. Bunlardan birincisine 0.9, diğerlerine 0.5'er ml fizyolojik tuzlu su dağıtıldı. Birinci tüpe hasta serumundan 0.1 ml kondu. Yeni bir pipet ile bir kaç kez karıştırıldıktan sonra bu tüpten 0.5 ml ikinci tüpe aktarıldı. Aynı pipet kullanılarak bu kez aynı şekilde ikinci tüpten üçüncüye ve bu şekilde sondan bir önceki tüpe kadar tüpten tüpe 0.5'er ml aktarıldı. Bu tüpten 0.5 ml dışarı atıldı. Son tüpe serum konmadı (antijen kontrol tüpü). Bu şekilde serumun çift sulandırımı (1/10, 1/20, 1/40,...) elde edildi. Antijen süspansiyonu iyice karıştırıldıktan sonra tüm tüplere (son tüp dahil) 0.5'er ml antijen dağıtıldı. Bu işlemle tüplerdeki serum sulandırımı birer kat artmış oldu. Antijen ilavesinden sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Sonuçların okunmasından önce antijen kontrol tüpünün agglütinasyon vermemiş olduğuna bakıldı. Sonra diğer tüplere bakılarak en son agglütinasyon görülen tüpün titresi kaydedildi (36).

3.3.3. Rivanol'lü Agglütinasyon Testi

Brusellozun akut döneminde önce IgM sonra IgG antikorları oluşur. IgM antikorlarının düzeyi daha çabuk düşer ve kaybolurlar. Kronik dönemde IgG antikorlarının yapımı devam eder. Önemli olan hastalığın aktif olarak sürdüğünü belirleyen IgG antikorlarının varlığını saptamaktır. Bunun için hasta serumundaki IgM antikorlarının tahrip edilerek agglütinasyon deneylerinin yapılması yöntemleri uygulanır. Bu iş için 2-Mercaptoethanol ve rivanol kullanılır. Her ikisi de IgM'deki bisülfid köprülerini kırarak ve antikorları depolimerize ederek bunların agglütinasyon etkinliklerini yok ederler. Bu maddelerle işlem görmüş serumlarla yapılan agglütinasyon deneylerinin yine pozitif bulunması IgG antikorlarına bağlı olup hastalığın kronikleştiği anlamını taşır. Önce pozitif iken bu işlemlerden sonra negatif agglütinasyon elde edilmesi ise ilk agglütinasyonun, IgM antikorlarına bağlı olduğu anlamını taşır. Testin Yapılışı; Bir tüp içerisine 3 kısım (0.9 ml) rivanol çözeltisi (% 0.04 rivanol saf suda eriyiği) ve üzerine 1 kısım (0.3 ml) hasta serumu konuldu. Oda derecesinde 15 dakika bekletildikten sonra 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki duru sıvı alınarak agglütinasyon testi bununla yapıldı. Bir spora 10 adet seroloji tüp sıralandı

Bunlardan birincisine 0.1, ikincisine 0.6 ve diğerlerine 0.5'er ml fizyolojik tuzlu su dağıtıldı. Birinci ve ikinci tüplere 0.4'er ml rivanollü hasta serumu kondu. Burada serum birinci tüpte 1/5, ikincisinde 1/10 sulandırılmış oldu. Yeni bir pipet ile bir kaç kez karıştırıldıktan sonra bu tüpten 0.5 ml ikinci tüpe aktarıldı. Aynı pipet kullanılarak bu kez aynı şekilde ikinci tüpten üçüncüye ve bu şekilde sondan bir önceki tüpe kadar tüpten tüpe 0.5'er ml aktarıldı. Bu tüpten 0.5 ml dışarı atıldı. Son tüpe serum konmadı (antijen kontrol tüpü). Antijen süspansiyonu (*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi tarafından üretilen B. abortus S99 suşu*) iyice karıştırıldıktan sonra tüm tüplere (son tüp dahil) 0.5'er ml antijen dağıtıldı. Bu işlemle tüplerdeki serum sulandırılmaları birer kat artmış oldu. Antijen ilavesinden sonra 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Sonuçların okunmasından önce antijen kontrol tüpünün agglütinasyon vermemiş olduğuna bakıldı. Sonra diğer tüplere bakılarak en son agglütinasyon görülen tüpün titresı kaydedildi (36).

3.3.4. Brusellozda Coombs Testi

Klinik olarak bruselloz belirtileri belirgin olduğu halde yapılan agglütinasyon testinin olumsuz olması brusellozda sık rastlanan bir durumdur. Olay, antikorların antijenlere bağlandıkları halde agglütinasyon reaksiyonu oluşturmamasını engelleyen mekanizmaların var olmasından doğmaktadır. Bu durum blokan antikorlar olarak tanımlanan IgG1 ve IgG2 izotiplerine bağlı meydana gelir. Testin yapılışı; Hasta serumu STA testinde olduğu gibi sulandırıldı ve üzerine aynı miktar antijen eklendi. Yirmidört saat 37°C'de bekletildikten sonra agglütinasyon için incelendi. Pozitif bulunan hasta örnekleri test uygulanmamak üzere ayrıldı. Agglütinasyon vermeyen tüm tüpler 2000 devirde 20 dakika santrifüj edilerek bakteriler çöktürülmeye çalışıldı. Üstteki sıvı döküldü ve her tüpe yeniden bir miktar fizyolojik tuzlu su konularak, aynı pipetle karıştırıldı. Yeniden santrifüj edilerek aynı işlem üç kez tekrarlandı. Her tüpe 0.45 ml fizyolojik tuzlu su eklendi ve çalkalanarak süspanse edildi İnsan anti globulin (coombs) serumu (*Serologicals Ltd, United Kingdom*) titresinden 10 kat daha fazla olarak fizyolojik tuzlu su ile sulandırılarak, her tüpe 0.05 ml bu sulandırmadan eklendi ve karıştırıldı. Coombs serumu tüplere eklendiği zaman tüpteki 0.45 ml süspansiyon ile karışarak 1/10 oranında sulandırılmış oldu.

