

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YÖREMİZDE İZOLE EDİLEN *BRUSELLA SPP* SUŞLARININ
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ E-TEST YÖNTEMİ
İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

PINAR ETİZ

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Akgün YAMAN

ADANA-2012

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YÖREMİZDE İZOLE EDİLEN *BRUSELLA SPP* SUŞLARININ
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ E-TEST YÖNTEMİ
İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

PINAR ETİZ

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. AKGÜN YAMAN

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TF2010D9 numaralı proje olarak desteklenmiştir

ADANA-2012

KABUL VE ONAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Doktora Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan
“Yöremizde İzole Edilen Brucella Spp Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının E-Test
Yöntemi ile Değerlendirilmesi”
adlı çalışma aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir

Tarihi: 26/12/2012

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Akgün Yaman
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof. Dr. Fatih Köksal
Çukurova Üniversitesi
Raportör

Prof. Dr. Fügen Yarkın
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Gönül Aslan
Mersin Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Macit İlkit
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şeref ERDOĞAN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında doktora eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, tez çalışmamı yönlendiren, her konuda hoşgörüsü ve yardımıyla destek veren, rahatlıkla ulaşıp danıştığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Akgün Yaman'a;

Eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri ve katkıları olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Fatih Köksal'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Fügen Yarkın ve Prof. Dr. Macit İlkit'e;

Tezimin her aşamasında bana destek olan yüksek lisans öğrencisi Yağmur Ekenoğlu'na, eğitimim süresince her zaman yardımlarını gördüğüm bölüm sekreterimiz Suna Gökmen'e ve tüm anabilim dalı çalışanlarına;

Hayatım boyunca desteklerini hep yanımda hissettiğim sevgili anneme, babama ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Pınar ETİZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL VE ONAY	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 . Tarihçe	3
2.2 . Sınıflandırma	4
2.3 . Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri	5
2.3.1. Görünüm ve Boyanma	5
2.3.2. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri	6
2.4. Dirençlilik	10
2.5. Antijenik yapıları ve virulans faktörleri	11
2.6. Epidemiyoloji	12
2.7. Patogenez	13
2.8. Konak Hücre Yanıtı ve Konak İmmünitesi	14
2.9. Klinik	15
2.9.1. Subklinik Bruselloz	15
2.9.2. Akut Bruselloz	15
2.9.3. Subakut Bruselloz	16
2.9.4. Kronik Bruselloz	16
2.9.5. Relaps	16
2.10. Komplikasyonlar	17
2.10.1. Gastrointestinal Sistem Tutulum	17

2.10.2. Hepatobiliyer Sistem Tutulumu	17
2.10.3. Kardiyovasküler Sistem Tutulumu	18
2.10.4. Pulmoner Sistem Tutulumu	18
2.10.5. Genitoüriner Sistem Tutulumu	18
2.10.6. Göz ve Kulak Tutulumu	19
2.10.7. Deri Tutulumu	19
2.10.8. Osteoartiküler Sistem Tutulumu	19
2.10.9. Santral Sinir Sistemi Tutulumu	20
2.10.10. Hematopoetik Sistem Tutulumu	20
2.11. Tanı	20
2.11.1. Bruselloz Tanısında İncelenen Örnekler	21
2.11.2. Direkt Tanı Testleri	21
2.11.3. İndirekt Tanı Testleri	24
2.12. Tedavi	28
2.12.1. Bruselloz Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler	30
2.12.1.1. Tetrasiklinler	30
2.12.1.2. Aminoglikozit'ler	31
2.12.1.3. Trimetoprim-Sulfametoksazol	31
2.12.1.4. Rifampisin	32
2.12.1.5. Fluorokinolon'lar	32
2.12.1.6. Sefalosporin'ler	32
2.12.2. Farklı Bruselloz Olgularında Tedavi	32
2.12.2.1. Lökomotor Sistem Tutulumu Olan Bruselloz Olgularında Tedavi	32
2.12.2.2 Brusella Endokarditinde Tedavi	33
2.12.2.3. Nörobrusellozda Tedavi	33
2.12.2.4. Gebelikte Bruselloz Tedavisi	33
2.13. Korunma ve Kontrol	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Klinik Örnekten İzolasyon	35
3.2. Değerlendirme	35
3.2.1. Katalaz Testi	35

3.2.2. Oksidaz Testi	36
3.2.3. Vitek 2 Otomatize Sistem	36
3.2.4. Antiserumlarla Aglütinasyon	36
3.3. Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi	36
3.3.1. Bakteri İnokulasyonu	36
3.3.2. E-Test Yöntemi	37
3.3.3. Sonuçların Yorumlanması	37
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	65

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Brusella'ların diğer Gram negatif bakterilerden ayrımı	6
Tablo 2.2. Brusella türlerinin ayrımı	8
Tablo 2.3. Brusella biyotiplerinin ayrımı	9
Tablo 2.4. <i>Brusella abortus</i> ve <i>Brusella melitensis</i> 'in değişik ısı ve ortamlarda canlı kalma süreleri	10
Tablo 2.5. Brusella türleri ve hayvan rezervuarları	12
Tablo 2.6. Dünya sağlık örgütü tarafından komplike olmayan bruselloz tedavisinde önerilen tedavi seçenekleri	30
Tablo 4.1. İzole edilen <i>Brusella melitensis</i> suşlarının MİK değerleri	42
Tablo 4.2. Kalite kontrol suşları için bulunan MİK değerleri	43
Tablo 4.3. Brusella suşlarının antibiyotik duyarlılıkları	46
Tablo 4.4. <i>Brusella melitensis</i> izolatlarına karşı antibiyotiklerin in vitro aktivitesi	46
Tablo 5.1. E-Test yöntemi ile yapılmış bazı çalışmalar	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Olguların cinsiyete göre dağılımı	38
Şekil 4.2. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı	39
Şekil 4.3. Olguların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı	39
Şekil 4.4. <i>Brusella melitensis</i> suşlarının klinik örneklerle göre dağılımı	40
Şekil 4.5. Kan kültürlerinin üreme günleri	41
Şekil 4.6 Antibiyotiklerin MİK değerleri	44
Şekil 4.7 Antibiyotiklerin MİK değerleri	44
Şekil 4.8 Antibiyotiklerin MİK değerleri	45

KISALTMALAR

AM:	Ampisilin
ARDS:	Akut solunum sıkıntısı sendromu
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
CIP:	Siprofloksasin
CLSI:	Clinical and Laboratory Standards Institute
DIA:	Dot-Immunobinding deneyi
DOX:	Doksisiklin
DSÖ:	Dünya sağlık örgütü
E-Test:	Epsilometer testi
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EM:	Eritromisin
FRET:	Fluorescence resonance energy transfer
FPA:	Floresan polarizasyon deneyi
GM:	Gentamisin
IFT:	Immünofloresan test
ORF:	Açık okuma bölgesi
ONPG:	Orthonitrophenyl-beta-D-galactopyranoside
OMP:	Dış membran proteinleri
KFT:	Kompleman fiksasyon testi
LPS:	Lipopolisakkarit
MHC:	Majör doku uyum kompleksi
MHA:	Mueller hinton agar
MİK:	Minimum inhibitör konsantrasyon
PZR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
RES:	Retikülo endotelyal sistem
RB:	Rose Bengal
RFLP:	Restriction fragment length polymorphism
RIA:	Radioimmunoassay

RIF:	Rifampisin
RTD:	Rutin test dilisyonu
SDA:	Serum dekstroza agar
SM:	Streptomisin
SOD:	Süperoksit dismutaz
STA:	Standart tüp aglutinasyon
TIG:	Tigesiklin
TMP/SMZ:	Trimetoprim-Sulfametoksazol
XL:	Amoksisilin/klavulanik asit

ÖZET

Yöremizde İzole Edilen *Brusella Spp* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının E-Test Yöntemi İle Değerlendirilmesi

Bruselloz tüm dünyada yaygın olarak görülen ve ülkemizde kırsal alanlar başta olmak üzere önemli bir sağlık sorunu oluşturan zoonotik bir hastalıktır. Ülkemiz brusellozun endemik görüldüğü coğrafyada bulunmaktadır. Bu çalışmada, klinik örneklerden izole edilen *Brusella* cinsi bakterilerde tür tayini yapılması ve bu suşların klasik tedavi rejimlerinde kullanılan antibiyotiklere karşı in vitro duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya 2010 ile 2012 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesinde, klinik örneklerden izole edilen 50 *Brusella* suşu dahil edilmiştir. İzolatlar Vitek 2 otomatize sistemiyle tür düzeyinde tanımlanmıştır *Brusella* cinsi 50 izolata karşı doksisisiklin, streptomisin, rifampisin, siprofloksasin, tigesiklin, gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazole, eritromisin, ampisilin ve amoksisilin/klavulanik asit'in in vitro aktivitesi E-Test yöntemi ile belirlenmiştir.

Tüm izolatlar *Brusella melitensis* olarak belirlenmiştir. Tüm izolatlar doksisisiklin, streptomisin, siprofloksasin, tigesiklin, gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazole, eritromisin, ampisilin ve amoksisilin/klavulanik asit'e duyarlı (%100) olarak bulunmuştur. Rifampisin'e 11 suş (%22) orta duyarlı, bir suşta (%2) dirençli olarak tespit edilmiştir. Tüm *Brusella melitensis* izolatlarına karşı minimal inhibitör konsantrasyon (MIK₅₀; 0,023 ug/ml ve MIK₉₀; 0,064 ug/ml) değerleri en düşük Trimetoprim-sulfametoksazole'de belirlenmiştir.

Brusella türlerinin antibiyotik duyarlılıklarının belirli aralıklarla tespit edilmesinin ve buna göre tedavinin yönlendirilmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik duyarlılık, *Brusella spp*, Bruselloz tedavisi, E-Test

ABSTRACT

Characterization of Antibiotic Suspectibility of *Brucella Spp* Isolates With E-Test Method In Our Region

Brucellosis is a worldwide zoonotic disease that remains an important public health problem especially in rural Turkey. Our country is located in a area where brucellosis is observed endemically. The aim of this study was to identify *Brucella* species and investigate the in vitro susceptibilities to clinical isolates against antibiotics used in conventional treatment regimens.

The study included 50 *Brucella* isolates obtained from clinical samples from the Çukurova University Balcalı Hospital between 2010-2012. The isolates were identified by the Vitek 2 automated system. In vitro activities of doxycycline, streptomycin, rifampicin, ciprofloxacin, tigecycline, gentamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, erythromycin, ampicillin, amoxicillin/clavulonic acid were evaluated against 50 *Brucella* isolates by the E-Test method.

All isolates were identified as *Brucella melitensis*. All isolates were sensitive (%100) to doxycycline, streptomycin, gentamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin, ampicillin and amoxicillin/clavulonic acid. In all 11 strains were yield intermediate sensitivity (%22) and one strain was resistant to rifampicin (%2) where as the others were sensitive. Trimethoprim-sulfamethoxazole had low minimal inhibitor concentration (MIC₅₀; 0,023 ug/ml and MIC₉₀; 0,064 ug/ml) values against all *Brucella melitensis* isolates.

In our oppinion, we conclude that, the antimicrobial susceptibilities of *Brucella* species should be determined periodically and therapeutic approaches should be directed due this.

Key Words: Antibiotic suspectibility, *Brucella spp*, Brucellosis treatment, E-Test

1. GİRİŞ

Bruselloz; Gram negatif, aerob/mikroaerofil, sporsuz, hareketsiz ve intrasellüler bir mikroorganizma olan *Brusella* cinsi bakterilerin neden olduğu zoonotik bir enfeksiyon hastalığı olup tüm olgularda doğrudan ya da dolaylı olarak hayvan teması söz konusudur^{1,2}. Geçimini ağırlıklı olarak tarım ve hayvancılık ile sağlayan ülkelerde önemli düzeyde maddi kayıplara, insanlara bulaşması sonucunda da fiziksel yetersizlik ve işgücü kaybına yol açan bir hastalıktır^{3,4}.

Bruselloz; dünyanın her bölgesinde görülmekle beraber Arap yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika ve Akdeniz ülkelerinde endemik olarak görülmektedir. Ülkemizde ise Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinde sık görülmekte iken Karadeniz ve Ege bölgesinde daha az rastlanılmaktadır^{5,6}.

Dünyada her yıl yaklaşık 500.000 yeni bruselloz olgusu görülmektedir. Hastalığın yaygınlığı farklı bölgelerde nüfusun sosyo-kültürel ve sosyo-ekonomik özelliklerine ve yerel *brusella* eradikasyon programlarının yoğunluğuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir³.

Bruselloz; her organ ve dokuyu tutabilen, dolayısıyla farklı klinik tablolarla ortaya çıkabilen, mortalitesi düşük, morbiditesi yüksek bir hastalıktır^{7,8}. Bakterilerin hücre içi yerleşim göstermeleri ve oluşturdıkları hastalığın değişik klinik formlarda seyretmesi gibi nedenlerle tedavide kombine antibiyotiklerin uzun süre uygulanması gerekmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 1986 yılında yayınlanan kılavuzuna göre bruselloz tedavisindeki altın standart altı hafta süreyle doksisisiklin ve rifampisin veya altı hafta doksisisiklin, iki-üç hafta streptomisin kombinasyonudur^{9,10,11}. Bu tedavi rejimleri ucuz, komplikasyonları az protokoller olmasına rağmen, bazı dezavantajlara sahiptir. Belirtilen tedavi rejimleri ile bruselloz da relapslara rastlanması, özellikle tüberkülozun endemik olduğu bölgelerde rastlanan rifampisin direnci, streptomisine bağlı ototoksik ve nefrotoksik yan etkiler ve ilaçların farmakokinetik-farmakodinamiğindeki yetersiz veya uygunsuz özellikler yeni tedavi seçeneklerini araştırmayı zorunlu kılmıştır¹². Florokinolonlar, makrolidler ve glisiklinlerin bir üyesi

olan tigesiklin, bruselloz tedavisinde alternatif yeni antimikrobiyal ajanlar olarak sunulmaktadır¹³.

Bruselloz tedavisinde kullanılacak olan antibiyotik seçimi hastalığın kısa sürede sağaltımında önem taşımaktadır. Bu amaçla etken mikroorganizmanın kandan hızlı izolasyonu ve tiplendirilmesi gerekmektedir. Tiplendirilen brusella türlerinin antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi brusellozlu hastaya tedavide atılacak en önemli adımdır.

Çalışmamız da çeşitli klinik örneklerden izole edilen Brusella suşlarının identifikasyonu ve bu suşların E-Test yöntemi ile doksisisiklin (DOX), streptomisin (SM), rifampisin (RIF), siprofloksasin (CIP), tigesiklin (TIG), gentamisin (GM), trimetoprim-sulfametoksazole (TMP/SMZ), eritromisin (EM), ampisilin (AM) ve amoksisilin/klavulanik (XL) asite karşı antibiyotik duyarlılığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Bruselloz hayvanlardan insanlara bulaşan ve gelişmekte olan ülkelerde hala endemik olarak görülen zoonozdur. Özellikle koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi evcil hayvanları etkilemekte ve bu hayvanlardan insanlara direkt ve indirekt yollarla bulaşmaktadır^{14,15}.

2.1. Tarihçe

Hastalık ilk olarak Hipocrates tarafından ‘humma’ olarak tanımlanmış olup, yıllar sonra farklı coğrafi bölgelerde görüldükçe çeşitli isimler almıştır. Hastalık ilk kez Malta adasında saptandığından ‘Malta Humması’, ‘Akdeniz Humması’ ya da ‘Gibraltar Humması’; klinik seyirdeki tipik ateş trasesi nedeni ile “Dalgalı Humma / Ondülan Ateş”; koyunlardan insanlara bulaşması nedeni ile halk arasında “Koyun hastalığı” veya “Mal hastalığı” gibi isimlerle anılmaktadır^{16,17}. Bruselloz ilk defa 1861 yılında Marston tarafından Malta adasındaki İngiliz askerlerinde diğer ateş nedenlerinden “farklı bir ateş nedeni” olarak bildirilmiştir^{14,15,18}. Daha sonra İngiliz hekim Sir David Bruce 1887 yılında Malta adasında ‘Malta Ateşi’nden ölen İngiliz askerlerinin dalak pulpasından etken mikroorganizmayı izole etmiş ve 1895’te *Micrococcus melitensis* olarak isimlendirmiştir¹⁹. 1906 yılında Malta’da incelemeler yapan Zammitt ve Bruce enfeksiyonun koyun ve keçilerde bulunduğunu, insanlara bu yoldan bulaştığını saptamıştır. Veteriner hekim olan Bang tarafından 1895’de Danimarka’da sığırlarda düşüğe neden olan *B. abortus*, Traum tarafından 1914’de Amerika Birleşik Devletlerinde ölü doğan domuzda *B. suis* izole edilmiştir. 1918’de Evans bu bakterilerin hepsini Brucella grubu adı ile bir araya toplamıştır. *B. ovis* 1950 yılında koçlardan, *B. neotomae* 1957 yılında ratlardan, *B. canis* 1966 yılında köpeklerden izole edilmiştir^{14,15,18}. Wright, 1897 yılında bruselloza yakalanan hastaların ve aşıllı hayvanların kanında *B. melitensis*’e karşı aglütininlerin varlığını göstermiş, ayrıca hastalığın tanısı için günümüzde kullanılmakta olan, serum aglütinasyon testini ilk kez gerçekleştirmiştir.

Ülkemizde ilk insan bruselloz olgusu 1915 yılında Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından Kuleli Askeri Hastanesi’nde tedavi edilen bir askerde

tespit edilmiştir. Daha sonra etmen, Zühtü Berke tarafından 1931 yılında sığırlarda, Köylüoğlu ve Aktan tarafından da 1944 yılında Bandırma merinos çiftliğindeki koyunlarda tespit edilmiştir. Yine Türkiye’de insan ve hayvanlarda brusellozun serolojik yöntemlerle saptanması Golem tarafından 1943 yılında bildirilmiştir. İstanbulluoğlu ve arkadaşları tarafından 1983 yılında *Brucella canis* köpeklerde serolojik olarak belirlenmiştir²⁰.

2.2. Sınıflandırma

Brucellaceae, *Proteobacteria* filumunun *Alphaproteobacteria* sınıfının *Rhizobiales* bölümünün üyesidir. *Rhizobiales*’in diğer üyeleri, insanlarda hastalık yapan *Bartonella* (*Bartonellaceae* ailesi), *Afipia* (*Bradyrhizobiaceae* ailesi) ve *Methylobacterium* ile *Roseomonas*’ı (*Methylobacteriaceae* ailesi) da içerir^{19,21}.

Brusella cinsi içerisinde genomik olarak birbirine çok yakın *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* ve *B. neotomae* olmak üzere altı tür tespit edilmiştir²². Deniz memelilerinden izole edilmiş olan *B. maris* henüz nomenklatürde yerini almamıştır. *B. melitensis* üç, *B. abortus* yedi ve *B. suis* beş biyotipe sahip iken diğer türler için herhangi bir biyotip bildirilmemiştir²³. *B. ovis* ve *B. neotomae* dışındakiler insan patojeni olmakla birlikte insanlardan en sık izole edilen türler *B. melitensis* ve *B. abortus*’dur²⁴⁻²⁶.

Çoğu *Brusella* türü, yaklaşık 2,1 ve 1,2 Mbp’lik, iki halkasal kromozoma sahiptirler. Daha büyük olan kromozom I’in aksine, daha küçük olan kromozom II, bir replikasyon orjinine ve bir megaplazmidden köken aldığı öne sürülen genetik içeriğe sahiptir. Kromozomdaki G+C içeriği %57’dir. İki kromozomlu genomun dışında, bu kurala uymayan *B.suis* 3,1 Mbp’lik tek bir halkasal kromozoma sahip olmakla beraber, diğer tüm genetik içerik, diğer tüm *Brusella* türleriyle benzerlik gösterir. *B. suis*, *B. melitensis* ve *B. abortus*’un genom sekanslamaları tamamlanmış ve sekansları karşılaştırılmıştır. Tüm genomik içerik ve organizasyon, yüksek derecede korunmuştur. Sekansları yapılmış *Brusella* genomları arasında bir bitki simbiyotu olan *Mesorhizobium loti* ve *Sinorhizobium meliloti* ile yine bir bitki patojeni olan *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) ile benzerlikleri ortaya konulmuştur. Brusella’nın kromozom I’i yaklaşık 2,100-2,200 açık okuma bölgesi (ORF) ve kromozom II’si yaklaşık 1,100-1,200 ORF’ye sahiptir. Sekansları tamamlanmış üç

Brusella genomunda, tanımlanmış sekansların %99 undan fazlasını bu ORF'ler paylaşır. Bu cinsteki taksonomi, fenotipik ve moleküler tür tanımlaması olarak yapılmıştır^{19,27}.