Yirmidört saat 37°C’de bekletildikten sonra agglütinasyon okunur (36) Bu testin özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önemi vardır.

3.3.5. ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

Bruselloz tanısında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır *B. abortus* smooth LPS, 18- kDa stoplazmik protein veya *B. melitensis* smooth LPS’in solit faz antijen olarak kullanıldığı ELISA yöntemi ile Brucella IgA, IgG, IgM antikorları kantitatif olarak hızlı ve duyarlı bir şekilde saptanabilmektedir Arıza ve arkadaşları nüklü olgularda Brucella IgG ve IgA düzeylerinde ikinci bir yükselme olduğunu, IgG düzeyinin yüksek olarak devam etmesi durumunda, fokal infeksiyondan şüphelenilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Brusellozda başlangıçta 1. hafta sonunda spesifik IgM, bundan 7-10 gün sonra spesifik IgG seropozitifliği görülür, 6-8 hafta sonra en yüksek düzeye ulaşır. Daha sonraki süreçte IgM azalırken IgG artışı devam eder. IgG antikorları düzelme döneminde yavaşça aylar içinde düşer, ancak birkaç yıl boyunca IgM antikorları düşük titrede kalmaya devam eder. Aktif infeksiyonda IgG ve IgA yükselir. Yeterli antimikrobiyal tedaviyi takiben, 3-6 ay içerisinde serum IgG titreleri 4-8 kat azalmaktadır. Daha sonra gelişecek IgA ve IgG titrelerindeki artış relapsı gösterir. Tedaviye rağmen IgG seviyelerindeki yavaş düşme veya yüksek seyir, relaps olmaksızın fokal infeksiyon varlığını göstermektedir. Bu nedenle serolojik testler yalnızca tanı amaçlı değil, tedavi takip kriteri olarak da kullanılmaktadır. Firmanın önerilerine uygun olarak testler çalışıldı. Testlerin yapılışı;

ELISA IgA-IgM-IgG (*Immuno Biological Laboratories, Germany*): Testler toplu olarak çalışıldı. Birinci kuyucuk boş, ikinci kuyucuk’a negatif kontrol, üçüncü kuyucuk’a Cut-off, dördüncü kuyucuk’a düşük pozitif kontrol, beşinci kuyucuk’a pozitif kontrol ve sonraki kuyucuklara hasta örnekleri konulmak üzere test çalışıldı. Test kitinin içinde 12x8 (96) kuyucuktan oluşan mikrotiter strips (Brucella antijenleri ile kaplı), Standart A (negatif kontrol), Standart B (Cut-off), Standart C (düşük pozitif kontrol), Standart D (pozitif kontrol), Enzim Konjugatı, TMB Substrat Solüsyonu (Tetramethyl benzidine), TMB Stop Solüsyonu, Sample Dilüent, Yıkama Solüsyonu (Konsantrat x 10) ve ELISA IgM için Romatoid Faktör (RF) adsorbans solüsyonu vardı. Elisa IgM için farklı olarak 100

Mikrolitre dilüe örneklere 5 Mikrolitre RF adsorbans solüsyonu eklendi ve bir dakika inkübe edildi. Daha sonraki işlemler tüm ELISA testleri için ortak olarak yürütüldü. Bir pipet ile 100 Mikrolitre standart/kontrol ve dilüe örnekler (1/101 oranında örnek, sample dilüent ile dilüe edilmiş şekilde) kuyucuklara kondu. Üzerleri kapatılarak oda ısısında 18-24°C'de 60 dakika inkübe edildi. Yıkama solüsyonu (konsantrat, distile su ile 1/10 oranında dilüe edilmiş şekilde) ile üç kez yıkandı. Substrat kuyucuk dışındaki kuyucuklara pipet ile 100 Mikrolitre enzim konjugatı eklendi. Üzerleri kapatılarak oda ısısında 18-24°C'de 30 dakika inkübe edildi. Tekrar üç kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Substrat kuyucuk dahil olmak üzere pipet ile 100 Mikrolitre TMB (Tetramethylbenzidine) substrat solüsyonu kuyucuklara eklendi. Üzerleri kapatılarak ve karanlıkta, oda ısısında 18-24°C'de 20 dakika inkübe edildi. Substrat kuyucuk dahil olmak üzere kuyucuklara pipet ile TMB stop solüsyonu eklendi. 60 dakika içinde 450 nm absorbansta spektrofotometrede okundu. Cut-off değerleri çıkarılarak kantitatif ve kalitatif olarak tüm hasta örnekleri için sonuçlar hesaplandı.

4. BULGULAR

Klinik olarak brucelloz şüpheli 77 hastadan 79 örnek (77 örnek serum ve 2 örnek BOS olmak üzere) çalışmaya alındı. Hastaların 42'si kadın 35'i erkekti. Toplam 29 hastada mesleki risk vardı. En sık rastladığımız semptomlar; halsizlik (58 hasta, % 75.3), eklem ağrısı (56 hasta, % 72.7), ateş (54 hasta, % 70.1), terleme (49 hasta, % 63.6), üşüme-titreme (46 hasta, % 59.7) olarak saptandı. Fizik muayene ve görüntüleme yöntemleriyle en sık saptadığımız bulgular ise; omurga hassasiyeti (19 hasta, % 24.6), periferik artrit (14 hasta, % 18.1), sakroileit (14 hasta, % 18.1), hepatomegali (11 hasta, % 14.2), splenomegali (11 hasta, % 14.2) olarak saptandı. En sık saptadığımız özgül olmayan laboratuvar bulguları ise; C-Reaktif Protein (CRP) pozitifliği (51 hasta, % 66.2), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR)'nda artış (45 hasta, % 58.4), anemi varlığı (28 hasta, % 36.3), Alanin amino transferaz enzim (ALT) yüksekliği (26 hasta, % 33.7) ve Aspartat amino transferaz enzim (AST) yüksekliği (21 hasta, % 27.2) idi. Hastaların 47'si akut, 14'ü subakut, 16'sı kronik olarak değerlendirildi. 35 hastanın kan kültüründe *Brucella* spp. üredi. Üreme süreleri 1-10. günler arasında idi. Rose Bengal testi 58 örnekte pozitif, STA testi 53 örnekte pozitif, ELISA IgA ile 58, ELISA IgA ile 53, ELISA IgM ile 36 örnekte pozitiflik bulundu. Çizelge 4.1'de hastaların olası klinik evreleri ve test sonuçları gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Hastaların olası klinik evreleri ve test sonuçları

Hasta/ Örnek No	Olası Klinik Evre	Kan Kültürü	Rose Bengal Testi	Tüp Agg. Testi	Coombs Testi	Rivanollü Tüp Agg. Testi	ELISA IgA	ELISA IgM	ELISA IgG
1	Subakut	Pozitif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
2	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	1/20 Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif
3	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
4	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
5	Kronik	Negatif	Negatif	Negatif	1/40 Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
6	Kronik	Negatif	Pozitif	1/80 Pozitif	1/80 Pozitif	1/20 Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
7	Kronik	Negatif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
8	Subakut	Negatif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
9	Akut	Pozitif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/1280 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
10	Akut	Pozitif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
11	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
12	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
13	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
14	Akut	Pozitif	Pozitif	1/40 Negatif	1/40 Negatif	1/40 Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
15	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
16	Akut	Pozitif	Pozitif	1/5120 Pozitif	Bakıl- madı	1/2560 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
17	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
18	Akut	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
19	Subakut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
20	Kronik	Negatif	Pozitif	1/40 Negatif	1/80 Pozitif	1/20 Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
21	Akut	Pozitif	Pozitif	1/80 Pozitif	1/160 Pozitif	1/20 Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
22	Kronik	Negatif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/1280 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
23	Kronik	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	1/10 Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
24	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif
25	Akut	Negatif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
26	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	1/10 Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
27	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
28	Akut	Pozitif	Pozitif	1/5120 Pozitif	Bakıl- madı	1/1280 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Hasta/ Örnek No	Olası Klinik Evre	Kan Kültürü	Rose Bengal Testi	Tüp Agg. Testi	Coombs Testi	Rivanollü Tüp Agg. Testi	ELISA IgA	ELISA IgM	ELISA IgG
29	Akut	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/80 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
30	Subakut	Pozitif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
31	Subakut	Negatif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/20 Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif
32	Akut	Negatif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
33	Akut	Negatif	Pozitif	1/2560 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
34	Akut	Pozitif	Pozitif	1/5120 Pozitif	Bakıl- madı	1/2560 Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif
35	Kronik	Negatif	Pozitif	1/40 Negatif	1/40 Negatif	1/10 Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
36	Subakut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
37	Subakut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
38	Akut	Pozitif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
39	Akut	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
40	Kronik	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
41	Akut	Negatif	Pozitif	1/5120 Pozitif	Bakıl- madı	1/2560 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
42	Kronik	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
43	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
44	Akut	Pozitif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
45	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
46	Akut	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
47	Kronik	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif
48	Kronik	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
49	Kronik	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
50	Akut	Pozitif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
51	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
52	Akut	Negatif	Pozitif	1/5120 Pozitif	Bakıl- madı	1/1280 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif
53	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
54	Kronik	Negatif	Pozitif	1/80 Pozitif	1/160 Pozitif	1/80 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
55	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
56	Akut	Negatif	Pozitif	Negatif	1/40 Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif

Hasta/ Örnek No	Olası Klinik Evre	Kan Kültürü	Rose Bengal Testi	Tüp Agg Testi	Coombs Testi	Rivanollü Tüp Agg. Testi	ELISA IgA	ELISA IgM	ELISA IgG
57	Kronik	Pozitif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
58	Akut	Negatif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
59	Kronik	Negatif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
60	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	1/40 Negatif	1/20 Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
61	Subakut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
62	Subakut	Negatif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
63	Subakut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
64	Subakut	Pozitif	Pozitif	1/80 Pozitif	1/160 Pozitif	1/80 Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif
65	Akut	Negatif	Pozitif	1/80 Pozitif	1/80 Pozitif	1/40 Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif
66	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
67	Akut	Negatif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/80 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
68	Akut	Negatif	Negatif	Negatif	1/20 Negatif	1/10 Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
69	Akut	Pozitif	Pozitif	1/320 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
70	Kronik	Negatif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
71	Subakut	Pozitif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
72	Akut	Negatif	Pozitif	1/160 Pozitif	Bakıl- madı	1/80 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
73	Akut	Negatif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/160 Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif
74	Akut	Pozitif	Pozitif	1/640 Pozitif	Bakıl- madı	1/320 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
75	Akut	Pozitif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif
76	Subakut	Pozitif	Pozitif	1/1280 Pozitif	Bakıl- madı	1/640 Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
77	Subakut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
78	Subakut	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
79	Kronik	Pozitif	Pozitif	1/40 Negatif	1/80 Pozitif	1/40 Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif

Çizelge 4.2. Kan kültürü sonuçları ile Rose Bengal sonuçlarının karşılaştırılması.

		Rose Bengal		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kan Kültürü	Pozitif	35	-	35
	Negatif	23	21	44
	Toplam	58	21	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.3. Kan kültürü sonuçları ile Tüp agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması.

		Tüp Agglütinasyonu		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kan Kültürü	Pozitif	33	2	35
	Negatif	20	24	44
	Toplam	53	26	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.4. Kan kültürü sonuçları ile Coombs agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması.

		Coombs Agglütinasyon		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kan Kültürü	Pozitif	3	1	4
	Negatif	4	23	27
	Toplam	7	24	31

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.5. Kan kültürü sonuçları ile Rivanollü Tüp agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması.

		Rivanollü Tüp Agglütinasyonu		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kan Kültürü	Pozitif	32	3	35
	Negatif	17	27	44
	Toplam	49	30	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.6. Kan kültürü sonuçları ile ELISA IgA sonuçlarının karşılaştırılması.