2.3. Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri

2.3.1. Görünüm ve Boyanma

Brusella türleri 0.5-0.7 µm eninde, 0.6-1.5 µm boyunda, küçük, Gram negatif, kokobasil'dirler^{14,18}. Genelde tek olarak, bazen ikili, kısa zincir halinde veya küçük gruplar halinde bulunabilirler. *Brusella* arada sırada özellikle yetersiz dekolorizasyonda Gram pozitif olarak da görülebilir ve bu durum yanlış identifikasyona yol açmaktadır¹⁹. Kapsülsüz, sporsuz, hareketsiz ve zorunlu aeropturlar¹⁴. *Brusella*'ların diğer Gram negatif bakterilerden ayrımı tablo 2.1'de verilmiştir^{23,28}. Küçük olmalarından dolayı moleküler hareketleri nedeniyle yerlerinde titreşirler (Braunien hareket)²⁹. Smooth (S) ve mukoid koloni oluşturan suşlarda kapsül gösterilebilir. Pasajlarla ve Rough (R) koloni şekillerinde bu kapsüller kaybolur. *Brusella* basilleri boyalarla kolay boyanırlar³⁰. Alkol ve aside dirençli değildirler. Ekzotoksin oluşturmazlar³¹. Ancak %0.5 asetik asit'in de bulunduğu zayıf asitlerle dekolorizasyona dayanıklıdır. *Brusellaların* tanısında, bu özelliğinden faydalanılarak ayırıcı boya teknikleri geliştirilmiştir³².

Tablo 2.1. Brusella'ların diğer Gram negatif bakterilerden ayrımı^{23,28}

Testler	Brusella	<i>B. bronchiseptica</i>	<i>C. fetus</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
Morfoloji	Küçük kokobasil	Küçük kokobasil	Virgül şeklinde	Diplokok	Diplokok	Basil
37 °C üreme	-	+	+	-	-	-
20 °C üreme	-	-	-	-	-	-
Laktoz fermentasyonu	-	-	-	V ^a	V	-
Glikoz'dan asit teşkili	- ^b	-	-	-	V	+
Hemoliz	-	+	-	V	V	-
Katalaz	+	+	+	V	+	+
Oksidaz	+ ^c	+	+	+	-	-
Üreaz	+ ^d	+	-	V	V	+
Nitrat İndirgemesi	+ ^e	+	+	V	+	+
Sitrat kullanımı	-	+	-	-	V	-
S-Brusella antiserumu ile aglütinasyon	+ ^f	-	-	-	-	+
R-Brusella antiserumu ile aglütinasyon	+ ^g	-	-	-	-	-

^a- Genus içinde pozitif ve negatif türler

^b- *B. neotomae* bazen (+)

^c- *B. ovis*, *B. neotomae* ve bazen *B. abortus*'un bazı suşları (-)

^d- *B. ovis* ve bazen *B. abortus*'un bazı suşları (-)

^e- *B. ovis* (-)

^f- *B. ovis*, *B. canis* ve diğer türlerin R suşları hariç

^g- *B. ovis*, *B. canis* ve diğer türlerin R suşları (+)

v- Değişken

2.3.2. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Brusella bakterileri organizmadan yeni ayrıldıklarında besiyerinde yavaş ürerler. Brusella türleri intrasellüler yerleşimli olduklarından, beslenme mekanizmaları komplekstir. Bu yüzden ilk izolasyonda kompleks besiyerlerinin kullanılması gerekir³⁰. Kökenlerin çoğu üreyebilmek için çeşitli aminoasitler, tiamin, nikotinamid ve magnezyum iyonlarından zengin kompleks besiyerlerine gereksinim duyarlar. Besiyerlerine kan ve serum eklenmesi üremeyi olumlu yönde etkiler. Besiyerleri olarak; Brain-Heart İnfüzyon yarı katı besiyeri, karaciğer infüzyon agar, trypticase soy agar, Brusella buyyonu ve agarı gibi besiyerleri kullanılabilir. Optimal üreme ısısı 37 °C (20-40 °C arasında üreyebilirler) ve optimal pH 6.6-7.4 arasındadır. Jelozda 48 saatten sonra 0,5 mm çapında, şeffaf, yüzeyden kabarık, konveks, parlak yüzeyli, şebnem tanesine benzeyen S koloniler oluştururlar. Ancak inkübasyondan 4-5 gün sonra koloniler 2-3

mm büyüklüğe ulaşmaktadır. Zengin besiyerlerinde düzgün kenarlı, konveks, nemli, parlak koloniler oluştururlar. Kolonileri hemolizsiz ve pigmentsizdir^{20,33}.

Üremeleri aerobik ortamda gelişmekle beraber *B. abortus* mikroaerofildir. *B. abortus* ve *B. ovis* ilk izolasyonları için ek olarak %5–10 CO₂'li ortama ihtiyaç duyarlar. Birkaç pasajdan sonra CO₂'siz normal aerop koşullarda üremeye alışır.

Eski kültürlerde oluşan R kolonileri, 6–7 günlük bir süre sonunda matlaşır. R koloni formları yassı, daha büyük çapta, mat ve granüllü bir yüzeye sahiptir³⁴. Ayrıca brusellaların antibiyotik ve kimyasal maddelerden etkilenmeleriyle L formları da meydana gelebilir. M tipi kolonilerin L formları tarafından meydana getirildiği bildirilmiştir³⁵. *B. ovis* ve *B. canis* ilk izolasyonlarından itibaren R koloni şeklinde bulunurlar³⁶. Brusella sıvı besiyerlerinde yavaş üreyerek, homojen bir bulanıklıkla birlikte dipte yumurta akı benzeri tortu oluşturur. R tipi koloniler ise tüp çalkalandığında granüller şeklinde ortamda dağılım gösterir^{31,35,37}.

Brucella spp grubu bakteriler katalaz olumlu, *B. ovis* ve *B. neotomae* dışındakilerde oksidaz olumludur³⁸. Karbonhidratlardan asit ve gaz yapmamakla birlikte glikozu az miktarda kullanırlar. Nitratları redükte ederler. Sütte hafif alkali reaksiyon yaparlar. Jelatini eritmez ve indol oluşturmazlar. Metil Red ve Voges-Proskauer testleri negatiftir³⁴. Sitrat deneyi ve ONPG (Orthonitrophenyl-beta-D-galactopyranoside) negatiftir. Üreaz aktiviteleri değişken olup *B. suis* 15-20 dakikada, *B. abortus* 2 saatten sonra üreaz etkinliği göstererek besiyerinin rengini pembeye dönüştürürler. *B. melitensis* saatler sonra veya olumsuz sonuç verir^{20,33}. H₂S miktarı ve süresi arasında farklar vardır. *B. suis* en uzun süre (3–5 gün) ve en fazla miktarda, *B. abortus* ortalama süre (2 gün) ve miktarda, *B. melitensis* ise en az süre (1 gün) ve miktarda H₂S yaparlar³⁴. Brusella türlerinin ayrımı tablo 2.2.'de verilmiştir²³.

Brusellaların hem tür hem de genus düzeyinde identifikasyonu; faj duyarlılığı ve bazı biyokimyasal testlere dayanmaktadır. Brusella fajları altı grupta sınıflandırılmıştır. Grup 1: Tbilisi (Tb), Grup 2: Firenze (Fi), Grup 3: Weybridge (Wb), Grup 4: Berkeley (BK0, BK1, BK2), Grup 5: R, R/O, R/C, Grup 6: İzmitnagar (Iz). Tb, Wb ve Iz fajları S formundaki brusella türlerinin ayrımında ve R/C fajı *B. canis* ve *B. ovis*'in lizisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tb fajı stabil olduğundan referans faj olarak kabul edilmektedir. Tb fajı rutin test dilüsyonunda (RTD) *B. abortus*'un S kültürlerini lizise uğratır. Fakat *B. suis* ve *B. melitensis* kültürleri etkilenmez. *B. suis* RTD'nin 10⁴ katı

konsantrasyonda kısmen lizise uğramasına rağmen *B. melitensis* Tb fajı ile hiçbir şekilde lizise uğramaz^{20,33,34}.

Tablo 2.2. Brusella türlerinin ayrımı²³

			Faj Duyarlılığı					
			Tb Fajı		R/C			
Türler	Koloni Morfolojisi	Serum Gereksinimi	RTD	10 ⁴ xRTD	RTD	Oksidaz	Üreaz	Konakçı
<i>B. melitensis</i>	S	-	-	-	-	+	+ ^a	Koyun, Keçi
<i>B. abortus</i>	S	- ^b	+	+	-	+ ^c	+ ^d	Sığır
<i>B. suis</i>	S	-	-	+	-	+	+ ^e	Domuz
<i>B. neotomae</i>	S	-	- ^f	+	-	-	+ ^e	Çöl faresi
<i>B. ovis</i>	R	+	-	-	+	-	-	Koç
<i>B. canis</i>	R	-	-	-	+	+	+ ^e	Köpek

^a-Değişik oranlarda bazı suşlar hızlı pozitif

^b-*B. abortus* biyotip 2 hariç (genelde ilk izolasyonda serum gereksinimi vardır)

^c- *B. abortus* biyotip 3 hariç

^d- Referans suş 544 hariç ve ara sıra saha suşları negatif

^e- Hızlı oranda pozitif

^f- Çok ince bir plak oluşturur.

B. melitensis, *B. abortus* ve *B. suis* türlerinin biyotip seviyesindeki identifikasyonu 4 ana testle yapılmaktadır. Bu testler, CO₂ ihtiyacı, H₂S üretimi, boya (tiyonin ve bazik fuksin) duyarlılığı ve monospesifik A ve M antiserumları ile aglütinasyondur. *Brusella* türlerine ait biyotiplerin ayrımı tablo 2.3.'de verilmiştir^{23,39}.

Yeni izole edilen etkenlerin ilk izolasyonundan hemen sonra CO₂ ihtiyacı olup olmadığı kontrol edilmelidir. Boya ve diğer testlerde kullanılacak atmosferin belirlenmesi için önce CO₂ gereksinimi belirlenmelidir. H₂S testinde de kültür Serum dekstroza agar (SDA) içeren bir tüpe ekilip tüpün pamuğuna kurşun asetatlı kağıt yerleştirilir. Kağıt 4 gün boyunca günlük değiştirilerek renk değişikliği kontrol edilmelidir.

Boya duyarlılık testlerinde başlıca SDA, tryptose soy agarlar kullanılmaktadır. Kültürün serum gereksinimi olmasa bile, serum eklenmiş boyalı besiyeri ile serum eklenmemiş olanının üremeleri de karşılaştırılmalıdır. Agar çeşidi kullanılacak boya konsantrasyonunu etkilemektedir. SDA'a 20 µg/ml (1:50.000) oranında bazik fuksin ve tiyonin eklenmektedir. Genellikle *B. melitensis* kültürleri, *B. abortus* ve *B. suis*

kültürleri kadar bolca üreme göstermemektedir. Safranin O duyarlılık testi, *B. suis*'in ayırımında kullanılmaktadır. 100 µg/ml oranında safranin varlığında, *B. suis* suşlarının çoğu inhibe olurken, *B. melitensis* ve *B. abortus* (biyotip 2 hariç) suşları etkilenmezler.

S ve R forma sahip *Brusella* kültürleri kendilerine uygun antiserumlar ile aglütine olurlar. S forma sahip bakteriler A, M veya her iki monospesifik antiserum ile aglütinasyon verirler. Rutin tiplendirme testlerinde monospesifik A, M ve R antiserumları birlikte kullanılmaktadır. *B. melitensis*'in biyotip 1'inde M antijeni, biyotip 2'sinde A antijeni dominant iken biyotip 3'ünde A ve M antijenleri eşit miktarda bulunmaktadır. *B. ovis* ve *B. canis* R antijeni taşımaktadırlar. Dominant yüzey antijeninin monospesifik antiserumlarla belirlenmesinde tüp ve lam aglütinasyon testlerinden yararlanılmaktadır^{23,40}.

Tablo 2.3. Brusella biyotiplerinin ayırımı²³

				Boya Duyarlılığı		Monospesifik Serumlarla Aglütinasyon		
Türler	Biyotip	CO ₂ ihtiyacı	H ₂ S üretimi	Tiyonin	Bazik fuksin ^a	A	M	R
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	+	+	-	+	-
	2	-	-	+	+	+	-	-
	3	-	-	+	+	+	+	-
<i>B. abortus</i>	1	+ ^c	+	-	+	+	-	-
	2	+ ^c	+	-	-	+	-	-
	3	+ ^c	+	+	+	+	-	-
	4	+ ^c	+	-	+ ^b	-	+	-
	5	-	-	+	+	-	+	-
	6	-	-	+	+	+	-	-
	9	+, -	+	+	+	-	+	-
<i>B. suis</i>	1	-	+	+	-	+	-	-
	2	-	-	+	-	+	-	-
	3	-	-	+	+	+	-	-
	4	-	-	+	- ^d	+	+	-
	5	-	-	+	-	-	+	-
<i>B. neotomae</i>		-	+	- ^e	-	+	-	-
<i>B. ovis</i>		+	-	+	- ^d	-	-	+
<i>B. canis</i>		-	-	+	- ^d	-	-	+

^a - Boya konsantrasyonu, 20 µg/ml serum dextroz agar (1:50 000)

^b - ABD, Kanada ve İngiltere'de izole edilen bazı suşlar negatiftir

^c - İlk izolasyonda genellikle pozitifdir.

^d - Suşların çoğu negatiftir.

^e - 10 µg/ml tiyonun konsantrasyonunda üreme şekillenir.

2.4. Dirençlilik

Brusella cinsi mikroorganizmalar 60°C’ de 10 dakikada, % 0,1 fenolde 15 dakikada canlılıklarını yitirirler. Normal mide asidi mikroorganizmayı öldürmeye yeterlidir. Hayvan dışkısında 100 gün, düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay canlılığını sürdürebilir. Enfekte çiğ süttten yapılmış dondurmada 30 gün, tereyağında 142 gün, %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, % 17 tuz içeren ise 1 ay, çeşme suyunda 8°C’ de 57 gün, 25°C’de 10 gün, insan idrarında en az 7 gün canlılığını sürdürebilir. Isıya çok duyarlıdır. Pastörizasyon ile ölürler. Brusella türleri toz, hayvan gübresi, su, sulak alan, toprak, et ve süt ürünlerinde uzun süre canlılığını korur. Bu maddelerde bakterinin canlı olarak kalabilme süresi; maddenin özelliği, bakteri sayısı, ısısı, pH, güneş ışığı ve diğer mikroorganizmaların bulunmasına bağlıdır^{19,29,41}. *B. abortus* ve *B. melitensis*’in değişik ısı ve ortamlarda canlı kalma süreleri tablo 2.4’de gösterilmiştir⁴¹.

Tablo 2.4. *B. abortus* ve *B. melitensis*’in değişik ısı ve ortamlarda canlı kalma süreleri⁴¹

Ortam	Isı veya Ortam	Canlı kalma süresi
<i>B. abortus</i>		
Katı yüzeyler	<31°C, Güneş ışığında	4-5 saat
Çeşme suyu	-4°C	114 gün
Göl suyu	37°C, Ph 7,5	<1 gün
Göl suyu	8°C, Ph 6,6	>57 gün
Kuru Toprak	~20°C	<4 gün
Nemli Toprak	<10°C	66 gün
Hayvan gübresi	Yaz mevsimi	1 gün
Hayvan gübresi	Kış mevsimi	53 gün
Sulu hayvan çıkartıları	Açık toplama tankı	7 hafta
Sulu hayvan çıkartıları	12°C tank	> 8 ay
<i>B. melitensis</i>		
Buyyon	pH>5,5	> 4 hafta
Buyyon	Ph 5	< 3 hafta
Buyyon	Ph4	1 gün
Buyyon	pH<4	< 1 gün
Yumuşak peynir	37°C	48-72 saat
Yoğurt	37°C	48-72 saat
Süt	37°C	7-24 saat

2.5. Antijenik Yapıları ve Virulans Faktörleri

Diğer patojen bakterilerin tersine, brusella bakterilerinin ekzotoksin, sitolizin, kapsül, fimbria, plazmid gibi virulans faktörleri yoktur. Bunların yerine, brusella bakterisinin konak hücreye invaze olmasını, intraselüler ortamda canlılığını sürdürüp çoğalmasını sağlayan moleküler determinantları, gerçek virülans faktörüdür⁴². En önemli virülans faktörleri dış membranda bulunan lipopolisakkarit (LPS) ve dış membran proteinleri (OMP)'dir^{20,43}. S tipi brusella suşlarının LPS tabakasında A, M ve L olarak adlandırılan epitoplara sahiptir. Bunlar birer major antijenik yapı olup, Brusella suşların ayırımında önemli rol alırlar. *B. abortus*'ta L antijeni varken diğer suşlarda yoktur. L antijeninin en önemli özelliği *B. abortus* suşlarının immün serumlarla aglütinasyonuna engel oluşturmaktır⁴⁴. *B. abortus* ve *B. suis*'de A antijeni fazla, M antijeni az, *B. melitensis*'de ise M antijeni fazla, A antijeni az miktardadır. Bu miktarlar oran olarak ifade edildiğinde, *B. abortus* ve *B. suis*'de A'nın M'ye oranı 20/1 iken, *B. melitensis*'de bu oran 1/20'dir. Bu nedenle serolojik metodlar ile *B. melitensis*'i *B. abortus* ve *B. suis*'den ayırmak mümkündür ancak *B. abortus*'u *B. suis*'den ayırmak mümkün değildir^{20,30}. Bu major antijenlerin yanı sıra bakterinin yapısında natif haptene (NH) ve B-polisakkaridi (Poly-B) gibi 20 kadar protein/glikoprotein yapıları minör antijenler yer almaktadır. LPS antijenlerinin hücre yüzeyinde bulunmasına karşılık bu minör antijenik yapıların büyük bir kısmı hücre içinde yer almaktadır⁴³. Bu minör antijenler geç tip aşırı duyarlılık için yapılan deri testlerinde kullanılmaktadırlar²⁰. Brusella bakterilerinde Enterobakter'lerin aksine dış membranda fosfatidil etanolamin yerine fosfatidil kolin daha fazladır. Bu nedenle polimiksin gibi antibiyotikler Brusellaların LPS tabakasına bağlanamadığı için bu tür antibiyotiklere doğal direnç mevcuttur.

Brusella cinsi bakteri antijenleri LPS tabakasındaki N-Formil D-Perosaminlerin benzerliğinden dolayı *Vibrio cholerae* O1, *E.coli* O116 ve O157, *Salmonella* O30, *Y. enterocolitica* O9, *S. maltophilia* ve *F. tularensis* gibi bakterilerle serolojik çapraz reaksiyon verirler^{14,45}.

2.6. Epidemiyoloji

Brusella türleri fakültatif, hücre içi parazittirler ve doğal yaşam ortamlarını belirli hayvan türleri oluşturur¹⁹. Enfeksiyon insanlara direkt veya indirekt olarak hayvanla temas sonrası gelişir. Tablo 2.5’de *Brusella* türlerine göre önemli rezervuar görevi gören hayvanlar ve *Brusella* türlerinin insanlarda enfeksiyon yapma sıklığı gösterilmiştir⁴¹. İnsanlarda hastalık etkeni olan brusella bakterilerinden; *B. melitensis* esas olarak koyun ve keçilerde, *B. abortus* daha çok sığır ve mandalarda, *B. suis* domuz (biyotip 1, 2, 3) ve geyiklerde (biyotip 4) hastalık yapar. *B. canis* başlıca kulübelerde yetişmiş köpeklerden izole edilmiştir. Bu türler içerisinde en virulan olanı *B. melitensis*’dir. Diğer brusella türlerinin insanlarda hastalık yapması çok nadirdir. Brusella türleri esas konaklarında genitoüriner enfeksiyon yaparak düşüğe neden olur ve ülke ekonomisine önemli yük getirir¹⁴.

Tablo 2.5. Brusella türleri ve hayvan rezervuarları⁴¹

Tür	Rezervuar	Diğer konakları	Dünyada insanlarda yaygınlığı
<i>B. melitensis</i>	Koyun, keçi, deve	Sığır, antilop	++++ (olguların %70’i)
<i>B. abortus</i>	Sığır, manda, çakal, sırtlan	At	+++ (olguların % 25’i)
<i>B. suis</i>	Domuz, kurt, tilki	Sığır, geyik	++ (olguların % 5’i)
<i>B. ovis</i>	Koyun	-	Yok
<i>B. canis</i>	Köpek	-	Nadir

Hastalık bütün dünyada görülmekle birlikte özellikle Akdeniz ülkeleri, Arap yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika’da yaygın olarak görülmektedir. İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada’da bruselloz eradike edilmiştir^{14,20}. İnsan brusellozunun gerçek insidansı bilinmemektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre tüm dünyada her yıl

500.000 yeni olgu bildirilmektedir. Ülkeden ülkeye hastalığın prevelansı ve insidansı değişmektedir. *B. abortus* ABD ve kuzey Avrupa’da yaygın görülürken, *B. melitensis*’e Latin Amerika, Akdeniz ülkeleri ve gelişmekte olan ülkelerde daha sık rastlanmaktadır. Peru, Kuveyt ve Suudi Arabistan brusella enfeksiyonu için hiperendemik bölgelerdir. Bruselloz Türkiye’de de endemik olarak görülmektedir¹⁴.