		ELISA IgA		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kan Kültürü	Pozitif	33	2	35
	Negatif	25	19	44
	Toplam	58	21	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu

Çizelge 4.7. Kan kültürü sonuçları ile ELISA IgM sonuçlarının karşılaştırılması.

		ELISA IgM		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kan Kültürü	Pozitif	25	10	35
	Negatif	11	33	44
	Toplam	36	43	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu

Çizelge 4.8. Kan kültürü sonuçları ile ELISA IgG sonuçlarının karşılaştırılması.

		ELISA IgG		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kan Kültürü	Pozitif	34	1	35
	Negatif	19	25	44
	Toplam	53	26	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu

Çizelge 4.9. Tüp agglütinasyon sonuçları ile Rose Bengal sonuçlarının karşılaştırılması.

		Rose Bengal		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Tüp Agg.	Pozitif	53	-	53
	Negatif	5	21	26
	Toplam	58	21	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.10. Tüp agglütinasyon sonuçları ile ELISA IgA sonuçlarının karşılaştırılması.

		ELISA IgA		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Tüp Agg	Pozitif	49	4	53
	Negatif	9	17	26
	Toplam	58	21	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.11. Tüp agglütinasyon sonuçları ile ELISA IgM sonuçlarının karşılaştırılması.

		ELISA IgM		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Tüp Agg	Pozitif	35	18	53
	Negatif	1	25	26
	Toplam	36	43	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.12. Tüp agglütinasyon sonuçları ile ELISA IgG sonuçlarının karşılaştırılması.

		ELISA IgG		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Tüp Agg	Pozitif	47	6	53
	Negatif	6	20	26
	Toplam	53	26	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.13. Akut, subakut ve kronik olgularla Rivanol Agglütinasyon sonuçlarının karşılaştırılması.

		Rivanol Agglütinasyon		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Akut		31	16	47
Subakut		9	6	15
Kronik		9	8	17
Toplam		49	30	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çizelge 4.14 Akut, subakut, kronik olgularda ELISA IgA sonuçlarının karşılaştırılması.

	ELISA IgA		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Akut	34	13	47
Subakut	11	4	15
Kronik	13	4	17
Toplam	58	21	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çizelge 4.15. Akut, subakut ve kronik olgularda ELISA IgM sonuçlarının karşılaştırılması.

	ELISA IgM		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Akut	25	22	47
Subakut	6	9	15
Kronik	5	12	17
Toplam	36	43	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çizelge 4.16. Akut, subakut ve kronik olgularda ELISA IgG sonuçlarının karşılaştırılması.

	ELISA IgG		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Akut	32	15	47
Subakut	9	6	15
Kronik	12	5	17
Toplam	53	26	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çizelge 4.17. Akut, Subakut ve Kronik olgularda Kan Kültürü sonuçlarının karşılaştırılması.

	Kan Kültürü		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Akut	24	23	47
Subakut	6	9	15
Kronik	4	13	17
Toplam	35	44	79

Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

5. TARTIŞMA

Bruselloz, Brucella cinsi bakterilerle oluşan sistemik bir enfeksiyon hastalığı olup, ülkemizde oldukça sık görülmektedir. Gerek klinik gerekse laboratuvar bulguları ile pek çok sistemik hastalık ve enfeksiyon hastalığı ile karışabilmektedir. Yine bu nedenle hastalar, İç Hastalıkları, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, Nöroloji, Nöroşirürji poliklinikleri gibi bölümlere başvurabilmektedirler. Klinik yakınma ve semptomların değerlendirilmesinde ise; yapılan çalışmalarda en sık halsizlik, ateş, terleme, artralji ve lokomotor sistemde ilgili diğer belirtiler görülmektedir, hepatomegali ve splenomegali saptanma oranları yapılan bir çok çalışmada % 17.4 ile % 80 arasında bulunmuştur (49, 50). Bizim çalışmamız bu bilgilerle uyumlu idi.

Bütün hastalıklarda olduğu gibi brusellozun tanısında da iyi bir anamnez, fizik muayene ve uygun laboratuvar testlerinin istenmesi, yorumlanması şarttır (51). Tanıda altın standart kan veya diğer doku örneklerinde etkenin üretilmesidir. Ancak kültürde üretilmesi her zaman mümkün olamamaktadır (1, 2, 3, 52). Üretilmemesinin bir çok nedeni vardır. Bunların başında yanlış tanı konulması ve dolayısıyla nonspesifik tedaviler verilmesi, geç dönemde yakalanması ve laboratuvar imkanlarının sınırlı olması sayılabilir (53).

Tanıda serolojik testler oldukça değerlidir. Ülkemizde brusellozun laboratuvar tanısında en sık kullanılan serolojik testler Rose Bengal ve STA testleridir. ELISA günümüzde bruselloz tanısında yeni kullanıma girmesine karşın, STA testinin yerini alan bir serolojik testtir. Hastalığın spesifik IgA, IgM, IgG antikorları bakılabilmektedir. Başlangıçta testin standardizasyonu ile ilişkili sorunlar yaşanmış, daha sonra rutin kullanıma girmiştir. ELISA ve STA testinin yapılan karşılaştırmalı çalışmalarında, ELISA'nın daha üstün olduğu vurgulanmaktadır (1, 25). Ancak STA testine göre pahalı bir yöntem olması ve her yerde bulunmaması dezavantajdır. Yeterli antimikrobiyal tedaviyi takiben, 3-6 ay içerisinde serum IgG titreleri 4-8 kat azalmaktadır. Daha sonra gelişecek IgA ve IgG titrelerindeki artış relapsı gösterir. Tedaviye rağmen IgG seviyelerindeki yavaş düşme veya yüksek seyir, relaps olmaksızın fokal enfeksiyon varlığını göstermektedir. Bu nedenle serolojik testler yalnızca tanı amaçlı değil, tedavi takip kriteri olarak da kullanılmaktadır (54). Bizim çalışmamızda en sık kullanılan

serolojik testler olan Rose Bengal ve STA testlerine ek olarak tanı şansını arttırmak için; hastalığın akut-kronik ayrımında yardımcı olmak üzere Rivanollü Tüp Agglütinasyon, Blokan antikorları önleyerek yalancı negatifliği ortadan kaldırmak için Coombs (Anti-Human Globulin) Agglütinasyon testleri ve hastalığın evresini saptayabilmek için ELISA IgA, ELISA IgM, ELISA IgG çalışıldı. ELISA testinin; hızlı, yüksek duyarlılıklı olup, spesifik IgA, IgM, IgG antikorlarını kan ve BOS'ta tanımladığı bildirilmiştir. ELISA'nın Brucella tanısında kullanılan testlerden daha hassas ve hızlı olduğu konusunda genel bir fikir birliği vardır (22, 27, 54, 55).

Çalışmaya 77 hastadan 79 örnek alındı Kan kültüründe 35 hastada (% 45.4) Brucella spp. üredi. Öztürk vd (40) akut bruselloz tanısı koydukları 23 hastanın 19'unda (% 82.6) BACTEC 9240 kan kültür sistemiyle üreme saptamışlar. Kan kültür duyarlılığı çok değişkendir, % 53-90 arasında değişmektedir (56). Yüksek klinik kuşku ve kan kültüründe üreme olmayan hastalarda kemikiliği biyopsisi ve kültürü yapılabilir. Antibiyotik alanlarda bile duyarlılığı % 90'dan fazladır. Ayrıca kemikiliğinde retikülo endotelyal hücrelerden bakteri inokulumu daha yüksek olduğu için kan kültüründen daha hızlı olarak pozitif sonuç alınır (56).

Rose Bengal testi 58 örnekte (% 73 4) pozitif bulundu. Kan kültürü pozitif olan tüm örneklerde aynı zamanda Rose Bengal testleri de pozitif. Çalışmamızda araştırılan diğer testlerden daha yüksek oranda kan kültür pozitifliği ile birlikteliği saptandı.

ELISA IgA ile 58 (% 73 4), ELISA IgG ile 53 (% 67.0), ELISA IgM ile 36 (% 45.5) örnekte pozitiflik bulundu. En yüksek pozitiflik ELISA IgA'da bulundu Brusellozda IgA ve IgG akut veya aktif infeksiyonda en yüksek olarak saptanan antikorlardır (4, 22) Ayrıca relapsta saptanan iki antikor yine IgA ve IgG'dir (4) Yine bir çok çalışmada kronik bruselloz ve relaps tanısında IgM'in faydalı olmadığı gösterilmiştir (57). Hastalığın dönemine ve yine kanda uzun süre kalmalarına bağlı olarak IgA ve IgG'yi, IgM'e göre daha yüksek saptamış olabileceğimizi düşünüyoruz. Kan kültürü ile ELISA testleri karşılaştırıldığında en yüksek birliktelik IgG'de (% 97.1) olmak üzere IgA'da (% 94.2) ve IgM'de (%71.4) saptandı Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu

STA testi 53 örnekte (% 67.0) pozitif. Kan kültürü pozitif olarak saptanan örneklerin sadece ikisinde (14. ve 79. örnek) STA testi negatif bulundu. Kan kültürü ile birlikteliği % 94.2 olarak bulundu. Önceki yayınlarla uyumlu idi. Ariza et al. (58) brücellozun laboratuvar tanısında, kültür pozitif hastaların % 97'sinde STA testini pozitif olarak saptamışlardır. Gotuzzo et al. (59) STA pozitifliğini % 86.0 olarak bulmuşlardır. Cesur vd. (51) kan kültüründe üreme oranını % 31.7 (27 hasta), STA testinin pozitifliğini % 82.3 ve ELISA testinin pozitifliğini ise % 91.4 olarak bulmuşlardır. Brücelloz tanısında en sık kullanılan iki test olan Rose Bengal ve STA testlerinin birlikte pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu. STA testi negatif olup Rose Bengal testi pozitif bulunan sadece 5 örnek mevcuttu. Yine STA testi, ELISA IgA, IgG, IgM testleri ile birlikte pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 49 hastada STA ve ELISA IgA testlerinin her ikisi de pozitif, STA pozitif saptanan 4 hastada ELISA IgA negatif, ELISA IgA saptanan 9 hastada STA negatif bulundu. Kırkyedi hastada STA ve ELISA IgG testlerinin her ikisi de pozitif, STA pozitif saptanan 6 hastada ELISA IgG negatif, ELISA IgG saptanan 6 hastada STA negatif bulundu. 35 hastada STA ve ELISA IgM testlerinin her ikisi de pozitif, STA pozitif saptanan 18 hastada ELISA IgM negatif, ELISA IgM saptanan sadece 1 hastada STA negatif bulundu. STA testi çalışılan hastalarda Rivanol tüp aglütinasyon sonuçları değerlendirildiğinde; 22 hastada titre değişikliği olmadı, yani STA sonuçları IgG'ye bağlıydı ve STA testinde her iki Immünglobulinin tespit edildiği (IgG ve IgM) düşünüldüğünde ELISA IgM sonuçları normal olarak değerlendirildi.

Yetmişyedi hastadan alınan toplam 79 örneğin 62'sinde brücelloz tanısı konulabildi. Onyediyedi örnekte ise (3, 5, 12, 13, 15, 17, 19, 23, 26, 42, 45, 53, 60, 63, 68, 77, 78 No'lu örnekler) kan kültürü dahil olmak üzere yapılan diğer tüm serolojik testler negatif bulundu. Bu hastalarda olası başka enfeksiyon hastalığı veya enfeksiyon dışı hastalık olabileceği düşünüldü. Yine bu dönemde üniversitemiz merkez laboratuvarında laboratuvar kaynaklı brücelloz salgını ortaya çıkmıştı, testleri negatif bulunan hastaların bir kısmı (12, 13 ve 15 No'lu örnekler) bu gruba aitti.