2.7. Patogenez

Brusella bakterisi, gastrointestinal sistem, deri, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra, ilk üremesini bölgesel lenf bezlerinde (mezenterik, servikal, aksiller, supraklaviküler) yaparak hematojen yolla retikülo endotelyal sistem (RES) organlarına ve tüm vücuda yayılır. Yerleştiği başlıca organlar; karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrek, endokard, santral sinir sistemi, testis ve overlerdir²⁰. Midenin düşük asiditesi brusella enfeksiyonuna karşı bir miktar koruyuculuk gösterir. Mide asiditesini azaltan ilaçlar bruselloza yatkınlık sağlar^{15,47}. Brusella cinsi bakteriler fakültatif intrasellüler patojenler olup, konakçının fagositik hücreleri içerisinde çoğalabilirler²⁰.

Bakteri mukozayı aştıktan sonra submukozal dokularda bulunan fagositler tarafından fagosit edilir. Brusella, makrofajlara girerken özel reseptörlere bağlanır. Hücresel prion proteini (PrPc) ve A sınıfı çöpçü reseptörü (SR-A), brusella antijenlerinin bağlandığı reseptörlerdir^{15,48}. Makrofaj ve nötrofiller mikroorganizmayı fagositoz ile içine alırlar. Oponize brusella, kompleman ve Fc reseptörleri aracılığı ile makrofaj veya monosit içerisine alınırken oponize olmayan bakteriler, lipit kıvrımlar aracılığı ile hücre içine alınır⁴⁸⁻⁵⁰.

Brusella, fagosit tarafından hücre içine alındıktan sonra, kendisinin çoğalabileceği özgül bölgeye ulaşır. Hücre içine alınan bakterilerin sadece %15-30’u lizozomla birleşmekten kurtulur ve çoğalabileceği endoplazmik retiküluma ulaşır. Brusella bakterisinin replikasyonu endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Hücre içinde yoğun şekilde çoğalmasına karşın, hücresel fonksiyonlara ve hücre bütünlüğüne zarar vermez⁴². Brusella türleri fagosit içerisinde fagolizozom birleşmesini engelleyerek öldürülmekten korunur. Tam olarak bu korunmanın mekanizması bilinmemektedir. Enfekte makrofajlar TNFα salmasıyla otokrin ve parakrin olarak enfeksiyonu sınırlandırmaya çalışırlar. Gerek uyarılmış T hücreleri gerekse NK hücrelerden

salgılanan IFN γ makrofajların antibakteriyel etkinliğini daha da artırır. Makrofaj aktivasyonu reaktif oksijen ve nitrojen bileşenlerinin ortaya çıkmasına, protein sentezinin inhibisyonuna, majör doku uyum kompleksi (MHC) tip II ifadelenmesinin artışına veya apoptozise neden olur. İstirahat halindeki makrofaj hücre içi patojenlerin eliminasyonu konusunda yetersizlik gösterirken, aktive olmuş makrofaj daha etkin bir şekilde patojenleri parçalayabilir.

Öldürülemeyen bakteriler hızla bölgesel lenf nodlarına ilerler ve burada çoğaldıktan sonra hematojen yolla RES organlarına yayılır. Bu organlarda intrasellüler üremelerine devam ederler^{51,52}. Normal insan serumu bazı brucella türlerine karşı bakterisit etki gösterir. *B. melitensis* serumun bakterisit etkisine karşı dirençlidir ve bu da diğer türlere göre daha virulan olma nedenini açıklar. Smooth lipopolisakkarite sahip brucella bakterisi olmayana göre polimorfonükleer ve mononükleer lökositler içerisinde daha kolay canlılığını sürdürür^{18,29}. Bakterilerin fagositik hücre içerisinde yaşamasında etkili olduğu düşünülen mekanizmalar; bakterilerin lizozomal enzimlere dirençli olması, fagolizozomu engellemesi, adenin ve 5'-guanozin monofosfat üreterek nötrofillerin H₂O₂ oluşturmalarının engellemesi ve sahip oldukları süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile reaktif oksijen moleküllerini uzaklaştırarak oksidatif yıkıma karşı koymasındır⁵³.

Savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılamayan bakteriler, granülom oluşumu ile sınırlandırılmaya çalışılır. Özellikle karaciğer, dalak ve kemik iliğinde epitelooid hücreler, plazma hücreleri ve mononükleer hücrelerle çevrili granülomlar, brucellozdaki karakteristik histopatolojik görünümü oluşturur²⁰. Ayrıca çoğaldığı dokularda oluşturduğu mikroapseler, granülom odakları hastalığın kronikleşmesinde ve relapsında da önemli rol oynar^{50,53}.

2.8. Konak Hücre Yanıtı ve Konak İmmünitesi

Brucella mikroorganizmasının eradikasyonunda esas olarak hücresel immünite rol oynasa da brucellozda hem hücresel hem humoral bağışık sistemi aktifleşir. OMP antijeni hücresel, LPS (A ve M epitopları) antijeni ise humoral bağışık sistemini aktifleştirir. Humoral immünite re-enfeksiyona karşı korumada etkili iken, bakterisidal fazda hücresel immünite daha önemli bir görev almaktadır⁵⁴. Akut brucellozda ilk oluşan antikor Ig-M olup etken ile karşılaştıktan 1 hafta sonra oluşmaya başlar, aylar ve yıllarca yüksek seyredebilir. IgG ise 3 hafta sonra oluşmaya başlar ve iyileşmeyi takiben

10-15 ay içerisinde kaybolur. Kaybolmuş IgG'nin tekrar serumda belirmesi re-enfeksiyon veya relapsın bir göstergesidir. IgM ve IgG'nin sürekli yüksek seviyede olması ise kronik enfeksiyon varlığını gösterir. IgA antikorları ise hastalığın erken evresinde yükselir ve ilerleyen aylarda önemli ölçüde azalır. Bruselloz tanısında fazla önem arz etmemektedir¹⁸.

2.9. Klinik

Bruselloz ateşli, septisemik bir hastalıktan çeşitli doku ve organ tutulumuna kadar, çok çeşitli klinik tablolar şeklinde görülebilir. Hastalığın şiddeti; etken bakterinin türü, konağın duyarlılığı, immünitesi ve altta yatan hastalığın olup olmaması ile yakından ilişkilidir. Brusella enfeksiyonlarının semptomları nonspesifiktir. Genelde belirtiler inokülasyon sonrası 2-4 hafta içerisinde başlar. Bruselloz klasik olarak titreme ile yükselen ateş, aşırı terleme, baş ağrısı, kırıklık, halsizlik, kilo kaybı, bel ve yaygın vücut ağrıları ile seyreden bir enfeksiyon hastalığıdır¹⁴. Klinik belirtilerin geniş spektrumlu olmasından dolayı başta enfeksiyöz (salmonella, tularemi, tüberküloz, sifiliz, viral hastalıklar) ve nonenfeksiyöz hastalıklara benzer. Bundan dolayı hastalığın tanısı sıklıkla gecikir veya yanlış teşhis konulur⁵⁵. Olgularda en sık rastlanan bulgular ateş, splenomegali, hepatomegali, lenfadenomegali ve artrittir. Bruselloz klinik olarak subklinik, akut, subakut ve kronik seyir gösterebilir²⁰.

2.9.1. Subklinik Bruselloz

Semptomlar olmadığı ya da klinik bulgular tam ortaya çıkmadığı halde serolojik bulgular pozitif bulunabilir. Genellikle enfekte hayvanlarla yakın temasta olan mezbaha çalışanları, veteriner hekimler ve hayvancılıkla uğraşanlarda görülür.

2.9.2. Akut Bruselloz

Hastalığın tipik ve klasik formudur. Semptomlar 8 haftadan kısadır. Hastalarda yorgunluk, halsizlik, kilo kaybı, sırt ağrısı, baş ağrısı, miyalji ve artralji bulguları ile birlikte daha çok öğleden sonra yükselen intermittan veya remittan ateş görülür. Hastalarda ateş dışında önemli bir semptom da gezici kas ve eklem ağrılarıdır. Olguların büyük bir kısmında tek eklem tutulur. En sık tutulan eklem sakroiliak eklemdir. Eklem tutulumu olanlarda tedavi sonrası relaps ve re-enfeksiyon sıklığıdır^{15,18,56}.

2.9.3. Subakut Bruselloz

Eksik veya yetersiz antibiyotik tedavisi alan veya yanlış tanı nedeni ile uygunsuz antibiyotik tedavisi alan hastalarda izlenir^{14,15}. Sekiz haftadan başlayıp 52 haftaya kadar (52 gün–52 hafta) uzanan olgular, subakut olarak kabul edilirler. Hasta akut bruselloz gibi bir çok klinik semptomlarla veya kronik bruselloz gibi klinik olarak silik, sadece nöropsikiyatrik ve romatolojik semptomlarla baş vurabilir^{14,18,57}. Bu hastalarda en sık belirtiler yorgunluk, sinirlilik, baş ve bel ağrıları ile ateşin ondulan hal almasıdır. Ateş, üşüme-titre ile 38-39°C'a kadar çıkar, her gün yarım derecelik bir artışla 40-41°C'a yükselebilir. Ateş genellikle gece yarısından sonra bol terleme ile düşer. Bazen 7-10 gün bu şekilde devam eden ateş, yükseldiği gibi yavaş yavaş düşerek 37°C'a kadar iner. 3-5 günlük ateşsiz dönemi takiben başlangıçta olduğu gibi ateşin tekrar yükseldiği görülür. Tarif edilen bu ateş şekli, bruselloz için tipik ondulan ateş trasesi olarak tanımlanmakla birlikte, pratikte ondulan ateşe sık rastlanmamaktadır. Sıklıkla hepatomegali vardır²⁰.

2.9.4. Kronik Bruselloz

Semptomların 52 haftadan uzun sürdüğü olgular kronik bruselloz olarak kabul edilir. Bu vakalar genellikle uygun süre ve dozda tedavi almamış veya fokal süpüratif komplikasyonu olan hastalardır^{18,56}. Genellikle 40 yaş üstündeki erişkinlerde sık görülür. Kronik bruselloz, tüm klinik formları taklit edebileceği gibi çoğu zaman nörolojik, psikiyatrik, kronik yorgunluk sendromu ve romatolojik bulgular hakimdir. Kronik brusellozda IgG antikorunun yüksek titrede sebat etmesi önemli bir laboratuvar bulgusudur¹⁴. Hepatik ve hematolojik komplikasyonlar nadirdir. Episklerit ve üveit gibi oküler komplikasyonlar ise daha sıktır⁵⁸.

2.9.5. Relaps

Relaps, tedavi sonrası dönemde, re-enfeksiyon olasılığı bulunmayan hastalarda kan kültürü pozitifliği ve/veya bruselloza ait klinik belirti ve bulguların ortaya çıkmasıyla tanınmaktadır⁵⁹. Hastaların yaklaşık %5-15'inde tedavi sonrası çoğunlukla 3-6 ay içinde relaps meydana gelebilir.

En önemli nedenleri:

- a) Antibiyotik direnci nedeni ile mikroorganizmanın hücre içinde yaşamını sürdürebilmesi,
- b) Granülomlar ve süpüratif odaklarda mikroorganizmanın tamamen yok edilememesi,
- c) Hastanın yetersiz tedavi alması ve tedaviye uyum göstermemesidir^{58,60}.

Serolojik testlerin relapsı tanımlamadaki değeri sınırlıdır. Relaps gösteren olgularda kan kültür pozitiflik oranının yüksek olmadığı (~%65), bu hastaların klinik belirtilerinin de hafif ve nonspesifik olduğu düşünülürse relapsın tanınması kolay olmamaktadır⁵⁹.

2.10. Komplikasyonlar

Brusella enfeksiyonları, akut sistemik belirtilerin yanı sıra veya bunlar olmadan, özgül organ tutulumlarıyla da ortaya çıkabilir. Bu durum lokalize bruselloz ya da komplikasyon olarak da adlandırılan organ veya sistem tutulumlarıdır^{20,61}.

2.10.1. Gastrointestinal sistem Tutulumu

İştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal veya kabızlık gibi gastrointestinal sistem şikayetleri bruselloz hastalarının yaklaşık %70'inde vardır. Patolojik lezyonlar Peyer plaklarının inflamasyonu ile birlikte intestinal mukozanın hiperemisidir¹⁴. *B. melitensis*'in yol açtığı kolit ve ileit olguları bildirilmiştir^{20,63}. Bruselloza bağlı gastrointestinal kanama da görülebilir¹⁴.

2.10.2. Hepatobiliyer Sistem Tutulumu

Brusellozda karaciğer tutulumu ile sık karşılaşılmaktadır. Akut brusellozda karaciğer enzimlerinde hafif artış ile beraber hepatosplenomegali hastaların %50'sinde görülür. Bu bulgular granümatöz veya nonspesifik hepatite bağlıdır. Ancak brusellozda karaciğer ve dalağın etkilenmesi genelde hafiftir ve antimikrobiyal tedavi ile düzelir¹⁴.

Karaciğerde görülen değişiklikler etken brusella türüne göre değişir. *B. abortus* enfeksiyonu sarkoidozdan ayırt edilemeyen granülom ile karakterizedir. Buna karşılık *B. melitensis*'de ise nekrozu çevreleyen mononükleer hücre kümeleri görülür ve viral hepatite benzer^{18,63}.

Brusellozda izlenen hepatit antimikrobiyal tedavi ile düzelir ve diğer nedenlerin olmadığı durumlarda (hepatit C veya alkolizm) inflamasyon şiddetli dahi olsa siroz gelişmez. *B. melitensis* ve *B. suis* enfeksiyonlarında kronik süpüratif karaciğer apsesi bildirilmiştir¹⁴.

2.10.3. Kardiyovasküler Sistem Tutulumu

Bruselloz olgularının %2'den azında endokardit gelişmesine rağmen bruselloza bağlı ölümlerin önemli bir kısmını oluşturur. Romatizmal kalp hastalıklarının ve *B. melitensis* enfeksiyonlarının yaygın olduğu ülkelerde endokardit olguları daha sık görülmektedir¹⁴. Aort kapağı mitral kapağa göre daha sık tutulur. Hem doğal hem de protez kapaklarda tutulum olabilir. Ventriküllerde, aortda ve diğer arterlerde mikotik anevrizmalar, perikardit ve miyokardit gibi komplikasyonlar görülebilir²⁰.

2.10.4. Pulmoner Sistem Tutulumu

Brusellozda solunum sistemi tutulumu nadiren görülür. Kontamine aerosollerin inhalasyonu veya hematojen yolla yayılımı sonucu ortaya çıkar. Genellikle laboratuvar ve diğer sağlık çalışanlarında sık olup, öksürük, pürülan balgam, nefes darlığı gibi non spesifik bulgular ile başlar. Bronkopnömoni, akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), akciğer apsesi, plevral effüzyon, granülom, nodül, hiler ve paratrakeal lenfadenopati gibi tutulumlar görülebilir. Tanı balgam kültürü ve serolojik incelemeler ile konulur^{14,20,18}.

2.10.5. Genitoüriner Sistem Tutulumu

Brusellozda genitoüriner sistem tutulumu hastaların %1-20'sinde görülür. Genellikle erkeklerde tek taraflı epididimo-orşit şeklinde olmakta bunun yanında prostatit, eksüdatif glomerülonefrit, interstisiyel nefrit, IgA nefropatisi de bildirilmiş olup, pyelonefrit ve renal apse nadir rastlanan durumlardır^{5,64,65}.

Hayvanların plasentasında bulunan eritritol Brusella türlerinin kullandığı başlıca şekerdir ve insan plasentasında bulunmaz. Brusella türleri insan korioamniotik dokuyu gebelik sırasında enfekte edebilir ve prematür eylem, düşük ve ölü doğuma neden olabilir¹⁴.

2.10.6. Göz ve Kulak Tutulumu

Üveit, kronik iridosiklit, endoftalmit, optik nörit, yuvarlak keratit ve multifokal koroidit bruselloz hastalarında bildirilen göz tutulumlarıdır¹⁴. Üveit immun yanıtla bağlı geliştiği düşünülen ve steroid tedavisine yanıt veren bir tablodur¹⁸.

Brusellozda işitme kaybı da gelişir. Genellikle tedavi ile düzelir, kalıcı sağırılık nadirdir. Bunun yanında tinnitus ve vertigo da bruselloz seyrinde sık rastlanan bulgulardır¹⁴.

2.10.7. Deri Tutulumu

Deri lezyonları brusella olgularının %5'inden azında gelişir. Bu lezyonlar döküntü, papül, ülser, apse, eritema nodosum, peteşi, purpura ve vaskülit şeklindedir ve tedavi ile düzelir. Kontak dermatit enfekte hayvanla teması olan veterinerlerde sık rastlanır¹⁴.

2.10.8. Osteoartiküler Sistem Tutulumu

Osteoartiküler komplikasyonlar brusellozlu olguların % 10 – 85'inde görülmekte olup, yaşa ve enfekte eden brusella türüne göre değişmektedir. *B. melitensis* olguların çoğundan sorumlu iken, *B. abortus* ve *B. suis*'e bağlı olgularda görülmektedir. Enfeksiyonun yayılımı ve ağırlığı mikroorganizma virulansı ve konak savunması arasındaki dengeye bağlıdır. *B. melitensis*'e bağlı gelişen olgularda klinik tablo daha ağırdır. Klinikte artrit, spondilit, sakroileit, osteomyelit, tenosinovit ve bursit görülür. Ağırlık binen büyük eklemlerde (örn; kalça, diz, ayak bileği) tutulum küçük eklemlere göre daha sık olmaktadır¹⁴.

Sakroileit genelde tek taraflı olup, genç yaş grubunda ve akut hastalık sırasında görülür. Çocuklarda sakroiliak tutulum çok nadirdir. Sakroileitten sonra ikinci sıklıkla görülen osteoartiküler tutulum şekli periferik artrittir. Artrit akut brusellozlu olguların % 10-20, subakut veya kronik enfeksiyonlularda özellikle 6 aydan uzun süredir enfekte olanlarda % 50-65 oranında görülür. En sık diz ve ayak bileği eklemleri tutulur. Spondilit, daha ziyade kronik brusellozisli, orta ve ileri yaş gurubu hastalarda %75 oranında lomber bölgede görülmektedir⁶⁶⁻⁶⁸. Servikal ve dorsal vertebralar da tutulabilir. Özellikle servikal tutulum nadir görülmekle (%8) birlikte önemli komplikasyonlara neden olabilmektedir^{66,69}. Spinal brusellozisin özellikle tüberküloz'den ayırıcı tanısı

önemlidir. Bunun dışında brusellar spondilit; pyojenik osteomyelit, intervertebral disk herniasyonu, metastatik lezyonlar, plazmasitoma ve aktinomikoz gibi vertebrayı tutan diğer hastalıkları da taklit edebilir⁶⁶.

2.10.9. Santral Sinir Sistemi Tutulumu

Brusellozlu hastalarda depresyon yaygın şikayetlerden olsa da santral sinir sistemine direkt invazyon olguların %5'inden azında görülür. Nörolojik bulgular çok farklı klinik seyirlerde olup; menenjit, meningoensefalit, miyelit, radikülönörit, serebellar ataksi, beyin veya spinal abse, intrakranial hipertansiyon, transversmiyelit ve Guillain-Barre sendromu şeklinde görülebilmektedir¹⁴.

Nörobrusellozda tanı, klinik bulguları olan hastalarda serumda ve beyin omurilik sıvısında (BOS) aglütinasyon testinin pozitifliği, BOS glukozunun azalması, protein artışı, pleositoz varlığı ile konmaktadır. BOS kültüründe brusella bakterilerinin üretilmesi mümkündür^{20,5}.

Brusellozun nörolojik bulguları vertebral tutulumu veya beyin apsesine sekonder olarak ortaya çıkabilir. Nörolojik sistem bulguları hastalığın başlangıcında, seyri sırasında, konvelesan dönemde veya akut enfeksiyonun iyileşmesinden aylar sonra ortaya çıkabilir²⁹.

2.10.10. Hematopoetik Sistem Tutulumu

Brusellozun seyrinde anemi ve lökopeni oldukça sık izlenirken, trombositopeni, pansitopeni, bisitopeni, akut hemoliz ve disemine intravasküler koagülasyon daha az izlenmektedir. Hematolojik laboratuvar anormallikleri genelde bruselloz tedavisiyle düzeltilmektedir⁷⁰. *B. melitensis*'e bağlı gelişen enfeksiyonlardaki hematolojik bulgular *B. abortus* ve *B. suis* olgularındakilere göre daha ağırdır. Brusellozdaki hematolojik değişikliklerin etiyolojisinde hemofagositoz, hipersplenizm, kemik iliği hipoplazisi, kemik iliğinde granülom oluşumu ve immün yıkım rol oynar¹⁴.

2.11. Tanı

Temel olarak bruselloz tanısı bakteri ile karşılaşma hikayesi, mikrobiyolojik ve serolojik testlere dayanır. Brusellozun kesin tanısı mikroorganizma kan, kemik iliği, çeşitli vücut sıvıları ve dokulardan izole edildiği zaman konur⁷¹.

Rutin laboratuvar tetkiklerinde; lökosit sayısı normal olmakla birlikte, bazen lökopeni bazen de $10.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde lökositoz saptanabilir. Lökosit formülünde hafif bir lenfomonositoz bulunabilir. Anemi, lökopeni, trombositopeni sıktır. Eritrosit sedimentasyon hızı değişken olup tanısal değeri düşüktür^{72,73}. Karaciğer fonksiyon testlerinde de yükseklik saptanabilir²⁰. Sedimentasyon ise özellikle kronik bruselloz olgularında orta düzeyde bir artış gösterir⁷⁴.