İkinci, 24 ve 47 No'lu hastalarda sadece ELISA IgA ile, 36 No'lu hastada ise ELISA IgA ve ELISA IgG ile, olmak üzere 4 hastada sadece ELISA testi ile tanı konabildi. Tanı konulan diğer 58 hastada ise birden fazla farklı test sonucu pozitif bulundu. Otuzdört ve 75 No'lu hastada ELISA IgM ve IgG pozitif, 58 No'lu hastada çalışılan ELISA testlerinden sadece ELISA IgM pozitif saptandı. ELISA testleri ile toplam 61 örnekte (% 77.2) tanı konuldu. Altı No'lu hastada ise sadece Rose Bengal ve STA testleri, pozitif olarak saptandı. Rose Bengal testi negatif bulunan tüm örneklerde STA testi de negatif bulundu. Testlerde prezon olayına rastlanmadı.

Coombs Agglütinasyon testi toplam 31 örnekte çalışıldı. Yedi örnekte test pozitif bulundu. Ancak bu örneklerin 7'sinde de Rose Bengal testi de pozitif ve düşük titrede STA pozitifliği mevcuttu, bu nedenle coombs agglütinasyon testi yapılmıştı. Altı ve 65 No'lu örneklerde STA ile aynı dilüsyonda (1/80) pozitiflik saptandı. Yirmi ile 79 No'lu örneklerde (1/40'a karşı 1/80) ve 21, 54 ile 64 No'lu örneklerde (1/80'e karşı 1/160) bir dilüsyon daha fazla pozitiflik elde edildi. Blokan antikörlerin araştırılması brusellozda nadiren gerekir (27). İkiyüzondört olguda blokan antikörlerin araştırıldığı bir çalışmada oran % 6 olarak saptanmıştır (60).

Rivanollü tüp agglütinasyon testi sonuçları STA ile uyumlu idi. STA ile pozitiflik saptanan tüm hastalarda Rivanollü tüp agglütinasyon aynı veya daha düşük titrede pozitif idi. Kan kültürü pozitif bulunanların % 91.4'ünde rivanol tüp agglütinasyon sonucu pozitif bulundu, istatistiksel olarak anlamlı idi.

Hastalığın dönemine göre (akut, subakut, kronik) testler ayrı ayrı değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunamadı. Rivanollü tüp agglütinasyon testi sonuçları klasik bilgi ve literatür bilgilerimizin aksine idi; akut dönemde 31/47 (% 65.9), subakut dönemde 9/15 (% 60.0) ve kronik dönemde ise 9/17 (% 52.9) oranında pozitif bulundu. IgG sonuçlarını, akut dönemin sonu, subakut dönem, kronik dönem, iyileşmede gecikme ve fokal infeksiyonu olan olgulara bağlı olarak daha yüksek saptamış olabiliriz. ELISA IgA için bu dönemlerde sırasıyla giderek artan oranda 34/47 (% 72.3), 11/15 (% 73.3) ve 13/17 (% 76.4) olarak pozitiflik saptandı, istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte hastalık kronikleştikçe pozitiflik oranı dikkat çekici bir şekilde

artıyordu. ELISA IgM için ise bu dönemlerde sırasıyla giderek azalan oranda 25/47 (% 53.1), 6/15 (% 40.0), 5/17 (% 29.4) olarak pozitiflik saptandı, yine bu sonuçlar da istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte akut dönemden kronik döneme gidildikçe IgM pozitifliği azalmaktaydı. ELISA IgG için bu dönemlerde sırasıyla pozitiflik oranı 32/47 (% 68.0), 9/15 (% 60.0) ve 12/17 (% 70.5) olarak saptandı, bu sonuçlar da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kan kültür sonuçları ise yine klasik bilgilerimize uyumlu olarak akut dönemden kronik döneme doğru gidildikçe pozitiflik oranı azalmaktaydı; akut dönemde 24/47 (% 51.0), subakut dönemde 6/9 (% 40.0), kronik dönemde 4/13 (% 30.7), yine bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte pozitiflik oranında düşüş dikkat çekiciydi.

Brusellozun seyrinin belirlenmesinde özgül antikorların aranması hekime hastasına uygulayacağı tedaviye yanıtın takibinde yol gösterici olmaktadır (24). IgG ve IgA akut enfeksiyonun en iyi göstergesidir (9, 22, 32). Ariza et al. nüklü olgularda Brucella IgG ve IgA düzeylerinde ikinci bir yükselme olduğunu, IgG düzeyinin yüksek olarak devam etmesi durumunda, fokal infeksiyondan şüphelenilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Duyarlı, özgül, hızlı ve çok sayıda örneğin bir arada incelenmesine olanak tanıyan bir teknik olmasına karşılık ELISA sonuçlarının değerlendirilmesinde henüz tam bir standardizasyon sağlanamamıştır. Son zamanlarda geliştirilen “competitive enzyme linked immuno sorbent assay (CELISA)’in özgüllüğü % 96.5-100, duyarlılığı ise % 94.8-100 arasında bulunmuştur (37). ELISA ile STA testlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, ELISA’nın daha üstün olduğu vurgulanmaktadır (1, 2, 3, 4, 9). Ancak STA testine göre pahalı bir yöntem olması ve her yerde bulunmaması dezavantajıdır (1). Bir çalışmada brucella bakteriyemisi olan hastalarda ELISA IgM ve IgG testleri, STA testi ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında daha düşük duyarlılıkta bulunmuştur, ancak ikisi birden STA testi ile benzer duyarlılıkta bulunmuştur (60).

Sonuç olarak çalışılan hastalarda en sık kullanılan testler olan Rose Bengal ve STA testlerinin geçerliliğini koruduğunu saptadık. Rivanollü tüp aglütinasyon testi ve STA testleri birbirleri ile paraleldi, tedaviye yanıtsız veya relapslı hastalarda yararlı olabileceğini düşündük. ELISA’yı brusellozun tanısı için etkili

bir yöntem olarak bulduk ve tanı şansını arttırdığını saptadık. Bununla beraber IgA, IgM ve IgG'yi birlikte ölçen ELISA testi hastalığın evrelemesine ve tedavi takibine yardım edeceğini düşündük. Ayrıca örneklerimizde prezon olayını saptamadık, klasik bilgiler ile uyumsuz olarak Brucella Coombs Aglütinasyon testi ile tanı koyamadık ve tanı şansını arttırmadığını gözledik. Ancak bununla birlikte bu testlerin bruselloz kuşkusu olan hastalarda yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

ÖZET

Bruselloz dünyanın bir çok ülkesinde ve Türkiye’de yaygın olarak görülen, ciddi ekonomik kayıplara neden olan ve pek çok ülke için önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam eden zoonotik bir hastalıktır.

Tüm infeksiyon hastalıklarında olduğu gibi brusellozda da etkene yönelik tanı sıklıkla bakteri izolasyonu ve serolojik testler ile konur. Ancak bu yollar ile her zaman sonuca ulaşılmaz. Örneğin kan kültürlerinde izolasyon şansı her zaman olmamaktadır. Buna neden olarak; hastanın antibiyotik kullanması, kandaki bakteri sayısının düşük olması gibi faktörler ileri sürülmektedir. Hastalığın tanısı: klinik bulgular, nonspesifik olarak serolojik testler ve kesin olarak kan-kemik iliği-doku örneklerinden mikroorganizmayı izole etmekle olur.

Bruselloz kuşkulu hastalarda; Rose Bengal Testi, Standart Tüp Aglütinasyon Testi, Coombs Tüp Aglütinasyon Testi, Rivanol Testi, ELISA ile IgA, IgG ve IgM testleri yapılarak bu serolojik testlerin birbirleriyle karşılaştırılmasını ve tanı şansının artırılmasını amaçladık.

Hastaların 47’si akut, 14’ü subakut, 16’sı kronik olarak değerlendirildi. Çalışmaya 77 hastadan 79 örnek alındı. Kan kültüründe 35 hastada (% 45.4) *Brucella* spp. üredi. Rose Bengal testi 58 örnekte (% 73.4) pozitif. STA testi 53 (% 67.0) örnekte pozitif. ELISA IgA ile 58 (% 73.4), ELISA IgG ile 53 (% 67.0), ELISA IgM ile 36 (% 45.5) örnekte pozitiflik bulundu. ELISA testleri ile toplam 61 örnekte (% 77.2) tanı konuldu.

Sonuç olarak çalışılan hastalarda en sık kullanılan testler olan Rose Bengal ve STA testlerinin geçerliliğini koruduğunu saptadık. Rivanollü tüp aglütinasyon testi ve STA testleri birbirleri ile paraleldi, tedaviye yanıtız veya relapslı hastalarda yararlı olabileceğini düşündük. ELISA’yı brusellozun tanısı için etkili bir yöntem olarak bulduk ve tanı şansını arttırdığını saptadık. Ayrıca örneklerimizde prezon olayını saptamadık, klasik bilgiler ile uyumsuz olarak *Brucella* Coombs Aglütinasyon testi ile tanı koyamadık ve tanı şansını arttırmadığını gözledik. Ancak bununla birlikte bu testlerin bruselloz kuşkusu olan hastalarda yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, Serolojik Testler, Kan Kültürü

KAYNAKLAR

1. Türkçapar N, Kurt H. Bruselloz. İçinde: Uzun Ö, Ünal S. (ed): Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları. Bilimsel Tıp yayınevi, Ankara, 2002: 2; 15 1: 1015-24.
2. Sözen TH. Bruselloz. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (ed): İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 636-42.
3. Young EJ. Brucella Species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases 5th edition, Philadelphia, Churchill-Livingstone 2000: 2386-93.
4. Gotuzzo E, Carillo C. Brucella. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): Infectious Diseases. 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1998: 1837-45.
5. Baysal B. Brucella. İçinde: Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. (ed): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara, 1999: 571-7.
6. Çelebi S. Brusellozun Epidemiyolojisi. ANKEM Derg 2003; 17: 340-3.
7. Shapiro DS, Wong JD. Brucella. Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): Manual of Clinical Microbiology. 7th edition, Washington, American Society for Microbiology 1999; 625-31.
8. Sırmatel F. Brusellozis. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, Adana, 2001: 33-5.
9. Slack MEP. Brucella spp. In: Armstrong D, Cohen J (eds): Infectious Diseases. London, Harcourt Publisher Ltd, 1999; 20: 3-5.
10. Arda M. Türkiye’de hayvan brusellozunun genel durumu ve bruselloz mücadele projesi. Birinci Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, İzmir, 1987: 166-78.
11. Altan N. Bruselloz epidemiyolojisi. Birinci Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, İzmir, 1987: 179-85.
12. Çevik MA. Bruselloz Epidemiyolojisi. ANKEM Derg 2001; 15: 568-70.

13. Barroso Espadero D, Arroyo Carrera I, Lopez Rodriguez MJ, et al. The transmission of brucellosis via breast feeding. A report of 2 cases. An Esp Pediatr 1998; 48(1): 60-62.
14. Çetin ET, Çoral B, Bilgiç A, Bilgehan E, Sipahioğlu Ü, Gürel M ve ark. Türkiye’de insanda bruselloz insidansının saptanması. Doğa- Tr J Med Sci 1990; 14: 324-34.
15. Günay O. Brusellozisin epidemiyolojisi ve korunma yolları. 24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı, Kayseri, 1990: 83-7.
16. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitabevi, İzmir, 2002: 475-8.
17. Altoparlak Ü. Brusellozun etiyolojisi. ANKEM Derg 2003; 17: 330-2.
18. Chu MC, Weyant RS. Brucella. İn: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, 2003: 797-808.
19. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Brucella. Bailey & Scott’s Diagnostic Microbiology. Mosby, St. Louis, 2002: 487-90.
20. Gökengin D. Brucella Türleri. İçinde : Serter D, Ertem E, Gökengin D (ed): Başlıca bakteriyel, paraziter ve mikotik hastalıklar. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2000: 293-9.
21. Microbiology and epidemiology of Brucella <http://www.utdol.com/application/topic/topicindex.asp>.
22. Brucellosis : an Overview <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/corbel.htm>
23. Young EJ. An Overview of Human Brucellosis. Clinical Infectious Diseases. 1995; 21: 283-90.
24. Aktaş O. Brusellozda Mikrobiyolojik Tanı. ANKEM Dergisi 2003; 17: 336-9.
25. Sümerkan B. Brucella Türleri. İçinde : Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.(ed): Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 1647-52.
26. Büke M. Brusellozun Laboratuvar Tanısı. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabı, Antalya, 1999: 28-9.