2.11.1. Bruselloz tanısında incelenen örnekler

Brusella spp kültürü yönünden incelenen örneklerin başında kan ve kemik iliği daha az olarak dalak ve karaciğer biyopsileri, apse, BOS, eklem, periton ve perikard sıvıları ve idrar örnekleri gelmektedir. Serolojik çalışmalar amacıyla en sık alınan örnek ise serumdur⁷⁵.

2.11.2. Direkt Tanı Testleri

Bruselloza neden olan suşun kültürden izolasyonu, antijenlerinin ya da nükleer materyallerinin moleküler tekniklerle gösterilmesi esasına dayanan yöntemlerdir⁷⁵.

A. Gram Boyama: *Brusella* Gram boyamada küçük, Gram negatif kokobasil şeklinde görülür. Soluk boyanma ile karakterizedir. *Brusella* arada sırada özellikle yetersiz dekolorizasyonda Gram pozitif olarak da görülebilir ve durum yanlış identifikasyona yol açmaktadır¹⁹. Direkt materyalden yapılacak Gram boyama örneklerdeki organizma sayısının azlığı nedeni ile genellikle başarısızdır^{71,76}.

B. Kültür: Altın standart mikroorganizmanın izolasyonudur. Ancak hastalık prevelansının çok düşük olduğu ülkelerde ve bölgelerde mikroorganizmanın tanınmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Kanlı agar plağında 48 saatlik inkubasyondan sonra nokta şeklinde, renksiz, nonhemolitik koloniler ürerse ve mikroskopide ince, solgun boyanan Gram negatif kokobasiller görülürse *Brusella* düşünülmeli ve klinisyen uyarılmalıdır. Örneği inceleyen herkes enfeksiyonun aerosolle bulaşma riskinin yüksek olduğu bilincinde olmalıdır. Laboratuvar bu konuda deneyimsizse referans bir laboratuvara örnek yollanmalıdır. *Brusella* şüpheli örnekler iki saat içinde ekilmeli, mümkün değilse $2-8^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmalıdır, alternatif olarak -20°C kullanılabilir⁷¹. Etken en sık olarak kan ve kemik iliği kültürlerinden izole edilir. Floralı bölgelerden izolasyon nadirdir. Kültür için solid (katı) ve sıvı besiyerleri kullanır.

Ekimler çift yapılarak birisi %10 CO₂'li ortamda, diğeri normal atmosfer koşullarına bırakılmalıdır. *Brucella spp.* kanlı agar, çikolata agar, tripticase soy agarda ürer. Bazı türler MacConkey agar, Thayer Martin, Martin-Lewis besiyerlerinde de ürer. Görünür kolonilerin oluşması için 48-72 saate ihtiyaç vardır^{71,76}.

Kan kültürleri sadece sıvı ortamlarda ve bifazik (Castaneda) ortamlarda yapılabilir. Her 3-5 günde bir katı besiyerine pasaj yapılmalıdır. Klasik Castaneda yöntemi ile üremenin gözlenebilmesi için 35 gün inkübasyon gerekebilir. Bakteri izolasyon süresini kısaltmak için lizis konsantrasyon yöntemi uygulanmakta ve bu yöntemin Castaneda'ya göre %20 daha başarılı olduğu bildirilmektedir. Bugün için pek çok laboratuarda kullanılan otomatize kan kültür sistemleri (BACTEC (Becton Dickinson), BACT/ALERT (Bio-Merieux)) ile bakterinin izolasyonu ortalama 3 günde olmaktadır. Otomatize kan kültür sistemleri ile kontaminasyon riski daha azdır. Otomatik sistemlerin üreme uyarı sistemleri de mevcuttur. Hızlı bakteriyel identifikasyon sistemleri dikkatli değerlendirilmelidir (örneğin API) çünkü bazen *Brucella* türleri yanlışlıkla, *Moraxella phenylpyruvica* olarak identifiye edilebilir^{14,71,75,77,78}.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri: *Brucella* bakterilerine disk difüzyon testi uygulanmamalıdır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2007 yılında yayımladığı dökümanda sıvı dilüsyon yöntemini önermiş ve sadece dört antimikrobik ilaç için sınır değeri belirlenmiştir.

Tetrasiklin: $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ (Duyarlı)

Doksisiklin: $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ (Duyarlı)

Trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX): $\leq 2/38 \mu\text{g/mL}$ (Duyarlı)

Streptomisin: $\leq 8 \mu\text{g/mL}$ (Duyarlı)

Yine bu standartlarda duyarlılık testlerinin en az 'Biyogüvenlik Seviye 2' önlemleri altında yapılması önerilmekte, bu sistemden yoksun olan laboratuvarların suşları referans merkeze göndermeleri gerektiği vurgulanmaktadır.

Dilüsyon yöntemleri zaman alıcı, kolay olmayan yöntemlerdir. Son yıllarda minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) tayini yapabilen epsilometer (E-test) antibiyotik duyarlılık testi, başarıyla kullanılan yöntemlerden biri olmuştur⁷⁹.

E-Test Yöntemi: Yayılım temeline dayanan, plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiyal ajanın MİK değerinin saptanabildiği bir duyarlılık yöntemidir. Strip'in bir tarafında ilaç, belirli ve sürekli bir konsantrasyon değişimi olacak şekilde bulunur. Diğer yüzünde de antimikrobiyal ajanın strip'in ucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyonları bir cetvel gibi sıralanmıştır. Standart bakteri inokulumu, test için uygun katı besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra stripler yerleştirilir. İnkübasyon süresi sonunda elips şeklindeki inhibisyon alanının strip'i kestiği konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenir. E-test strip'leri -20°C'de saklanır. Kullanımdan 30 dakika önce çıkarılıp oda sıcaklığına ulaşması sağlanır²⁰.

C- Moleküler Testler

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): Bruselloz tanısında PZR, kültür ve serolojik testlerden daha duyarlıdır. Tüm materyaller için uygun bir testtir ayrıca tanı amaçlı kullanılabileceği gibi, tiplendirmelerde, epidemiyolojik çalışmalarda da kullanılır. 16S rRNA gen dizisini temel alan PZR metodları güvenilir sonuçlar vermiştir. DNA düzeyinde Brusella'ya en yakın bakteri olan *Ochrobacterum* ile çapraz reaksiyon olabilir ancak çok nadirdir, ayrıca bu bakteri ile enfeksiyon da çok nadirdir^{80,81}.

PZR testinin sensitivite ve spesifitesi fokal komplikasyonu olan (menenjit, endokardit, spondilit, orşi-epididimit) olan hastalarda ve tedavi sonrası relapslarda yüksektir. Serum örneklerinde çalışma tüm kanda çalışmaya göre daha yüksek sensitiviteye sahiptir. Serum PZR testlerinin uygulanması ile işlemler basitleşmiş ve zaman kazanılmıştır^{71,82,83}.

Restriction Fragment Length Polimorphism (RFLP): Türe özel RFLP, genusun üyelerini ayırmada kullanılabilecek moleküler testlerden biridir²⁰.

Multipleks PZR ve Real-Time PZR: Değişik biyolojik ajanlara spesifik primer setlerden hazırlanan bir kokteyl tek bir tüpte çalışılabilir. *Leptospira spp.* ve *Brucella spp.* için hazırlanan mPZR deneyi %100 sensitivite, %93 spesifite göstermiştir^{76,80}.

Redkar ve ark. 2001'de Bruselloz tanısında real-time PZR tekniğini geliştirdiler. Brusella tanımlanmasında real-time PZR gerekli zamanı çok kısaltır. Fluorescence resonance energy transfer (FRET) proplar yeni generasyon amplikonlarla spesifiteyi yükselterek hibridize olurlar. Jel elektroforez ve DNA dizi çalışmalarına ihtiyaç yoktur.

Şüpheli brucelloz olgusu karşısında çoğu zaman en az iki kan kültürü alınmakta ve pek çok serolojik test uygulanmaktadır. Bu testler için gerekli materyal ve personel gideri aşağı yukarı in-house PZR deneylerindeki kadardır. Sonuçta PZR oldukça sensitif, spesifik, uygulaması kolay ve hızlıdır. Ayrıca laboratuvar enfeksiyonları da önlenmiş olur⁷¹.

2.11.3. İndirekt Tanı Testleri (Serolojik Testler)

Bu yöntemler hastalığa neden olan mikroorganizma ya da bu mikroorganizmanın antijenlerine organizmanın verdiği bağışık yanıt sonucu oluşan antikor ve otoantikorların serolojik olarak belirlenmesi; antijenlere karşı organizmada ortaya çıkan aşırı duyarlılığın (alerji) ‘deri testleri’ ile araştırılması ile yapılan tanı yöntemleridir⁷⁵.

A-Hızlı Agglütinasyon Testleri: Bu testlerde bakterinin konsantrasyonu belli değildir. Alınan pozitif sonuçların serum tüp agglütinasyon testi ile doğrulanması gerekir⁷⁵.

1-Rose Bengal (RB): *B. abortus*’un S99 suşundan hazırlanan ve Rose-Bengal boyası ile boyanan, tamponlu tuzlu sudaki yoğun Brusella antijeni kullanılarak yapılan bir deneydir. pH 3,6-3,7’ye ayarlanır. En hızlı ve duyarlı tarama testidir. Endemik bölgelerde tüm ateşli hastalara uygulanmalıdır. Bu testte bir lam üzerine 0.03 ml oranında antijen ve aynı oranda hasta serumu damlatılarak 3-4 dakika karıştırılır. Bu süre içinde bakterilerin kümeleşerek aglutine olması pozitif sonuç olarak değerlendirilir⁴³. *Y. enterocolitica* O:9 suşuyla verdiği çapraz reaksiyon nedeniyle yanlış pozitifliklere yol açabilir. Piyasada bulunan RB testlerinin sensitivitesi %96 ile %100 arasında değişir⁷¹.

2-Lam Agglütinasyon Testi (Spot Test)

Tam kan kullanılarak yapılan lam agglütinasyon testidir. Özellikle kitle taramalarında bir ön test olarak kullanılır⁷¹.

3-Mikroagglütinasyon Testi

Daha kısa inkübasyon zamanı ve daha az antijen gerektiren bir testtir²⁰.

B- Tüp Aglütinasyon Testleri

1-Serum Tüp Aglütinasyon Testi (Wright Testi): Yeni tanı yöntemleri ile birlikte değerlendirildiğinde serum tüp aglütinasyon (STA) testi brusella aglütininlerini saptamada hala altın standart testtir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır⁷⁵. *B. abortus* S99 veya *B. abortus* 1119 kökenlerinin kolonilerinden alınan bakterilerin ısı ile öldürülmüş fenollü süspansiyonundan elde edilen antijenin, hasta serumunun ardışık dilüsyonları ile karşılaştırılması esasına dayanır. Bu antijen, LPS benzerliğinden dolayı *B. abortus*, *B. suis* ve *B. melitensis*'e karşı oluşmuş antikorlar tarafından aglütine edilir. 1/160 ve üzerindeki titreler veya 4 kat titre artışı anlamlı kabul edilmektedir. Üç haftalık bir hastalık süresinden sonra, hastaların %97'sinden fazlasında enfeksiyon serolojik olarak saptanabilir. Uygun antibiyotik tedavisine karşın olguların %5-72'sinde anlamlı STA testi titrasyonları iki yıla kadar yüksek kalabilmektedir. Normal kimselerde ve özellikle veteriner, kasap, çoban, çiftçi gibi meslekleri olan kişilerin serumlarında 1/80-1/100 titresinde brusella aglütininleri bulunabileceğinden, hasta serumları 56°C'de 30 dakika inaktive edilirse bunların etkisi önlenir²⁰.

STA testinin düşük spesifitesi diğer proteinlerle olan çapraz reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Romatoid faktör aktivitesi ile oluşan IgM ise STA testindeki spesifite düşüklüğünden sorumludur. Romatoid faktör de, STA testi uygun tedavi protokolünün seçiminde ve hastalığın seyrini göstermede önemli olan farklı immunglobulin sınıflarını ayırt edemez⁷¹.

STA testi Francisella tularensis, Yersinia enterocolitica enfeksiyonları ve Vibrio cholerae aşısı olanlarda, salmonella O:30, Escherichia hermannii, Escherichia coli O:157, Stenotrophomonas maltophilia, Vibrio cholerae O:1, Yersinia enterocolitica O:9, lipopolisakkaritleri ile veya lenfoma ve tüberküloz olgularında çapraz reaksiyon verebilir²⁹.

2-Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) veya 2-Mercapto Ethanol'lü Aglütinasyon Testi

Klasik STA testinin hasta serumunun 2-Mercapto Etanol veya Rivanol ile muamele edilerek yapılmış şeklidir. Bu test ile hasta serumundaki IgM antikorlarının polipeptit zincirleri kırılarak aglütine olma özelliği ortadan kaldırılır. Dolayısıyla sadece

IgG tipi antikorların titresini ölçülmüş olur. Bu titre ne kadar yüksek ve STA testinin titresine ne kadar yakın ise reaktivasyon olma olasılığı o kadar fazladır^{43,85,86}.

3-Coombs Testi

Klinik olarak bruselloz belirtileri olduğu halde yapılan aglütinasyon deneylerinin olumsuz olması, brusellozda sık rastlanan bir durumdur. Olay antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglütinasyon reaksiyonu oluşturmamasını engelleyen mekanizmanın bulunmasından doğmaktadır. İnkomplet ya da blokan antikorlar olarak tanımlanan bu tip immunglobulinlerin varlığında, antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon meydana gelmemektedir. Bu antikorlar Coombs serumu (antihuman globulin) kullanılmak suretiyle ortaya çıkarılır. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar²⁰.

Bu testin özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önemi vardır.

Hastalığın erken ve geç dönemlerinde, yüksek antikor titreli serumlarda daha sık olmak üzere prezon olayı ve diğer bloke edici fenomenler nedeniyle yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir. Prezon olayı, blokan antikorlara bağlı gelişebileceği gibi, ortamda eşit miktarda antijen ve antikor bulunmamasına bağlı olarak da ortaya çıkabilir. Özellikle serum yüksek titrede antikor içerdiği zaman aglütinasyon düşük serum dilüsyonlarında gizlenebilir. Bu durum prezon olarak adlandırılır. Ancak serum örnekleri sulandırılmalarının oldukça ileri oranlarda olması ile prezon olayı önlenir²⁰.

C. Kompleman Fiksasyon Testi (KFT): Bu test kompleman sisteminin antijen - antikor kompleksine bağlanma ve onları lizis etme özelliğine dayanarak yapılmaktadır⁴³.

KFT en sensitif ve en spesifik konvansiyonel serolojik yöntem olması nedeniyle bruselloz tanısında doğrulama testi olarak kabul edilmektedir. STA testi sonuçlarının yetersiz kaldığı veya negatif olduğu inkübasyon dönemi, geç kronik safha veya aşılmalarda KFT önemli bir tanı yöntemidir⁷¹.

D. İmmünofloresan Test (IFT): Konvansiyonel metodlarla karşılaştırıldığında farklı antikor sınıflarını saptamada kullanılır⁷¹.

E. Radioimmunoassay (RIA): Bu test radyoaktif madde ile işaretlenmiş antikorlar kullanılarak hasta serumunda antijen veya antikor arama esasına dayanır. Blokan veya non-aglütinan antikorlarla ilgili problemler RIA’da önlenmiştir. RIA’nın sensitivitesi yüksektir⁷¹.

F. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Bu test antijen antikor ilişkisini antijen ya da antikora bağlanmış bir enzim ve bu enzimle reaksiyona girebilecek uygun bir substrat sisteminin bulunması sonucu oluşabilecek renk değişiminin izlenmesi esasına dayanır⁸⁷.

ELISA tüm bakterinin, soluble antijenlerin (örn; S-LPS veya nativ haptin polisakkaridi) veya hücre ekstraktlarına (dış membran, sitoplazmik proteinler) karşı anti-Brusella antikorlarını saptamada yararlı olabilir. ELISA bruselloz tanısında immünglobulin sınıflarının profilini veren hızlı, yüksek duyarlılıklı, özgül ve güvenilir bir yöntemdir. Tüm diğer testlerin yerini alabilir. Sensitivitesi RIA ve IFT ile eşittir^{71,88}.

Son zamanlarda geliştirilen “Competitive Enzyme Immunoassay (CELISA)” in özgüllüğü %96.5-100; duyarlılığı ise %94.8-100 arasında bulunmuştur. CELISA S-LPS’nin O-polisakkaritlerine karşı oluşan özgül M antikorlarının aranması esasına dayanan bir testtir. M antikorları çapraz reaksiyon veren antikorlarla yarışır⁷⁵.

İnsan kanındaki Brusella antijenleri direkt olarak sandwich ELISA ile saptanabilir, kan kültürü pozitif hastalarda spesifitesi %99.5, sensitivitesi %100’dur.

ELISA duyarlılığı ve özgüllüğü ile çoğu testten üstün olmasına rağmen pahalı oluşu en büyük dezavantajdır⁷¹.

G. Dot-Immunobinding (DIA) ve Dipstick Deneyi: Soluble Brusella antijenleri nitroceluloz membranlara fikse edilmiştir, sığır ve koyunlarda anti-brucella antikorlarının saptanması için kullanılır. Enzimle konjuge edilmiş antikorların kullanıldığı DIA dot-ELISA STA, RBT ve KFT’den daha sensitif bulunmuştur. Smits ve ark. 1999’da insan brusellozu tanısı için piyasada bulunmayan hızlı bir dipstick yöntemi geliştirmişlerdir. Bu testin sensitivitesi hastalığın ortaya çıkışından 2 hafta sonra alınan serumlarda %89, spesifitesi %98.6 olarak saptanmıştır. Saha çalışmaları için uygun olabilir. Mısır’da kullanılmıştır. Türkiye’de yapılan bir çalışmada hastalığın ilk iki ayında sensitivitesi %89 olarak bulunmuştur. Uygun laboratuvar şartları olmayan yerlerde ve kırsal bölgelerde hızlı tanı testi olarak kullanılabilir⁷¹.

H. Floresan Polarizasyon Deneyi (FPA): Hayvanlarda bruselloz tanısı için geliştirilmiştir⁷¹. Bu deneyin esası florokrom ile işaretli çözelti içindeki az miktardaki bir çözünür antijen ile antikoruyla kompleks oluşturmuş antijen molekülü arasında rotasyonel farklılıklara dayanmaktadır⁷⁵.

I. Brucellacapt: Son zamanlarda geliştirilen bu test yöntemi, immunocapture aglütinasyon tekniği temeline dayanmaktadır. Kuyucuklarda gerçekleşen bir Coombs'lu Brusella aglütinasyon testidir. Coombs testi ile sensitivite ve spesifitesi aynıdır. RB testi veya dipstick test gibi hızlı testlerin yerini alamaz, pahalı, kompleks ve zaman alıcıdır^{71,89}.

J. Brusellergen Deri Testi: Brusellozda alerjik deri testleri, tarama testleri ya da tamamlayıcı test olarak yararlı olmaktadır. Brusellozun alerjik tanısında en sık kullanılan test Brusellergen deri testidir⁷⁵. Brusella cinsi bakterilerin saflaştırılmış nükleoproteinlerinden elde edilen kompleksin intrakutan olarak enjekte edilmesiyle yapılan bir testtir. Enjeksiyon yapılan bölgede 24 saat içinde kızarıklık, ödem, sertlik ve endurasyon oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edilir. Epidemiyolojik çalışmalarda bir tarama yöntemi olarak kullanılan bu test hastaların çoğunda pozitif ise de negatif olması Bruselloz tanısından uzaklaştırmaz⁸⁷.

Sonuç olarak; tanıda altın standart bakterinin hastadan alınan örneklerden üretilmesidir (kan, kemik iliği, çeşitli vücut sıvıları ve doku örnekler). Serum tüp aglütinasyon testinde saptanan yüksek titreler akut bruselloz tanısı koymaya yeterlidir. Serum tüp aglütinasyon testinde titreler düşükse kompleman fiksasyon testi, Coombs testi yapılmalı ELISA ile spesifik IgG bakılmalıdır. Bunlardan birinde yüksek titre ve STA testinde düşük titre saptanmışsa bu ilerlemiş bir enfeksiyonun göstergesidir. Bu üç test benzer sonuçlar verdikleri için tanıda birini kullanmak yeterlidir. Seçimde teknik zorluklar göz önüne alınmalıdır⁷¹.

2.12. Tedavi

Brusellozda antimikrobiyal tedavi ile semptomlar düzelir, hastalığın süresi kısalmır, komplikasyon ve relaps insidansı azalır¹⁴.

Pek çok antibiyotiğin brusellaya karşı in vitro etkinliği olmasına rağmen; bu bakterilerin makrofaj ve RES hücrelerine yerleşmeleri nedeniyle in vivo tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Bu hücrelerin içinde yüksek konsantrasyonlara ulaşamayan

antibiyotiklerle yapılan tedavi başarısız olmaktadır. Bu nedenle verilen antibiyotiğin mutlaka makrofajlar içine girebilmesi, özellikle de intralizozomal düşük pH'da inaktif olmaması ve tercihen bakterisid etkili olması gerekir. Bruselloz sağaltımında kombine ve uzun süreli antibiyotik kullanımının gerekliliği tartışmalıdır⁹⁰.

Tedavi rejiminin seçimi ve antimikrobiyal tedavinin süresi lokal hastalığın varlığına ve hastanın yaş, gebelik, alerji gibi şartlarına bağlı olarak seçilmelidir.

Brusellozda tedavi, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün de önerdiği ikili ve bazı durumlarda üçlü antibiyoterapi uygulanması şeklindedir. Monoterapi, hızlı direnç gelişimi, bakterinin intraselüler çoğalabilmesi ve relapslar görülmesi nedeniyle önerilmemektedir.

DSÖ 1971'de üç hafta tetrasiklin (4x500 mg, oral) ve iki hafta streptomisin (1 gr/gün, İM) kombinasyonunu önermiştir. Bu tedaviyle nüks oranı %15-26 arasında saptanmıştır⁵. 1981 yılında DSÖ tarafından bruselloz tedavisi; tetrasiklin (4x500 mg, oral) 6 hafta ve streptomisin (1 gr/gün, İM) 3 hafta süreyle kullanılması şeklinde önerilmiştir. Bu tedavi ile nüks oranı %2,8-8,4'lere düşürülmüştür²⁰. DSÖ tarafından 1986 yılında hastalığın tedavisinde değişiklik yapılmış ve bir tetrasiklin türevi olan doksisisiklin (2x100mg/gün, oral) ve rifampisin (15 mg/kg/gün, oral) kombinasyonun 6 hafta süre ile uygulanması önerilmiştir⁵. DSÖ tarafından komplike olmayan bruselloz tedavisinde önerilen tedavi seçenekleri, çocuk ve erişkin dozları Tablo 2.6'da özetlenmektedir⁴¹.

Tablo 2.6. Dünya sağlık örgütü tarafından komplike olmayan bruselloz tedavisinde önerilen tedavi seçenekleri⁴¹

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

2.12.1. Bruselloz Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler:

2.12.1.1. Tetrasiklinler

Brusella türlerine karşı güçlü in vitro aktiviteye sahiptirler. Tetrasiklinler MİK değerinin düşük olması, aktivitelerinin yüksek olması ve intrasellüler penetrasyonlarının

çok iyi olması sebebiyle tedavide ilk seçilecek antibiyotiklerdir²⁰. Bakteriyostatik etki gösterirler. Tetrasiklinler bakteri hücrelerinde ribozomal 30S subünite reversibl olarak bağlanırlar ve aminoasit-tRNA'nın mRNA-ribozom kompleksine bağlanması engellenir. Böylece uzayan peptid zincirine yeni aminoasit eklenemez ve bakteri hücrelerinde protein sentezi durur¹⁴. Doksisiklin, tetrasiklinler içerisinde yağda en fazla çözünen yapıda olması, günde iki doz kullanım kolaylığı, kan-beyin bariyerini en iyi geçebilen tetrasiklin grubu olması ve lökositler içine daha fazla nüfuz edebilmesi sebebiyle tercih edilmektedir²⁰.

Gebelerde ve dişleri boyama riskinden dolayı sekiz yaşından küçük çocuklarda kullanılmaz.

2.12.1.2. Aminoglikozit'ler

Aminoglikozit'ler brusella bakterilerine karşı orta derecede aktiviteye sahiptirler. Protein sentezini inhibe ederek etkilerini gösterirler. Brusella için bakterisidal etkili olup spontan direnç oranı düşük olan ve üzerinde en fazla çalışma yapılan aminoglikozit'lerin başında streptomisin gelmektedir⁹. Streptomisin 3 hafta kullanımı önerilmiş ancak 2 haftadan uzun kullanımının nüks oranını azaltmadığı ve işitme kaybı riskini artırdığını bildiren çalışmalar da vardır⁵.

Ayrıca gentamisin, kanamisin, netilmisin, spektinomisin ve amikasin'nin de in vitro etkili oldukları bildirilmiştir²⁰. Yapılan çalışmalarda, Doksisiklin 45 gün+streptomisin 14 gün tedavisinin etkinliğiyle Doksisiklin 45 gün + gentamisin / netilmisin yedi gün etkinliği spondilit gibi komplike olguların tedavisi hariç klasik bruselloz olgularının tedavisinde eş değer bulunmuş olup, böylece hastalarda aminoglikozit kullanım süresi kısaltılarak, fiyat ve yan etkilerin azaltıldığı bildirilmiştir^{5,91}.

2.12.1.3. Trimetoprim/Sulfametoksazol (TMP-SMZ)

Brusella için bakterisidal etkiye sahiptir. Sekiz yaşının altındaki çocuklarda, tetrasiklini tolere edemeyen kişilerde veya gebelerde (son trimester hariç) tercih edilen, ancak tek başına kullanıldığında %40-50'ye varan nüks oranı bildirilen bu nedenle kombinasyon şeklinde kullanılması gereken bir ilaçtır^{16,5,20}.

2.12.1.4. Rifampisin

DNA'ya bağımlı RNA polimerazı inhibe ederek etkisini gösterir. Rifampisin hem polimorfonükleer lökosit ve makrofajlara iyi penetre olmakta hem de intrasellüler ortamda bakterisidal etki göstermektedir. Ancak Brusellozda relaps riski yüksek olduğu için bu antibiyotiğin tek olarak kullanılmaması önerilmektedir⁹. Bu nedenle doksisisiklin veya TMP-SMZ ile kombine edilerek kullanılır. Gebelerde ve çocuklarda kullanılabilir²⁰.

2.12.1.5. Fluorokinolon'lar

Son yıllarda bruselloz tedavisinde kinolonların kullanımı gündeme gelmiştir. Etkilerini DNA girazı inhibe ederek gösterirler. Kinolonlar intrasellüler penetrasyonu iyi, makrofaj için kolayca giren ve birikebilen, bakterisidal etkili antimikrobiyallerdir^{92,91}. Özellikle ofloksasin ve siprofloksasin bruselloz tedavisinde etkili bulunan kinolonların başında gelir. İn vitro çalışmalar, florokinolonların brusella bakterilerine etkili olduğunu göstermekle birlikte, monoterapide yüksek oranda relaps görülmesinden dolayı, tedavide başka bir ajanla kombine olarak verilmelidir^{16,5,14,20}.

2.12.1.6. Sefalosporin'ler

Birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler brusella kökenlerine etkisiz bulunurken, üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefotaksim, seftriakson ve seftizoksim in vitro etkili ajanlardır. İn vitro brusella türlerine en etkili sefalosporin seftriaksondur²⁰.

Seftriakson, gebelerde ve beyin omurilik sıvısına iyi geçebilmeleri nedeni ile nörobruselloz vakalarında kombine tedavide tercih edilen antimikrobiyal ajanlardan biridir^{20,16}.

2.12.2. Farklı Bruselloz Olgularında Tedavi

2.12.2.1. Lökomotor Sistem Tutulumu Olan Bruselloz Olgularında Tedavi

Osteoartiküler tutulum gösteren olgularda yaygın olarak kullanılan kombinasyon doksisisiklin + aminoglikozittir. Spondilitli bruselloz olgularında tedavi süresi 6-12 hafta arasında değişmektedir. Eritrosit sedimentasyon hızı normale dönene ve radyolojik

iyileşme görülene kadar tedaviye devam edilmelidir. Apse oluşan olgularda tedavi en az 3-6 ay olmalıdır⁹².

2.12.2. Brusella Endokarditinde Tedavi

Brusellozda en önemli ölüm nedeni brusella endokarditidir. Bu olgular tek başına antibiyotiklerle tedavi edilebildiği halde, çoğu olgu medikal + cerrahi yaklaşım gerektirmektedir. En sık kullanılan kombinasyon doksisisiklin+streptomisin+rifampisin veya doksisisiklin+streptomisin+TMP-SMZ'dir.

2.12.2.3. Nörobrusellozda Tedavi

Nörobruselloz tedavisinde kullanılan ilaçlar BOS'a iyi geçebilmeli ve tercihen bakterisid etkili olmalıdır⁵. Tetrasiklin grubu antibiyotiklerden doksisisiklin yağda eridiğinden BOS'a geçişi daha iyidir. Streptomisin kan-beyin bariyerini yeterince aşamamaktadır. Rifampisin ise BOS'a iyi geçmesi ve hücre içine girmesi nedeniyle her türlü kombinasyonda kullanılacak bir antibiyotiktir. Brusella menenjit tedavisinde, bakterinin duyarlı olduğu belirlenen III. kuşak sefalosporinler, BOS'a iyi geçebilmeleri nedeniyle tercih edilirler^{20,91}. Nörobruselloz tedavisinde en uygun tedavi rejimi ve süresi konusunda fikir birliği yoktur. Fikir birliği olmasa da doksisisiklinle beraber rifampisin, TMP/SMZ, streptomisin, gentamisin, siprofloksasin, seftriaksonun 2'li veya 3'lü olarak 3-9 ay süreyle kullanılması önerilmektedir^{92,5}.

2.12.2.4. Gebelikte Bruselloz Tedavisi

Tetrasiklin grubu antibiyotikler teratojen olduklarından dolayı gebelerde bruselloz tedavisi için seçilmemelidir. Aminoglikozidlerin de gebelerde risk kanıtları olduğu unutulmamalıdır. Gebe hastaların tedavisinde rifampisin+seftriakson, rifampisin+ko-trimoksazol veya ko-trimoksazol+seftriakson kombinasyonları önerilmektedir⁹³.

2.13. Korunma ve Kontrol

İnsanlarda brusellozun önlenmesi, evcil hayvanlarda brusellozun kontrolü ve eradikasyonuna bağlıdır¹⁶. Hayvanlar için etkili canlı bakteri aşısı; *B. abortus* (suş 19) ve *B. melitensis* (suş Rev-1) türlerine karşı hazırlanmıştır. Bu aşılar ülkemizde de

uygulanmaktadır. *B. suis* veya *B. canis*'e karşı geliştirilmiş aşı yoktur. Bu aşılar insanlara karşı patojeniktir ve insanlarda bruselloza neden olabilir. Brusella türlerinin biyolojik silah olarak kullanılabileceğinden dolayı aşı geliştirilmesine gerek duyulmaktadır. Ülkemizde insan brusellozunun büyük kısmı gıda kaynaklı bulaş veya meslek hastalığı olarak görülmektedir^{41,14}.

İnsanlarda brusellozun önlenmesi için kırsal kesimde yaşayan halk bilinçlendirilmeli çiğ süttten peynir ve yağ yapımı önlenmelidir. Süt ve süt ürünlerinin pastörize edilerek kullanılması veya sütlerin kaynatıldıktan sonra kullanılması gerekmektedir. Peynirlerin salamura yapıp teneke üzerine ve satış yerlerinde yapılış tarihinin belirtilmesi gerekmektedir. Laboratuvar kaynaklı bulaşın önlenmesinde, enfekte materyalle temas durumunda eldiven, gözlük, maske ve önlük kullanılmalı, kültür plakları koklanmamalıdır.

Toplumun bruselloz hakkında bilinçlendirilmesi, risk gruplarının eğitilmesi, enfeksiyon kontrolü açısından son derece önemlidir^{16,14,41}.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, Ağustos 2010-Haziran 2012 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi merkez laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden, hastalık etkeni olarak izole edilen 50 *Brucella spp* suşu incelendi. Suşların identifikasyonu laboratuvarında rutin olarak kullanılan Vitek 2 otomatize sistemde yapıldı. Bu suşlarda doksisisiklin (DOX), streptomisin (SM), rifampisin (RIF), siprofloksasin (CIP), tigesiklin (TIG), gentamisin (GM), trimetoprim-sulfametoksazole (TMP/SMZ), eritromisin (EM), ampisilin (AM) ve amoksisilin/klavulanik asitin'in (XL) vitro aktivitesi E-test ile belirlendi.

3.1. Klinik Örneklerden İzolasyon

Kliniklerden gelen kan kültürü şişeleri, rutin olarak kullanılan Bactec 9240 otomatize kan kültürü cihazına (Becton-Dickinson) konuldu ve cihaz pozitif uyarı verene kadar en fazla yedi gün inkübasyona bırakıldı. Pozitif kan kültürleri ve aynı zamanda diğer klinik örneklerden % 5 koyun kanlı agara (COS; bioMerieux) iki ayrı pasaj yapıldı. Pasajlardan birisi aerob, diğeri %5-10 CO₂'li ortamda 35-37°C'de, 24-48 saat inkübasyona bırakıldı.

3.2. Değerlendirme

İnkübasyon sonucunda besiyerlerinde üreme olan yaklaşık 1-2 mm çapında yuvarlak, düzgün kenarlı, hemolizsiz, pigmentsiz, saydam ve şebnem tanesine benzeyen kolonilerden Gram boyamat yapıldı. Gram negatif kokobasil görünümünde olan koloniler şüpheli koloniler olarak değerlendirildi. Şüpheli kolonilerin tanımlanması amacıyla katalaz ve oksidaz testi, identifikasyon içinde Vitek 2 otomatize sistemi kullanıldı.

3.2.1. Katalaz Testi

Eritrositlerde var olan katalaz aktivitesi nedeniyle, kanlı agardan lam üzerine alınmış koloniye % 3'lük hidrojen peroksitten (H₂O₂) birkaç damla damlatıldı ve hava kabarcığının oluşması pozitif test olarak kabul edildi.

3.2.2. Oksidaz Test

Kanlı agardan kurutma kağıdı üzerine alınan koloniye oksidaz ayırıcı damlatıldı ve 10 saniye içerisinde oksidaz ayırıcının damlatıldığı koloninin mor renk alması oksidaz pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.3. Vitek 2 Otomatize Sistem

Katalaz ve oksidaz işlemlerinden sonra, suşlar identifikasyon için rutin olarak kullanılan Vitek 2 otomatize sisteme verildi. Gram negatif identifikasyon kartı GN (bioMerieux) kullanıldı. Steril salinden (% 0.45-0.50 NaCl, pH 4.5-7.0) sistem için özel kullanılan şeffaf plastik deney tüpüne (12x75 mm) 3 ml konuldu. Tüpe öze ile saf koloniler aktarıldı ve 0,50 McFarland'a (10^8 CFU/ml) eşdeğer yoğunlukta homojen bir süspansiyon hazırlandı. Süspansiyon tüpü, GN kartı kasete yerleştirildi. Veri girişi ve kasetin cihaza yüklenmesi Vitek 2 otomatize sistem kullanım talimatına uygun şekilde yapıldı.

Çalışmada incelenen toplam 50 suş mikrobank saklama tüpünde -20°C'de saklandı.

3.2.4. Antiserumlarla Aglütinasyon

Temiz birer lam üzerine bir damla *B. melitensis* ve bir damla *B. abortus* antiserumları (Remel) damlatıldı ve besiyerinden öze ile alınan şüpheli koloniler *B. melitensis* ve *B. abortus* antiserumları karıştırıldı. Bir dakika içerisinde aglütinasyon oluşumu açısından değerlendirildi.

3.3. Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi

Tüm suşların antibiyotik duyarlılıkları E-Test metodu ile belirlendi. DOX, SM, RIF, CIP, TIG, GM, TMP/SMZ, EM, AM ve XL antibiyotikleri kullanıldı.

3.3.1. Bakteri inokulasyonu

Laboratuvarda -20°C'de bulundurulan suşların besiyerine pasajı yapıldı. Her brusella izolatı için, katı besiyerinde üreyen kolonilerden McFarland nefelometresi ile 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan bakteri süspansiyonlarından steril eküvyon çubuk ile %5 koyun kanı eklenmiş 4 mm

kalınlığında 150 mm'lik Kanlı Mueller Hinton agar (MHA; bioMerieux SA, Fransa) plakları üzerine sürülerek ekim yapıldı ve oda ısısında 15 dakika kuruması için bekletildi.

3.3.2. E-Test Yöntemi

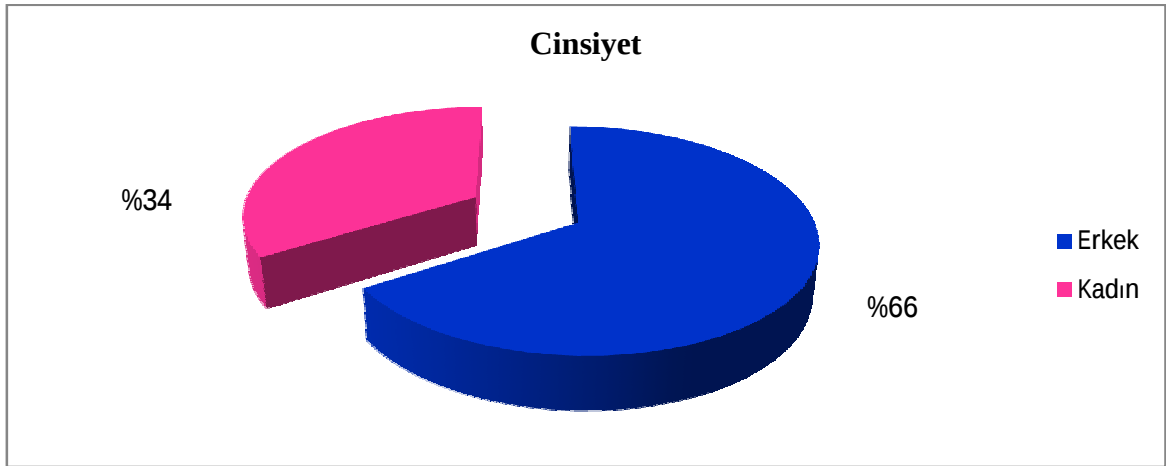
İzolatların MİK değerleri; DOX, SM, RIF, CIP, TIG, GM, TMP/SMZ, EM, AM ve XL için E-test stripleri (bioMerieux SA, Fransa) kullanılarak araştırıldı. Antibiyotik stripleri çalışma anına kadar -20°C'de saklandı. Kullanılmadan önce 30 dakika oda ısısında bekletildi. Her plağa E-test stripleri yerleştirildikten sonra plaklar 37°C'de, aerobik ortamda 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda üremenin inhibe olduğu ve stribi kestiği noktadaki değer MİK olarak belirlendi. İzolatların %50'sini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK₅₀, %90'nını inhibe eden en düşük konsantrasyon ise MİK₉₀ olarak tanımlandı. Testte kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kullanıldı.

3.3.3. Sonuçların Yorumlanması

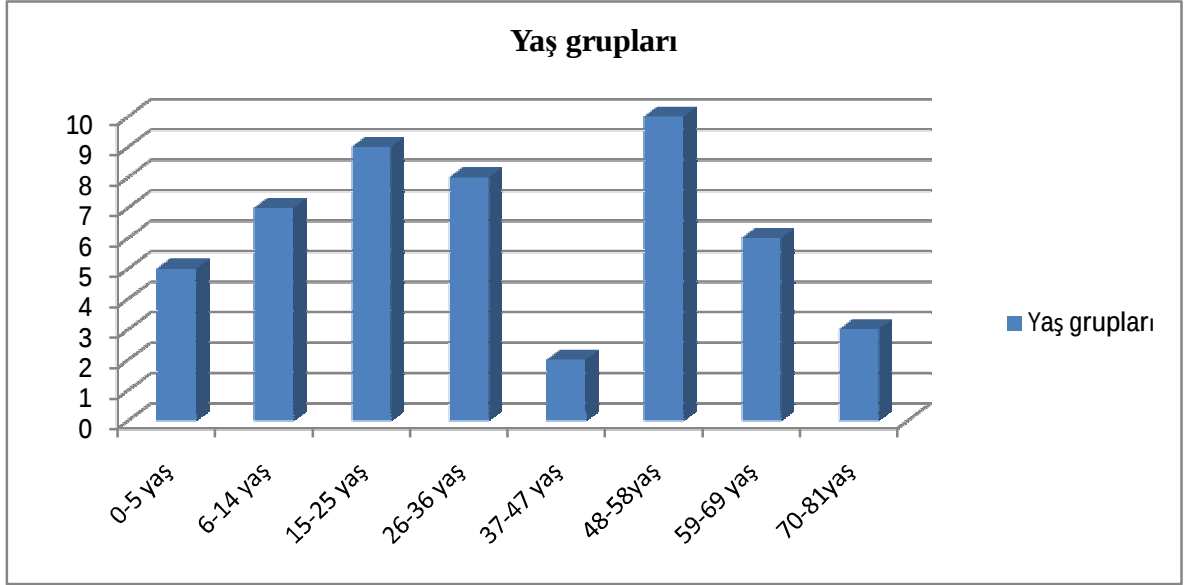
DOX, SM, GM, TMP/SMZ etkisinin belirlenmesinde Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) *Brusella spp.* için önerdiği sınır değerler kullanılırken, RIF, CIP, AM, XL etkisinin belirlenmesinde CLSI'nın güç üreyen bakterilerden olan *Haemophilus* türleri için önerdiği sınır değerleri kullanılmıştır.