27. Yaylı G. Brusellozun Laboratuvar Tanısında Sorunlar. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabı, İstanbul, 2003: 211-3.
28. Brucella <http://www.gsbs.utmb.edu/microbook/cho28.html>
29. Geyik MF. Brusellozun Klinik Formları. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabı, İstanbul, 2003: 209-10.
30. Ertek M. Bruselloz: Klinik Formları ve Özellikleri. ANKEM Dergisi 2003; 17: 333-35.
31. Detection of Brucellae in Blood Cultures http://www.moag.gov.il/brunet/public_sub3_p1.html
32. Gültekin M. Brusellozun Laboratuvar Tanısındaki Sorunlar ve Türkiye'deki Epidemiyolojisi, XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabı, Antalya, 1998: 125-7.
33. Yagupsky P. Detection of Brucella melitensis by BACTEC NR660 Blood Culture System. Journal of Clinical Microbiology 1994; 32: 1899-901.
34. Erdenliğ S. Türkiye'de brucella kökenleri. XI Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, İstanbul, 2003 : 214-6.
35. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Brucella ve Francisella İçinde : Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. (ed): Mikrobiyoloji 2000. Asya Tıp, İzmir, 1998: 137-42.
36. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitabevi, İzmir, 2002: 223-8.
37. Töre O. Bruselloz Tanısına İlişkin Sorunlar. Birinci Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, İzmir, 1987: 162-5.
38. Diker S, Istanbuluoglu E, Ayhan H, Soysal G. A serologic study of human Brucella canis infections in the Bursa region. Mikrobiyol Bul. 1984; 18 (4): 203-7.
39. Gladwin M, Trattler B. Bruselloz. In : Gladwin M, Trattler B. Klinik Mikrobiyoloji. MedMaster, Inc, Florida, 2000: 81-2.
40. Ozturk R, Mert A, Kocak F, Ozaras R, Koksall F, Tabak F, Bilir M, Aktuglu Y. The diagnosis of brucellosis by use of BACTEC 9240 blood culture system. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44: 133-5.

41. Mamıkoğlu L. Atipik Seyirli Bruselloz. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, Antalya, 1999: 31-2.
42. Nagore E, Sanchez-Motilla JM, Navarro V, Febrer MI, Aliaga A. Leukocytoclastic vasculitis as a cutaneous manifestation of systemic infection caused by *Brucella melitensis*. *Cutis*. 1999; 63 (1): 25-7.
43. Straight TM, Martin GM. Brucellosis. Current Treatment Options in Infectious Diseases, 2002; 4: 447-56.
44. Ural O. Bruselloz Tedavisinde Rastlanan Sorunlar. *Flora*. 2001; 6 (1): 5-11.
45. Günhan C. Brusellosis'de Tedavi. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, Antalya, 1999: 30.
46. Karakartal G. Brusellozdan korunmak için alınması gereken önlemler. Birinci Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı, İzmir, 1987: 186-90.
47. Bannatyne RM, Jackson MJ, Memish Z. Rapid Diagnosis of *Brucella* Bacteremia by Using the BACTEC 9240 System. *Journal of Clinical Microbiology* 1997; 35: 2673-4.
48. Nolte FS, Williams JM, Jerris RC, Morello JA, Leitch CD, Matushek S at al. Multicenter Clinical Evaluation of a Continuous Monitoring Blood Culture System Using Fluorescent-Sensor Technology (BACTEC 9240). *Journal of Clinical Microbiology* 1993; 31: 552-7.
49. Özer S, Oltan N, Gençer S. Bruselloz: 33 olgunun değerlendirilmesi. *Klinik Derg* 1998; 11 (3): 82-4.
50. Çağatay AA, Küçükoğlu S, Berk H, Özsüt H, Eraksoy H, Dilmener M ve ark. Otuzaltı bruselloz olgusunun değerlendirilmesi. *Klinik Derg* 2002; 15(1): 19-21.
51. Cesur S, Birengel S, Sözen TH, Tekeli E. Brusellozlu Olguların İncelenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2000; 32: 123-6.
52. Gültekin M. Brusellozda serolojik değerlendirme. *Antimikrobiyal Tedavi Bülteni* 2000; 4: 31-3.
53. Özkurt Z, Kaya A, Taşyaran MA, Yılmaz Ş. Bruselloz tanısında standart tüp agglütinasyon testi, kan ve kemikiliği kültürlerinin tanı değerlerinin karşılaştırılması. *İnfek Derg (Turkish Journal of Infection)* 2000; 14 (4): 463-8.

54. God El-Rab MO, Kambul AM. Evaluation of a Brucella Enzyme Immunoassay Test (ELISA) in Comparison With Bacteriological culture and Agglutination. *J of Infect* 1998; 36: 197-201.
55. Osoba AO, Balkhy H, Memish ZA, Khan MY, Al-Thagafi A, Al Shareef B. et al. Diagnostic value of Brucella ELISA IgG and IgM in bacteremic and non-bacteremic patients with brucellosis. *J. Chemother* 2001; 13 (1): 54-9.
56. Lim ML, Rickman LS. Brucellosis. *Infect Dis Clin Pract* 2004; 12: 7-14.
57. Orduna A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Duenas A. et al. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38 (11): 4000-5.
58. Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992; 14 (1): 131-40.
59. Gotuzzo E, Carillo C, Guerra J, Liosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis, the value of bone marrow culture. *J Infect Dis* 1986; 153: 122-5.
60. Memish ZA, Almuncif M, Moh MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the Brucella Standart Agglutination Test with the ELISA IgG and IgM in patients with Brucella bacteremia. *Diag Microbiol Infect Dis* 2002; 44 (2): 129-32.