4. BULGULAR

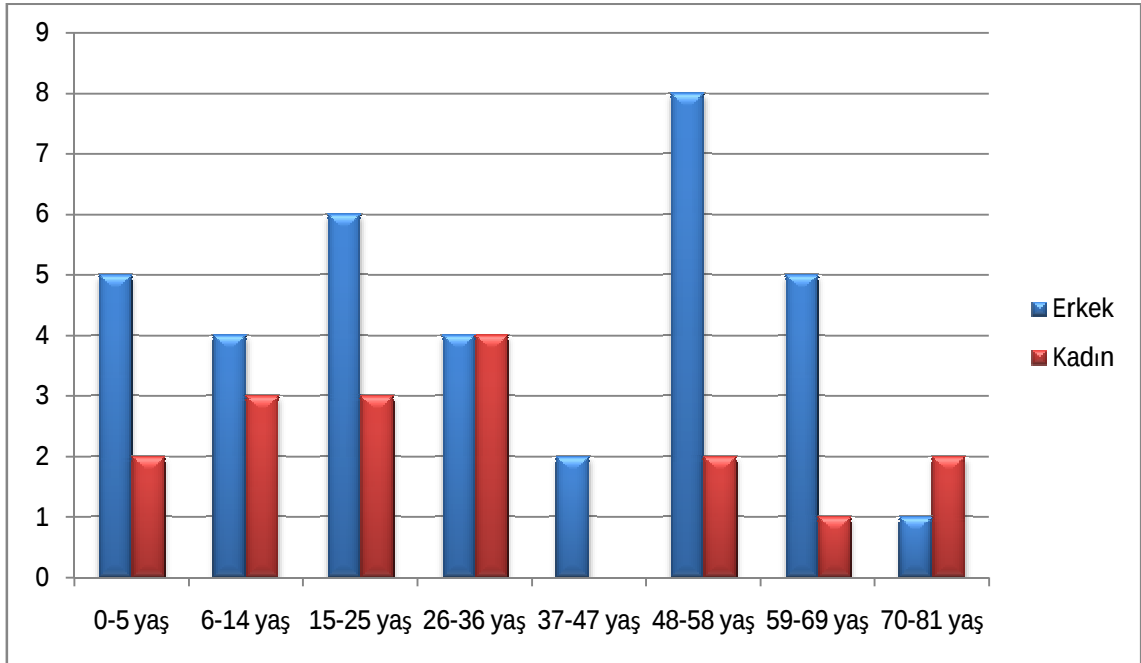
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez laboratuvarı Mikrobiyoloji biriminde çeşitli klinik materyallerden izole edilen 50 *Brusella* suşu çalışmaya alındı. Şuşların tamamı *B. melitensis* olarak izole edildi. Çalışmaya alınan 50 *B. melitensis* suşunun izole edildiği hastaların 33'ü (%66) erkek, 17'si (%34) kadındı. Olguların cinsiyete göre dağılımı şekil 4.1'de görülmektedir. Yaş ortalaması 34.2 ± 22.9 olup yaş aralığı 0 ile 81 arasında değişmektedir. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı şekil 4.2'de görülmektedir. En fazla olgunun 15-25 ve 48-58 yaş gruplarında olduğu görüldü. Olguların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı şekil 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.1. Olguların cinsiyete göre dağılımı



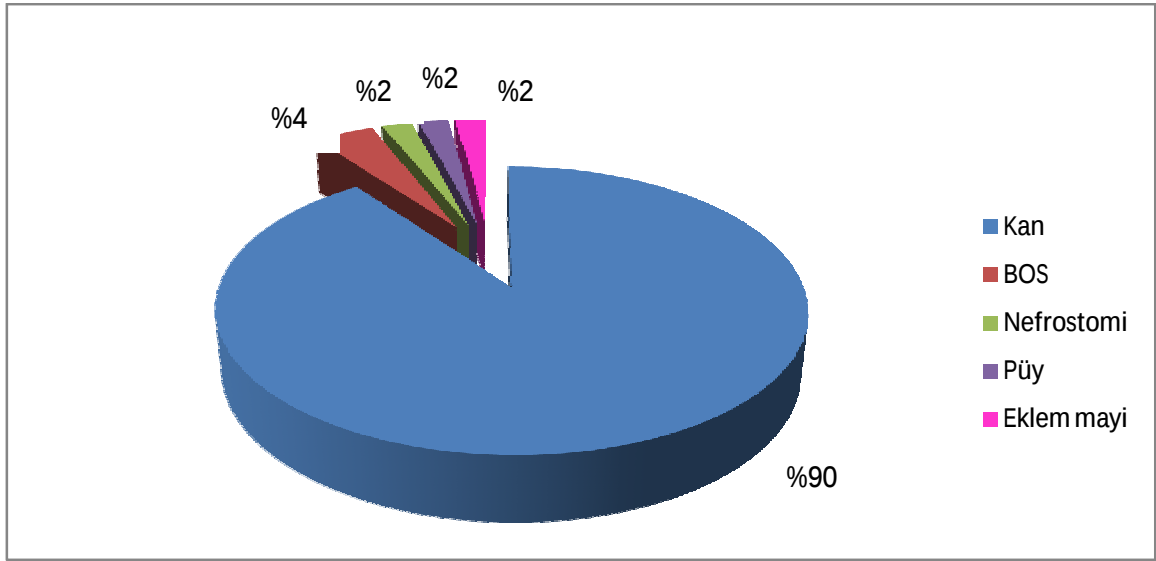
Şekil 4.2. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı



Şekil 4.3. Olguların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı.

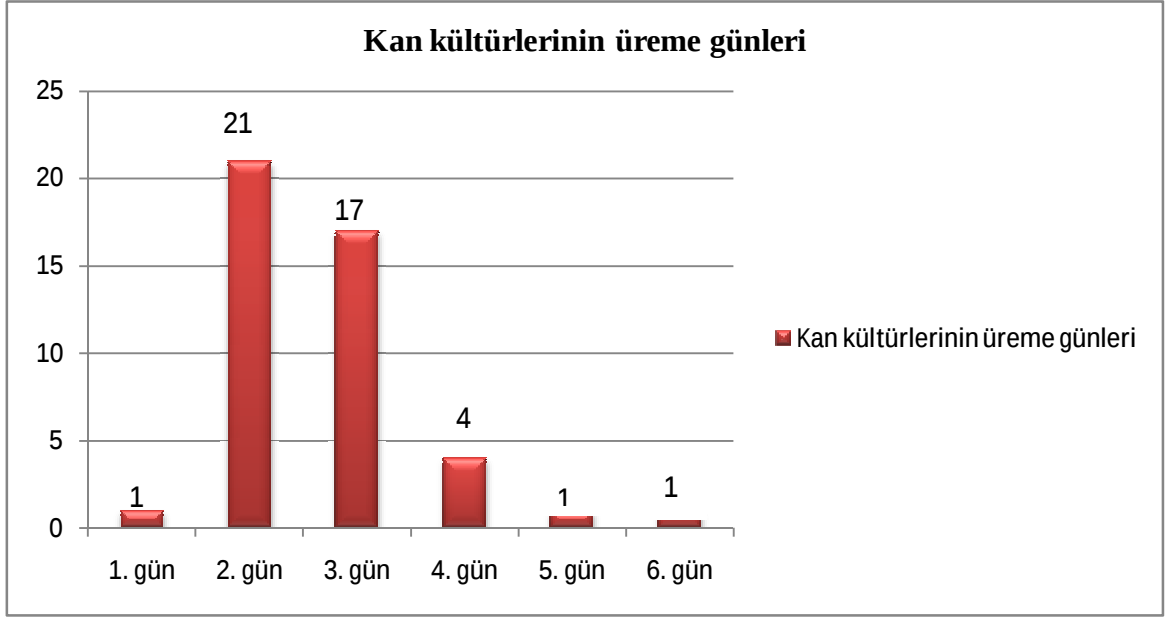
İzole edilen suşların 21'i klinik bakteriyoloji ve enfeksiyon hastalıkları, 12'si çocuk sağlığı ve hastalıkları, ikişer tanesi gastroenteroloji, ortopedi-travmatoloji, beyin cerrahisi, hematoloji, birer adedi de kardiyoloji, romatoloji, kulak burun boğaz, genel

cerrahi, üroloji, göğüs hastalıkları, fiziksel tedavi ve rehabilitasyon, yanık ünitesi ve kalp damar cerrahisi servislerinden gönderildi. Örnek türlerine göre dağılımı incelendiğinde 45'i kan, ikisi BOS, birer tanesi de nefrostomi, püy ve eklem mayi materyallerinden elde edildi. Suşların klinik örneklerle göre dağılımı şekil 4.4'de görülmektedir.



Şekil 4.4. *B. melitensis* suşlarının klinik örneklerle göre dağılımı

Otomatize BACTEC 9240 cihazında; kan kültür pozitifliği olguların tümünde ilk altı günde saptandı. Kan kültürlerinin 39'u (% 87) ilk üç günde üredi. Kan kültürlerinin üreme günleri şekilde 4.5'de görülmektedir.



Şekil 4.5. Kan kültürlerinin üreme günleri, BACTEC 9240 (Becton-Dickinson).

Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 50 *B. melitensis* suşu ve kalite kontrol suşları için elde edilen MİK değerleri Tablo 4.1 ve 4.2’de gösterilmektedir. Yapılan E-Test’ler için kullanılan antibiyotiklerin MİK değerlerini gösteren örnekler, şekil 4.6, 4.7 ve 4.8’de verilmektedir.

Tablo 4.1. İzole edilen *Brusella melitensis* suşlarının MİK değerleri (µg/ml)

Suş No	DOX	SM	RIF	CI	GEN	TM/SMZ	EM	AM	XL	TİG
1	0,064	0,25	0,75	0,125	0,047	0,023	1	0,094	0,064	0,064
2	0,094	0,38	1	0,19	0,032	0,064	1,5	0,094	0,094	0,094
3	0,064	0,5	1	0,19	0,047	0,064	1,5	0,25	0,094	0,094
4	0,094	0,25	0,75	0,19	0,094	0,047	1	0,125	0,094	0,064
5	0,064	0,25	0,75	0,125	0,047	0,032	1	0,094	0,064	0,047
6	0,064	0,25	0,5	0,125	0,047	0,023	1	0,125	0,064	0,047
7	0,047	0,5	0,75	0,19	0,064	0,047	1,5	0,5	0,064	0,064
8	0,064	0,25	0,5	0,125	0,047	0,023	2	0,094	0,064	0,064
9	0,047	0,5	1	0,19	0,047	0,047	1,5	0,125	0,094	0,064
10	0,094	0,125	0,75	0,125	0,032	0,023	0,75	0,5	0,064	0,125
11	0,094	0,19	1	0,125	0,032	0,012	0,75	0,094	0,047	0,094
12	0,047	0,19	1	0,19	0,032	0,016	0,75	0,19	0,064	0,064
13	0,064	0,25	0,38	0,125	0,064	0,008	0,25	0,25	0,094	0,047
14	0,064	0,25	1	0,125	0,032	0,023	0,75	0,125	0,064	0,064
15	0,064	0,19	1	0,19	0,032	0,012	1	0,094	0,064	0,094
16	0,094	0,19	1	0,19	0,047	0,012	1,5	0,125	0,064	0,125
17	0,047	0,25	1	0,19	0,064	0,023	1,5	0,094	0,064	0,064
18	0,094	0,19	1	0,19	0,032	0,047	1	0,094	0,064	0,125
19	0,064	0,25	1	0,19	0,032	0,012	1	0,125	0,064	0,094
20	0,094	0,25	1	0,125	0,064	0,023	1	0,38	0,064	0,094
21	0,094	0,25	1	0,125	0,047	0,016	1,5	0,094	0,047	0,094
22	0,064	0,25	1	0,19	0,047	0,032	1,5	0,094	0,064	0,064
23	0,125	0,25	1	0,125	0,032	0,023	0,75	0,125	0,064	0,125
24	0,094	0,25	1	0,125	0,032	0,016	1	0,125	0,064	0,094
25	0,064	0,38	1	0,125	0,047	0,012	1	0,125	0,047	0,064
26	0,094	0,25	1,5	0,19	0,047	0,023	2	0,094	0,064	0,094
27	0,19	0,38	1,5	0,19	0,064	0,016	1,5	0,5	0,064	0,125
28	0,064	0,25	0,75	0,19	0,047	0,012	0,75	0,125	0,047	0,094
29	0,064	0,25	2	0,19	0,032	0,19	1	0,125	0,094	0,125

Tablo 4.1. (Devam) İzole edilen *Brusella melitensis* suşlarının MİK değerleri (µg/ml)

30	0,064	0,38	0,75	0,125	0,047	0,012	1	0,38	0,047	0,064
31	0,094	0,38	1,5	0,125	0,047	0,016	1	0,094	0,047	0,094
32	0,047	0,25	1	0,19	0,032	0,012	2	0,064	0,047	0,064
33	0,094	0,38	1	0,125	0,047	0,016	2	0,125	0,064	0,094
34	0,094	0,25	1,5	0,19	0,064	0,016	1,5	0,125	0,064	0,064
35	0,094	0,125	1	0,125	0,032	0,012	1	0,125	0,064	0,019
36	0,064	0,19	1	0,125	0,032	0,012	1,5	0,064	0,032	0,094
37	0,094	0,25	4	0,125	0,094	0,032	2	0,38	0,064	0,094
38	0,094	0,38	1,5	0,125	0,094	0,047	2	0,38	0,064	0,094
39	0,064	0,25	2	0,125	0,064	0,064	1,5	0,125	0,047	0,064
40	0,064	0,19	2	0,125	0,064	0,064	1,5	0,064	0,032	0,064
41	0,064	0,125	1,5	0,125	0,064	0,023	1	0,094	0,047	0,094
42	0,064	0,19	1	0,125	0,064	0,032	1,5	0,094	0,047	0,094
43	0,047	0,19	0,5	0,094	0,064	0,064	0,25	0,19	0,047	0,032
44	0,064	0,25	1	0,125	0,047	0,38	1	0,125	0,094	0,094
45	0,094	0,38	1	0,125	0,064	0,016	2	0,25	0,064	0,094
46	0,094	0,25	1,5	0,125	0,064	0,094	1,5	0,5	0,064	0,064
47	0,047	0,38	1,5	0,125	0,094	0,064	2	0,094	0,064	0,064
48	0,064	0,38	1,5	0,125	0,064	0,032	1,5	0,094	0,047	0,094
49	0,064	0,5	1	0,125	0,125	0,023	2	0,38	0,064	0,064
50	0,064	0,25	1	0,125	0,094	0,047	1,5	0,125	0,047	0,064

Tablo 4.2. Kalite kontrol suşları için bulunan MİK değerleri (µg/ml)

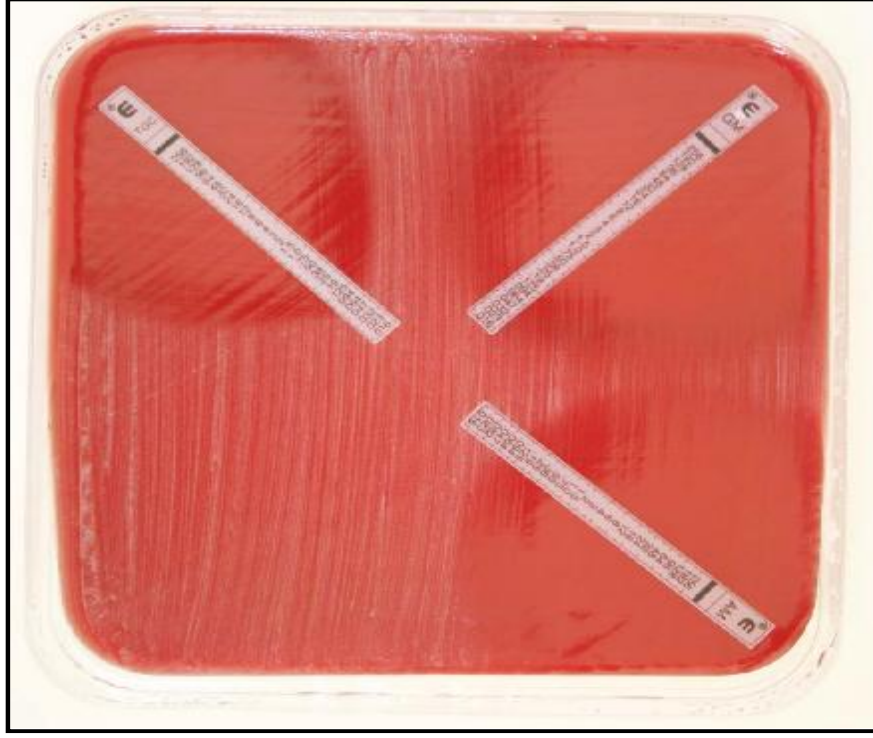
	DOX	SM	RIF	CI	GM	TMP/SMZ	EM	AM	XL	TIG
<i>S.aureus</i> ATCC 29213	0,25	2	0,004	0,19	0,125	0,064	0,064	0,19	0,125	0,094
<i>E.coli</i> ATCC 25922	1,5	8	32	0,008	0,5	0,094	16	4	4	0,094



Şekil 4.6. Antibiyotiklerin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)



Şekil 4.7. Antibiyotiklerin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)



Şekil 4.8. Antibiyotiklerin MİK değerleri (µg/ml)

CLSI'nin *Brusella spp.* için belirlediği sınır değerlere göre suşların tümü DOX, SM, GM ve TMP/SMZ'e duyarlı olarak saptandı. CLSI'nın güç üreyen bakterilerden olan *haemophilus* türleri için belirlediği sınır değerler dikkate alındığında; suşların hepsi CIP, AM, XL'e karşı duyarlı, RIF'e karşı da 38 suş duyarlı, 11 suş orta duyarlı, bir suş dirençli olarak tespit edildi. *Brusella* suşlarının antibiyotik duyarlılık dağılımı tablo 4.3'de gösterilmiştir. Çalışmada duyarlılıkları değerlendirilen *B. melitensis* izolatlarının DOX, SM, RIF, CI, GM, TMP/SMZ, EM, AM, XL, TIG için MİK aralıkları, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Brusella suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	sayı	%	sayı	%	sayı	%
Doksisiklin	50	100	-	-	-	-
Streptomisin	50	100	-	-	-	-
Rifampisin	38	76	11	22	1	2
Siprofloksasin	50	100	-	-	-	-
Gentamisin	50	100	-	-	-	-
Trimetoprim-sulfametoksazole	50	100	-	-	-	-
Eritromisin	*		*		*	
Ampisilin	50	100	-	-	-	-
Amoksisilin-klavulonik asit	50	100	-	-	-	-
Tigesiklin	*		*		*	

* CLSI'da belirtilmemiş

Tablo 4.4. *Brusella melitensis* izolatlarına karşı antibiyotiklerin in vitro aktivitesi

Antibiyotik	Suş Sayısı	MİK Aralığı (ug/ml)	MİK ₅₀ (ug/ml)	MİK ₉₀ (ug/ml)
Doksisiklin	50	0,047-0,19	0,064	0,094
Streptomisin	50	0,25-0,5	0,25	0,38
Rifampisin	50	0,38-4	1	1,5
Siprofloksasin	50	0,094-0,19	0,125	0,19
Gentamisin	50	0,032-0,125	0,047	0,094
Trimetoprim-sulfametoksazole	50	0,008-0,38	0,023	0,064
Eritromisin	50	0,25-2	1,5	2
Ampisilin	50	0,064-0,5	0,125	0,38
Amoksisilin-klavulonik asit	50	0,032-0,094	0,064	0,094
Tigesiklin	50	0,019-0,125	0,094	0,125

Çalışmaya alınan tüm *B. melitensis* suşlarında MİK değerleri en düşük TMP/SMZ için, en yüksek RIF için saptanmıştır. MİK₅₀ ve MİK₉₀ sonuçlarına göre en aktif antibiyotiğin TMP/SMZ olduğu görülmüştür. Çalışmamızda EM, MİK değerlerinin RIF'den yüksek olduğu görülmektedir, EM DSÖ'nün bruselloz tedavisinde önerdiği tedavi seçenekleri arasında bulunmamaktadır. Çalışmamızda sadece araştırma amaçlı kullanılmıştır. AM ve XL'de EM gibi DSÖ'nün bruselloz tedavi rejiminde bulunmamakla birlikte çalışmamızda sadece araştırma amaçlı olarak kullanılmıştır. AM ve XL'in düşük MİK değerlerine sahip olduğu görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Bruselloz; özellikle Akdeniz ülkeleri olmak üzere dünya üzerinde yaygın dağılım gösteren; *Brusella* cinsindeki bakterilerle oluşan; değişik organ ve sistemleri etkileyen sistemik enfeksiyöz bir hastalıktır^{7,94}. Brusella, Ülkemizde ve hayvancılıkla uğraşan gelişmekte olan bazı ülkelerde sorun oluşturmaya halen devam etmektedir⁹⁸. Hastalık, hayvanlarda düşük ve üretim kaybına neden olurken, insanlarda daha çok işgücü kaybına neden olmaktadır. Bu durum ise ülke ekonomisinde büyük kayıplara yol açmaktadır⁹. Hayvanlardan insanlara bulaşarak edinilen bruselloz; tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup; olgu sayısının yılda 500.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Hastalığın yaygınlığı farklı bölgelerde nüfusun sosyal ve kültürel özelliklerine ve yerel brusella eradikasyon programlarının yoğunluğuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Birçok gelişmiş ülkede çeşitli eradikasyon programları ile prevelansı azalmakta ancak ülkemizde hala endemik bir hastalık olarak önemini korumaktadır^{3,4}.

Brusellozun düşük insidanslı olduğu ülkelerde, mesleksen risk nedeniyle hastalığın erkek cinsiyette daha yaygın olmasına karşın endemik olduğu ülkelerde cinsiyet farkı olmadığı bilinmektedir. Ülkemizden bildirilen vakalarda da cinsiyet açısından büyük farklar görülmemektedir. Ülkemizde hastalığın erkeklere oranla kadınlarda daha fazla görüldüğü çalışmalarda mevcuttur^{1,7,8}. Koşar ve arkadaşlarının çalışmalarında, kadınların sıklığı daha fazla bulunmuş ve bu durum kırsal kesimlerde hayvanlarla daha çok kadınların ilgilenmesine bağlanmıştır^{97,98}. Bizim çalışmamızda hastalıktan %66 oranla erkekler daha çok etkilenmiştir.

Hastalık tipik olarak genç ve orta yaşlı erişkinleri tutmaktadır, çocuk ve yaşlılarda insidansı daha düşüktür. Ülkemizde bruselloz tanısı alan olguların % 50-60'ının 20-50 yaş arasında olduğu görülmekteyken, çocuklar hastaların % 10-15'ini 65 yaş üzeri olgular ise % 10'nunu oluşturmaktadır. Özellikle ülkemiz gibi endemik ülkelerde bruselloz, üretken yaş grubunu etkileyerek önemli morbidite ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Gelişmiş ülkelerde bruselloz çocukluk çağında nadir görülen bir hastalık iken Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde her yaşta görülebilmektedir^{1,8}. Çalışmamız

da olguların yaş ortalaması 34, en fazla olgunun 48-58 ve 15-25 yaş aralığında olduğu bulunmuş olup literatürlerle uyumlu olduğu görülmüştür.

Brusella bakterisi tüm sistemleri tutabilmesi nedeniyle çok çeşitli klinik tablolarla ortaya çıkabilmektedir. Bu klinik tabloların çeşitliliği nedeni ile hastalar fizik tedavi, gastroenteroloji, beyin cerrahisi, ortopedi, gibi değişik polikliniklere başvurabilmektedirler. Ülkemizde endemik olarak görülen brusellozun, değişik klinik tablolarla ortaya çıkabilme özelliği tüm hekimlere hizmet içi eğitimler yoluyla hatırlatılmasını zorunlu kılmaktadır^{1,96}. Çalışmamızda da hastalar farklı polikliniklere başvurmuşlardır.

Brusellozun tanısı genellikle klinik belirti ve bulguların varlığında STA testinin 1/160 ve yukarı titrede pozitif olmasıyla konulmaktadır. Ancak bu hastalığın kesin tanısı etkenin kültürde üretilmesiyle konulmaktadır. Son yıllarda kullanıma giren ve gittikçe yaygınlaşan otomatize kan kültür sistemleri ile brusella bakterileri daha hızlı ve daha yüksek oranda üretilebilmektedir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda bruselloz olgularında kültür pozitifliği %12-70 oranlarında bildirilmiştir. Düşük oranların olduğu çalışmalar da her hastaya kan kültürü yapılmadığı ve önceden antibiyotik kullanımının bakterinin üretilme oranını azalttığı belirtilmiştir^{1,98-100}. Ülkemizde Gedikoğlu ve ark. BACTEC 9120 sistemiyle ilk dört gün içinde 30 *B.melitensis* türünün hepsini izole etmişlerdir¹⁰². Young ve ark. ile Bannatyne ve ark.’nın BACTEC 9240 sistemi ile yaptığı iki ayrı çalışmada üreyen isolatların sırasıyla %93 ve %100’ünün ilk beş gün içinde ürediği belirlenmiştir³. Çalışmamızda BACTEC 9240 cihazında kan kültürlerinin tümünde ilk altı gün içinde üreme saptandı. Bu oran ilk üç gün için % 87, ilk dört gün için % 95 ve beşinci günde ise % 98’dir.

Marianelli ve ark. İtalya’da yaklaşık bir yıllık süreçte bruselloz tanısı alan hastalardan izole ettikleri suşların fenotipik özelliklerinin incelenmesi ve geleneksel biyotiplendirme testleri ile tüm brusella suşlarının *B.melitensis biovar 3* olduğunu belirlemişlerdir¹⁰². Cekovska ve ark. Makedonya’da kan kültürlerinden izole ettikleri, otomatize sistemle de tanımlamasını yaptıkları çalışmalarında suşların tümünü *B. melitensis* olarak tanımlamışlardır¹⁰³. Al Dahouk ve ark. ise hastalığın ender olarak görüldüğü Almanya’da çeşitli klinik örneklerden elde edilen 31 brusella suşunun moleküler yöntemlerle 30’nun *B. melitensis* bir tanesinin *B. suis* olduğunu tespit etmişlerdir¹⁰⁵. Ülkemizde ise Bodur ve ark. yaptığı çalışmada, kan ve BOS

kültürlerinden izole ettikleri ve tür düzeyinde tanımlamasını yapıp biyotiplerini araştırdıkları 41 brusella suşunun tümünü *B. melitensis* (39'u biyotip 3, 2'si biyotip 1) olarak belirlemişlerdir¹⁰⁶. Kuloğlu ve ark. 1997-2002 yılları arasında Trakya bölgesinde kan kültürlerinden izole ettikleri 48 suşun 47'sini *B.melitensis*, birini *B.abortus* olarak tanımlamışlardır¹⁰⁶. Van ve çevresinde Bayram ve ark. 56 *Brusella* suşu üzerinde yaptıkları çalışmalarında suşların tümünü *B.melitensis* olarak belirlemişlerdir¹³. Yapılan çalışmalarda en sık saptanan *Brusella* türleri; *B.melitensis* ve *B.abortus* olup ülkemizde insan bruselozuna yol açan türün çoğunlukla *B.melitensis* olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda da izole edilen 50 brusella suşunun tümü *B.melitensis* olarak tanımlanmıştır.

Bruselloz mortalitesi düşük, ancak morbiditesi yüksek bir hastalıktır. Bakteri hücre içine yerleşim göstermesi nedeni ile tedavide kullanılacak ajanın makrofajların içine geçen ve lizozom içi pH'da aktif bir ajan olması gerekmektedir. Bu yüzden enfeksiyonun tedavisi uzun ve güçtür. DSÖ tedavi protokolleri ile hastalık yüksek oranda tedavi edilebilmektedir¹⁰⁷. Ancak gözlenen relapslar ve yan etkiler nedeni ile tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bruselloz tedavisinde yeni antibiyotik arayışları sürmektedir¹.

Brusella bakterileri için antibiyotik duyarlılık testleri henüz standardize değildir. Duyarlılık testlerinde MİK değerini belirleyen yöntemler önerilmektedir. Bu amaçla genellikle mikro dilusyon, agar dilusyon ve E-test yöntemleri kullanılabilir. E-Test yöntemi; diğer MİK belirleyen yöntemlerle karşılaştırıldığında oldukça pratik olmasına rağmen maliyeti son derece yüksektir¹⁰⁸. Çalışmamızda güvenilir, tekrarlanabilir, pratik bir mikro dilusyon yöntemi olan E-Test yöntemi kullanılmıştır

Baykam ve ark. Ankara'da kan kültürlerinden izole ettikleri 42 brusella suşu için DOX, RIF, CIP, TMP/SMZ ve seftriaksonun MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini E-test yöntemi ile belirlemişlerdir. DOX'i en düşük MİK₅₀ (0.032 mg/L) değerine sahip, antibakteriyel ajan olarak tespit etmişlerdir¹⁰⁹.

Turan ve ark. kan ve kemik iliği kültürlerinden izole ettikleri 82 *B. melitensis* suşu için TIG, DOX, CIP ve RIF in vitro aktivitesini E-Test ile belirlemişlerdir. DOX'i en düşük MİK₅₀ (0,016 ug/ml) ve MİK₉₀ (0,047 ug/ml) değerine sahip antibakteriyel ajan olarak bildirmişlerdir¹¹⁰.

Bayram ve ark. Van'da çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 56 bruceella suşunda DOX, RIF, SM, TIG ve TMP/SMZ antibiyotik duyarlılığını E-test ile belirlemişler. DOX en düşük MİK₅₀ (0.047 ug/ml) ve MİK₉₀ (0.064 ug/ml) değerine sahip antibakteriyel ajan olarak bildirmişlerdir¹³.

Çalışmamızda DOX için MİK aralığı 0,047-0,19 ug/ml, MİK₅₀ değeri 0,064 ug/ml, MİK₉₀ değeri ise 0,094 ug/ml olarak bulunmuştur.

Antibiyotiklerin oldukça çeşitlendiği günümüzde özellikle brucelloz da alternatiflerine göre daha yararlı olmaları, aminoglikozidlerin kullanımını zorunlu kılmıştır. Aminoglikozitler, tetrasiklinler ile kombine edilerek brucelloz tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Turkmani ve ark. 2006 yılında endemik bir bölge olan Doğu Akdeniz Bölgesinden (Yunanistan, Kıbrıs, Suriye) izole ettikleri 74 bruceella suşu ile yaptıkları antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda, SM için MİK aralığını 0,125-4 mg/L, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini ise 1 ve 2 mg/L, GM için ise MİK aralığını 0,032-1,5 mg/L MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ise 0,19 ve 2 mg/L olarak bulmuşlardır¹¹¹.

Maves ve ark. Peru'da kan kültüründen izole ettikleri 48 *B.melitensis* suşunun (2000-2001; 25 suş, 2005-2006, 23 suş) antibiyotik duyarlılığını E-test yöntemi ile belirledikleri çalışmalarında GM'in MİK aralığını 2000-2001 yılında 0,064-0,250 mg/L MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini ise 0,125 ve 0,25 mg/L; 2005-2006 yılında ise MİK aralığını 0,032-0,25 mg/L MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini ise 0,125 ve 0,226 mg/L olarak bulmuşlardır¹¹².

Ülkemizde Baysan ve ark. kan kültüründen izole ettikleri 77 *Brucella spp* suşun da çeşitli antibiyotiklerin duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında SM'in MİK aralığını 0,064-1,5 mg/L, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini 0,5 ve 1 mg/L olarak; GM'in MİK aralığını ise 0,064-0,75 mg/L, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini de 0,25 ve 0,5 mg/L olarak bildirmişlerdir¹¹³.

Aminoglikozitlerden SM ve GM'i kullandığımız çalışmamızda, SM için MİK aralığı; 0,25–0,5 µg/mL; GM için ise 0,032-0,125 µg/mL olarak bulunmuştur. Çalışmamızda SM'nin MİK₅₀ ve MİK₉₀ (0,25 µg/mL ve 0,38 µg/mL) değerleri GM'e (0,047 µg/mL ve 0,094 µg/mL) göre daha yüksek bulunmuştur.

Rifampisin, gebelerde ve çocuklarda kullanılabilmesi yanı sıra doksisisiklin ile kombine edilerek brucelloz tedavisinde yoğun olarak kullanılmaktadır¹¹⁴.

Lopez-Merino ve ark. Meksika’da klinik örnek ile hayvan ve süt ürünlerinden izole ettikleri 97 brucella suşunda çeşitli antibiotiklerin in vitro aktivitesini değerlendirmişler ve RIF’i MİK₉₀ 2.0 µg/mL değer ile daha az etkili antibiyotiklerden olduğunu belirlemişlerdir¹¹⁵.

Ülkemizde ise Şengöz ve ark. kan kültürlerinden izole edilen 43 brucella suşu için E-test ile MİK değerlerini araştırmışlardır. RIF için MİK aralığını 0,19-1,5 mg/L olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmalarında brucella suşlarından birini orta duyarlı olarak bulmuşlardır¹⁰⁸.

Alışkan ve ark. endemik bir bölgede kan ve kemik iliği örneklerinden izole ettikleri 65 *B. melitensis* suşunda RIF MİK aralığını 0,50-1,50 mg/L, MİK₉₀ değerini de 1.5 mg/L olarak tespit etmişler ve izolatlardan sekiz’inin RIF’e orta derecede duyarlı olduğunu bildirmişlerdir¹¹⁶.

Çalışmamızda RIF MİK aralığı 0,38-4 µg/mL, MİK₉₀ değeride 1,5 µg/mL olarak bulunmuştur. İzole ettiğimiz 50 *B. melitensis* suşunun 11’i RIF orta derecede duyarlı bir tanesi de dirençli olarak bulunmuştur. Çalışmamızda diğer antibiyotiklere göre RIF’in yüksek MİK değerlerinin olması, yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu bir bulgudur.

Ülkemiz gibi *Mycobacterium tuberculosis* için RIF direnç oranının yüksek sayılabileceği bir bölgede, aynı zamanda brucella suşları arasında RIF için duyarlılığın azalmış olması hatta dirençli suşların bulunması dikkat çekicidir. Toplum sağlığını etkileyen bu iki önemli hastalığın tedavisinde kullanılan RIF’e karşı oluşan direncin ileride ciddi problemler oluşturabileceği düşünülmektedir.

Florokinolonlar, oral biyoyararlanımlarının iyi olması, yüksek doku konsantrasyonlarına ulaşmaları, hücre içine penetrasyonları ve *Brucella* türlerine in vitro etkileri nedeniyle bruselloz tedavisinde kullanılan ajanlardır.

Marianelli ve ark. İtalya’da yaptıkları çalışmada CIP için MİK aralığını 0,094 - 0,5 ug/ml olarak belirlemişlerdir¹⁰².

Turkmani ve ark. izole ettikleri 74 brucella suşu ile yaptıkları çalışmada CIP için MİK aralığını 0,016-0,75 mg/L, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla; 0,19 ve 0,5 mg/L olarak belirlemişlerdir¹¹¹.

Kılıç ve ark. kan ve vücut sıvılarından izole ettikleri 60 *B. melitensis* suşunun, E-test yöntemi ile TIG, tetrasiklin ve üç kinolonun (siprofloksasin, levofloksasin,

moksifloksasin) in vitro duyarlılığını değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda MİK₉₀ değerlerine göre, CIP'i (0.094 ug/ml) en etkili antibakteriyel ajanlardan biri olarak tespit etmişlerdir¹¹⁷.

Çalışmamızda CIP MİK aralığı 0,094-0,19 ug/ml MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri de sırasıyla 0,125 ve 0,19 ug/ml olarak bulunmuştur.

Brusella türlerinin antibiyotik duyarlılık paterni ülkeden ülkeye hatta bölgeden bölgeye farklılık göstermektedir. Marianelli ve ark. brusellozun önemli bir sorun olduğu İtalya'da *Brucella spp.*'nin antimikrobiyal duyarlılıklarını E-test ile değerlendirmiş, TMP/SMZ için MİK aralığını 0,012-0,064 ug/ml olarak belirlemişlerdir¹⁰².

Turkmani ve ark. TMP-SMZ için MİK aralığını 0,032-1,5 mg/L, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla; 0,125 ve 0,75 mg/L olarak bulmuşlardır¹¹¹.

Ülkemizden Baykam ve ark yaptığı çalışmada TMP/SMZ MİK aralığı 0,047-3,0 mg/L, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri de sırasıyla 0,50 ve 1,5 mg/L olarak bulunmuştur¹⁰⁹. Bodur ve ark. yaptığı çalışmada ise MİK₉₀ değeri 0,38 mg/L olarak bulunmuştur.

Alişkan ve ark. yaptığı çalışmada TMP/SMZ için MİK aralığını 0,002-0,19 ug/ml, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini de sırasıyla 0,012 ve 0,023 ug/ml olarak bulmuşlardır. Test ettikleri antibiyotikler arasında TMP/SMZ *B.melitensis* suşlarına karşı en etkili antimikrobiyal ajan olarak belirlemişlerdir¹¹⁶.

Çalışmamız da TMP/SMZ MİK aralığı 0,008-0,38 ug/ml, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri de sırasıyla 0,023 ve 0,064 ug/ml olarak bulunmuştur. TMP/SMZ çalışmamızda ki en düşük MİK değerine sahip, en etkili antimikrobiyal ajan olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızın sonucu Alişkan ve ark. yaptıkları çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bu durum bölgemiz de TMP/SMZ karşı direnç probleminin olmadığını göstermektedir.

Tigesiklin, glisisiklin antibiyotik grubunun üyesidir, tetrasiklinlere benzer özellikler gösterirken bu grup antibiyotiklerden daha etkili olduğu gösterilmiştir. Tigesikline antimikrobiyal direnç gelişimi daha zordur. Gelecekte tigesiklinin bruselloz tedavisinde önem kazanacağı düşünülmektedir.

Altun ve ark. *Brucella* cinsi 96 izolata karşı TIG, TMP/SMZ, RIF, Tetrasiklin, SM ve CIP invitro aktivitesini E-Test ile belirlediği çalışmada en düşük MİK₅₀ (0,047 ug/ml) ve MİK₉₀ (0,094 ug/ml) değerlerini TIG'de belirlemişlerdir¹¹⁸.

Turan ve ark. 82 *B.melitensis* suşunun TIG, DOX, CIP, RIF duyarlılığını E-Test yöntemi ile incelemiştir. TIG MİK değerleri CIP ve RIF'nin MİK değerlerinden daha düşük ancak DOX'in MİK değerlerinden daha yüksek olduğunu bulmuştur. Çalışmada DOX en düşük MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerine sahiptir¹¹⁰.

Bizim çalışmamızda TIG; TMP/SMZ, GM ve DOX'den sonra en düşük MİK₅₀ (0,094 ug/ml) ve MİK₉₀ (0,125 ug/ml) değerine sahip antibiyotik olarak belirlendi (Tablo 4.4). TIG'nin bu çalışma da kullanılan diğer antibiyotiklere oranla in vitro etkinliği daha yüksek bulunmuştur. TIG, bruselloz tedavisinde ki yerini belirleyebilmek için intrasellüler etkinliğinin de değerlendirilebileceği in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir. E-Test yöntemi ile yapılmış bazı çalışmalar tablo 5.1'de özetlenmiştir.

Makrolidlerin brusella tedavisinde ki rolü tartışmalıdır. Çalışmamızda EM, MİK aralığı (0,25-2 ug/ml) olarak bulunmuştur (Tablo 4.4). Bu da aktivitesinin düşük olduğunu göstermektedir. İn vitro etkili olmalarına karşın XL, AM ve EM tedavide etkisizdirler. EM, AM ve XL çalışmamıza sadece araştırma amaçlı dahil edilmiştir. Bu ajanlar bruselloz tedavisinde in vivo olarak etkisiz bulunmuşlardır. Oysaki çalışmamız da AM ve XL için düşük MİK değerleri bulunmasına rağmen bu ajanlar tedavide etkisiz olarak gösterilmiştir.

Çalışmamızda MİK₅₀ (0,023 ug/ml) ve MİK₉₀ (0,064 ug/ml) değerlerine göre TMP/SMZ tedavide kullanılabilecek en etkili antibiyotiktir. DOX, GM, TIG'de çalışmamızda düşük MİK değerlerine sahip tedavide etkili antibiyotikler arasında yer almaktadır.

Tablo 5.1. E-Test yöntemi ile yapılmış bazı çalışmalar

Çalışma	Yıl	Yer	Yöntem	Suş Sayısı	Direnç
Bayram ve ark.	2008-2009	Van	E-Test	56	Direnç yok
Baykam ve ark.	2000-2003	Ankara	E-Test	42	1 suş TMP/SMZ'e orta hassas 4 suş RIF'e orta hassas
Turan ve ark.	2003-2005	Adana Ankara Konya	E-Test	82	19 suş RIF orta hassas
Altun ve ark.	1991-2006	Ankara	E-Test	96	3 suş TMP/SMZ, tetrasiklin ve SM dirençli
Eşel ve ark.	2001-2002	Kayseri	Agar dilisyon E-Test	74	14 suş RIF'e orta hassas
Şengöz ve ark.	2003-2005	İstanbul	E-Test	43	1suş RIF'e orta hassas
Alışkan ve ark.	2003-2004	Adana	E-Test	65	8 suş RIF'e orta hassas
Köse ve ark.	2002	İzmir	E-Test	11	1 suş TMP/SMZ'e orta hassas
Ryan ve ark.	2000-2006	Peru	E-Test	48	1suş RIF orta hassas 1 suş SXT orta hassas
Turkmani ve ark.	1999-2005	Girit Kıbrıs Suriye	E-Test	74	2 suş RIF'e orta hassas 8 suş TMP/SMZ orta hassas

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

21. yüzyılda Türkiye için bruselloz hala sosyal ve ekonomik gelişimi etkileyen önemli bir sağlık problemidir. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 adet *Brusella spp* suşunun tiplendirilmesinin yapılıp ve bu suşların DOX, SM, RIF, CIP, TIG, GM, TMP/SMZ, EM, AM ve XL'e karşı antibiyotik duyarlılığının E-Test yöntemi ile değerlendirilmesinin amaçlandığı bu çalışma sonucunda:

- 1- Elde ettiğimiz veriler brusella tanısı alan hastaların tedavisinde kullanılacak uygun antibiyotik seçiminde yol gösterici olacaktır. Sadece serolojik olarak hastalığın tanısının konulması yanında hızlı izole edilen ve tiplendirilen brusella türlerinin antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi brusellozlu hastaya tedavide atılacak en önemli adımdır. Rutin de antimikrobiyal duyarlılık testi yapılması önerilmese de; tedavi başarısızlığı, relaps ve re-enfeksiyon durumlarında yapılacak antimikrobiyal duyarlılık testleri tedavi yaklaşımının belirlenmesinde yol gösterici olacaktır. Bu şekilde hastaların iyileşme süreleri kısılacak, etkin olmayan antibiyotiklerin kullanılması engellenip ekonomik açıdan da fayda sağlanacaktır.
- 2- Gereksiz antibiyotik kullanımının ve tedavideki maliyet artışının önlenmesinin yanı sıra direnç faktörü de dikkate alınarak kültür ve antibiyogram sonuçlarına göre tedavinin düzenlenmesinin daha uygun olacağını düşünmekteyiz.
- 3- Endemik bölgelerin tespit edilerek hayvan brusellozunun önlenmesi ve hasta uyumunun daha iyi olduğu kısa süreli tedavi seçeneklerinin kullanıma girmesi bruselloz mücadelesinde büyük önem taşımaktadır.
- 4- Ülkemizde yaygın görülen bir hastalık olan brusellozun değişik klinik tablolarla ortaya çıkabildiği, modern tanı yöntemleri ve modern antibiyoterapi çağında bile tanı ve sağaltımında zorluklar yaşanabildiği unutulmamalıdır. Tüm hekimlerce iyi tanınan bir hastalık olması için gerekli eğitim programlarının düzenlenmesi; bruselloz tanı ve sağaltımı için standart protokollerin hazırlanması ve uygulanması böylelikle hastalığın erken tanı ve sağaltımının yapılarak

komplasyonlara bağlı morbidite, iř gücü kaybı ve mortalitenin önlenmesi sağlanmalıdır.

- 5- Kırsal bölgelerde ve hayvancılıkla uğraşan kişilerde daha fazla görülmesi nedeni ile bu gibi bölgelerde yaşayanlar bruselloz hakkında bilgilendirilmelidir. Bu da bruselloz prevelansını önemli ölçüde azaltacaktır. Bu amaçla Sağlık Bakanlığı,  niversiteler, Tarım ve köy işleri bakanlığı işbirliği içinde olmalıdır.
- 6- Bruselloz ile ilgili olarak yapılan bu çalışma belirli bir bölgeyi kapsamakla beraber ülke verilerine katkıda bulunabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- 1- **Yüce A, Çavuş Alp S.** Türkiye’de Bruselloz: Genel Bakış. *Klimik Dergisi*, **2006**; 3:87-97.
- 2- **Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV.** The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, **2006**; 6: 91–9
- 3- **Dizer U, Beker CM, Çiçek H, Güner ÖR, Zeren İ, Pahsa A.** Bruselloz Tanı Yöntemlerinin Etkinliğinin Araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2005**; 31 (2) 87-93,
- 4- **Young EJ.** *Brucella* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*.5 th edition. Philadelphia: Churchill – Livingstone; **2000**; 2386-93.
- 5- **Kaya S.** Bruselloz ve tedavi sorunu. *İnfeksiyon dergisi (Turkish journal of infection)*.**2006**; 20(3): 227-230.
- 6- **Slack MPE.** Gram negative coccobacilli. In: Armstrong D, Cohen J, eds. *Infectious Disease*. London: Harcourt Publishers, **1999**; 8.20.1-8.20.18.
- 7- **Uluğ M, Uluğ Can N.** Brusellozlu 78 Olgunun Değerlendirilmesi. *Klimik Derg.* **2010**; 23(3): 89-94.
- 8- **Gürsoy B, Tekin-Koruk S, Sırmatel F, Karaağac L.** Bruselloz: 140 olgunun değerlendirilmesi. *Klimik Derg.* **2008**; 21(3): 101-4.
- 9- **Bakıcı MZ, Kıvanç Ö, Işık M.** Bölgemizden izole edilen *Brucella* cinsi bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *C.Ü Tıp fakültesi derg.* **2001**; 23(3): 131-134.
- 10- **Parlak M.** Bölgemizde İzole Edilen *Brucella* suşlarının konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi. Uzmanlık tezi. **2011**.
- 11- World Health Organization: Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. Sixth report, Technical Report Series 740, WHO, Geneva, **1986**.
- 12- **Pappas G, Solera J, Akritidis N and Tsianos E.** New approaches to the antibiotic treatment of brucellosis, *Int J Antimicrob Agents*. **2005**; 26(2): 101-105.
- 13- **Bayram Y, Korkoca H, Aypak C, Parlak M, Cıkman A, Kılıç S, Berktaş M.** Antimicrobial susceptibilities of *Brucella* isolates from various clinical specimens. *Int. J. Med. Sci.* **2011**; 8(3): 198-202.
- 14- **Doğanay M, Meşe AE.** Bruselloz. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **2008**;897-908.
- 15- **Doğanay M, Aygen B.** Human brucellosis: an overview. *Int J Infect Dis*. **2003**;7:173-182
- 16- **Yılmaz M.** Bruselloz. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Türkiyede sık karşılaşılan hastalıklar I Sempozyum Dizisi. **2007**; 55: 215-226.
- 17- **Bodur H, Erbay A, Akinci E, Colpan A, Cevik MA, Balaban N.** Neurobrucellosis in an endemic area of brucellosis. *Scand J Infect Dis*. **2003**;35: 94-7

- 18- **Young EJ.** Brucella species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Elsevier Principles and practice of infections Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, **2005**:2669-2674.
- 19- **Lindquist D, Chu CM, Probert SW.** Franciella ve Brucella. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC, Ed: *Manuel of Clinical Microbiology* 9th Ed. Washington DC, **2009**; 824-834.
- 20- **Altay G.** Kültür pozitif 70 bruselloz hastasının klinik ve laboratuvar verilerinin değerlendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının E-Test yöntemi ile incelenmesi. Uzmanlık tezi. **2008**
- 21- **Garrity GM, Holt JG.** Taxonomic outline of the Archaea and Bacteria, p. 155-166. In D. R. Boone and R.C. Castenholz (ed), *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*, 2nd ed. vol. 1 *Springer-Verlag*. **2001**; New York, N. Y.
- 22- **Erdenliş S.** Türkiye'de brucella kökenleri. *XI. Türk klinik mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları kongresi*. **2003**; 214-216.
- 23- **Aras Z, Ateş M, Uçan US.** Brucella suşlarının identifikasyonu ve biyotiplendirilmesi. *Vet. Bil. Derg*, **2009**; 25, 1-2;51-59
- 24- **Cengiz AT, Dolapçı Gİ.** Brucella'ların özellikleri ve brusellozda tanı yöntemleri. *Ankara üniversitesi tıp fakültesi mecmuası*, **1997**; 50,1, 41-46.
- 25- **Wilfert CM.** Brucella In: Zinsser Microbiology edited by: Joklik WK. 20th addition Appleton and Lange Connecticut, **1992**; 609-14
- 26- **Gürler N.** Brusellozda bakteriyolojik tanı yöntemleri. *Klinik Derg*, **1990**; 3(1): 21-2.
- 27- **DelVecchio VG, Kapatral V, Redkar RJ, Patra G, Mujer C, Los T, Ivanova N, Anderson A, Bhattacharyya A, Lykidis A, Reznik G, Jablonski L, Larsen N, DSouza M, Bernal A, Mazur M, Goltsman E, Selkov E, Elzer PH, Hagius S, O Callaghan D, Letesson J, Haselkom R, Kyrpides N, Overbeek R.** The genome sequence of the facultative intracellular pathogen brucella melitensis. *Proc. Nad. Acad. Sci. USA* **2002**; 99:443-448
- 28- European Commission. Health&Consumer Protection Directorate-General. Brucellosis in sheep and goats (*Brucella melitensis*). Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. SANCO.C.2/AH/R23/**2001**
- 29- **Türkçapar N, Kurt H.** Bruselloz. Uzun Ö, Ünal S (eds). Güncel bilgiler ışığında enfeksiyon hastalıkları. **2002**; cilt:2 Ankara bilimsel tıp yayınevi, 1015-24
- 30- **Baysal B: Brucella.** Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ustaçelebi Ş, (Editör), **1999**; 571–577, Güneş Kitabevi, Ankara.
- 31- **Serttaş B.** Isparta ili ve ilçelerinde çiğ sütlerde Brucella abortusa karşı oluşturulan antikorların Elisa ve ring testi ile araştırılması. Yüksek Lisans tezi. **2006**
- 32- **Akan E.** Tıbbi Mikrobiyoloji. Oba Kitabevi, Konya, **1986**:173–18.
- 33- **Erdenliş S, Şen A.** Koyun atıklarından izole edilen Brucella cinsi mikroorganizmaların izolasyonu ve biyotiplendirilmesi. *Pendik Vet. Mikrobiol Derg*, **2000**; 31 (2): 31-42.
- 34- **Özsan K.** Brusellozun tarihçe ve etiyojisi. 24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kayseri, **1990**; 26–28 Haziran.

- 35- **İzgür M.** Hayvancılık ve Brucellosis. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bruselloz Sempozyum, **2000**; 68-78.
- 36- **Arda M, Minbay A, Aydın N, Leloğlu N, Akay Ö:** Özel Mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Yayınlar. **1992**; 741:197–223 Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum.
- 37- **Holt, JG, Krieg NR, Sneath HA, Staley J, Williams ST.** Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. **1994**; Williams&Wilkins, Baltimore, Maryland (9 nd ed.) p 71-174.
- 38- **Moyer NP, Holcomp LA, Hausler WJ.** Brucella In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HG, Shadomy HJ (eds) *Manuel of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology.* **1991**; Washington DC: ASM pres, 457-62.
- 39- **Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Leloğlu N, Kahraman M, Ilgaz A, Diker D.** Özel Mikrobiyoloji.**1997**; Medisan yayınevi. Ankara
- 40- **Garrido-Abellan, F, Duran-Ferrer M, MacMillan A, Minas A, Nicoletti P, Vecchi G.** Brucellosis in sheep and goats. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. **2001**; European Commission.
- 41- Zoonotik Hastalıklar Hizmetiçi Eğitim Modülü. ISBN: 978-975-590-328-6. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 799. **2011**.
- 42- **Elaldı N.** Sorunlu Enfeksiyonlar. Tanı ve Tedavide Yeni Yaklaşımlar. Brusella. 3. Türkiye EKMUD Kongresi, **2010**; 145-150.
- 43- **Badur S.** Brusellozda serolojik tanı ve seroepidemioloji. *Klimik Derg*, **1990**; 3:17-20.
- 44- **Kaya S.** 44 Bruselloz Olgusunun Değerlendirilmesi. *Klimik Derg*, **2007**; 20(1): 17-19.
- 45- **Mikolich DJ, Boyce JM.** Brucellosis spp: In: Principles and practice of infectious Diseases, **1990**; pp:1735 – 41.
- 46- **Memish Z.** Brucellosis control in Saudi Arabia: prospects and challenges. *J Chemoter*, **2001**;13:11-7.
- 47- **Celi J.** Surviving inside a macrophage: The many ways of Brucella. *Resarch in Microbiology*, **2006**;157:93-8.
- 48- **Gorvel JP, Moreno E.** Brucella intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet Microbial*, **2002**; 90:281-97.
- 49- **Boschiroli ML, Ouahrani-Bettache S, Foulongne V, Michaux-Charachon S, Allardet-Servent A, et al.** Type IV secretion and Brucella virulence. *Vet Microbial*, **2002**; 90:341-8.
- 50- **Durmus A, Karahocagil MK, Akdeniz H, Karsen H, Baran A, Evirgen Ö.** hematological complications in 787 cases of acute Brucellosis in Eastern Turkey. *Turk Med Sci*, **2008**; 38: 421-4.
- 51- **Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL.** Human brucellosis Review. *The Lanset Infectious Diseases*, **2007**; 7:775-86.
- 52- **Celi J.** Surviving inside a macrophage: The many ways of Brucella. *Resarch in Microbiology*, **2006**; 157:93-8.
- 53- **Yingst S, Hoover DL.** T cell immunity to Brucellosis. *Critical Reviews in Microbiology*, **2003**; 29:313-31.

- 54- **Chugh TD, Nusrat H, Mustafa AS.** A study of secreted cytokine profile in human brucellosis. 11 th ECCMID1-4 April congres book, İstanbul, Turkey. **2001**;601
- 55- **Solera J, Martinez AE, Espinosa A.** Recognition and optimum treatment of Brusellozis. *Drugs*. **1997**; 53:245-56.
- 56- **Ariza J, Corredoira J, Pallares R, Viladrich PF, Rufi G, Pujol M, Gudiol F.** Characteristics of and risk factors for replase of brucellosis in humans. *Clin Infect Dis*, **1995**; 20:1241-9.
- 57- **Eduwardo G, Carlos C: Brucella.** In: **Sherwood L, Gorbach MD, John G. Barlett MD, Neil R. Blackow MD.** Infectious Diseases second Edition Philephia: Wb Saunders Company, **1998**:1837-1845.
- 58- **Dilmener M.** Brusellozun klinik prezentasyonları. *Klinik Derg*, **1990**; 3(1):23-25.
- 59- **Çokça F.** Bruselloz: Tanı ve tedavi güçlüğü yaşanan olgulara yaklaşım. **2006**; EKMUD Bilimsel Platformu.
- 60- **Geyik MF, Gür A, Nas K, Çevik R, Saraç J, Dikici B, et al.** Musculoskeletal in brucellosis in different age groups: a study of 195 cases. *Swiss med WKLY* **2002**; 132: 98-104.
- 61- **Şenol Ş, Yamazhan T, Gökengin D.** Akut prostatit ile seyreden seronegatif bir bruselloz olgusu. *Klinik Derg* **2004**; 17(3): 209-10.
- 62- **Aygen B, Sümerkan B, Doğanay M, Sehmen E.** Prostatitis and hepatitis due to *Brucella melitensis*: a case report. *J Infect* **1998**; 36(1): 111-2.
- 63- **Ariza J, Pigrau C, Canas C, Marron A, Martinez F, Almirante B, et al.** Current understanding and management of chronic hepatosplenic suppurative brucellosis CID. **2001**; 32:2024-33
- 64- **Namiduru M, Karaoğlu I, Yılmaz M.** Guillain-Barre syndrome associated with acut neurobrucellosis. *Int J Clin Pract* **2003**; 57: 919-20.
- 65- **Sırmatel F, Akarsu E.** Olgu raporu: Subakut tiroiditle seyreden bir brusellozis olgusu. *Mikrobiyol Bült* **2004**; 38: 149-53.
- 66- **Alkan BM, Çalap B.** Brusella’da kas iskelet sistemi bulguları. *Fiziksel Tıp* **2004**; 7(2): 99-104.
- 67- **Bayram A, Uğurlu H, Erdoğan H.** Brusellaya bağlı servikal spondilodiskitis. *Genel Tıp Derg* **1998**; (2): 81-3.
- 68- **Gonzalez-Gay MA, Garcia-Porrúa C, Ibanez D, Garcia-Pais MJ.** Osteoarticular Complications of Brucellosis in an Atlantic Area of Spain. *The Journal of Rheumatology* **1999**; 26:1 :141-144.
- 69- **Taşova Y, Saltoğlu N, Şahin G, Aksu H.S.Z.** Brucellosis in Turkey. *Clinical Rheumatology* **1999**; 18: 214-219.
- 70- **Sarı İ.** Hematolojide sık görülmeyen infeksiyonlar: Bruselloz. 35. Ulusal Hematoloji Kongresi. **2009**; 115-118.
- 71- **Fındık D.** Bruselloz tanısında sorunlar. XII. Türk klinik mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıkları kongresi. **2005**; 102-105

- 72- **Gotuzzo E, Celillo C:** *Brucella*. Infectious diseases. Eds: Gorbach S.L, Bartlett J.G, Blacklow N.R. **1992**; 1513–1518, Harcourt Brace Jovanovich Inc. Philadelphia.
- 73- **Akhan SA, Akova M:** Bruselloz. Temel İç Hastalıkları, 1. Baskı. İliçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalin S, Süleymanlar G. (Editörler), **1996**; 2240–2244, Güneş Kitapevi, Ankara.
- 74- **Alptekin N, Bilgic A.** Brucellosis *T.Klinikleri*. PM&R **2003**; 3-97-106.
- 75- **Aktaş O.** Brusellozda mikrobiyolojik tanı. *Ankem Derg* 17(no:3) **2003**; 336-339
- 76- **Dahouk SA, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D.** Laboratory-based diagnosis of Brucellosis-A review of the literature. Part I:Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. *Clin Lab* **2003**; 49: 487-505.
- 77- **Mantur BG, Mangalgi SS.** Evaluation of conventional Castaneda and lysis centrifugation blood culture techniques for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* **2004**; 42: 4327-8.
- 78- **Ayashioğlu E, Kılıç D, Kaygusuz S, Küçük S, Ceken S, Erol O, Alpay Y.** The detection of *Brucella* spp by BACTEC 9050 blood culture system. *Mikrobiyol Bul* **2004**; 38: 415-9.
- 79- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valle Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.
- 80- **Dahouk SA, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H.** The detection of *Brucella* spp. using PZR-ELISA and Real-Time PZR assays. *Clin Lab* **2004**; 50: 387-94.
- 81- **Bricken BJ.** Diagnostic strategies used for the identification of *Brucella*. *Vet Microbiol* **2002**; 90: 433-4.
- 82- **Zerva L, Bourantans K, Mitka S, Kansousdou A, Legakis N.** Serum is the preferred clinical specimen for diagnosis of human brucellosis by PZR. *J Clin Microbiol* **2001**; 39: 1661-4.
- 83- **Nimri LF.** Diagnosis of recent and relapsed cases of human brucellosis by PZR assay. *BMC Infect Dis* **2003**; 3: 5.
- 84- **Redkar R, Rose S, Bricker B, Del Vecchio V.** Real-time detection of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *Molecular Cellular Probes* **2001**; 15: 43-52.
- 85- Gram negative facultatively anaerobic bacilli and coccobacilli. in: Bailey and scott's Diagnostic Microbiology Edited by: Baron EJ, Tenenbaum FC, Tenenbaum FC. 8th **2008**; 408-30.
- 86- **Aliskan H.** at all The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis **2008**; 42(1): 185-95.
- 87- **Bilgehan H.** Bruselloz Tanısında Aglutinasyon. Klinik Mikrobiyolojik tanı. İzmir: Barış Yayınları **2002**; 223 ; 8.
- 88- **Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassen LA, Osabo AO.** Comparison of the *Brucella* standard agglutination test with the ELISA IgG and IgM in patients with *Brucella* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2002**; 44: 129-32
- 89- **Casao MA, Navarro E, Solera J.** Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis. *J Infect* **2004**; 49: 102-8.

- 90- **Ayaz C.** Brusellozun Türkiye'deki durumu. *XII. Türk klinik mikrobiyoloji ve enfeksiyon hasatalıkları kongresi.* **2005**;100-101
- 91- **Ural O.** Bruselloz: Özel vakalarda tedavi sorunları. *XII. Türk klinik mikrobiyoloji ve enfeksiyon hasatalıkları kongresi.* **2005**; 106-108.
- 92- **Korkmaz S, Candan F, Kılıçlı FM, Bakıcı MZ.** Brusellozlu Olgularda Tanısal Yaklaşım: Olgu Sunumu. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* **2005**; 27 (2): 83 – 87.
- 93- **Sayılır K, Kutlu SS, Baykam N, Eren Ş, Çelikbaş Kocagül A, Dokuzoğuz B.** Abortusla sonuçlanan iki insan Bruselloz olgusu. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* **2003**; 17 (3): 345-348
- 94- **Bal A, Gurcay E, Unlusoy D, Cınar C, Cakıcı A.** Brusellozda kas iskelet sistemi komplikasyonları. *Trakya Üniv Tıp Fak Derg.* **2008**; 25(1): 20-5.
- 95- **Özkurt Z, Kaya A, Taşyaran M.A, Yılmaz Ş.** Bruselloz tasında standart tüp aglutinasyon testi, kan kemik iliği türlerinin tanı değerlerinin karşılaştırılması. *İnfek Derg ;* **2000** (4):463-468.
- 96- **Yüce A, Çavuş Alp S, Yapar N, Çakır N.** Bruselloz: 55 Olgunun değerlendirilmesi. *Klinik Dergisi*; **2006**; 19: 13-17.
- 97- **Koşar A, Aygündüz M, Yaylı G.** İkiyüzseksen bruselloz olgusunda farklı iki tedavinin karşılaştırılması. *İnfeks Derg,* **2001**; 15(4): 433-7
- 98- **Dokuzoğuz B, Ergönül Ö, Baykam N, et al.** Characteristics of *B. melitensis* versus *B. abortus* bacteraemias. *J Infect,* **2005**; 50: 41-5
- 99- **Aygen B, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O, Kayabaşı Ü.** Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: a retrospective evaluation of 480 patients. *Med Mal Infect,* **2002**; 32(9): 485-493.
- 100- **Akçakuş M, Esel D, Çetin N, Paç-Kısaarslan A, Kurtoğlu S.** *Brucella melitensis* in blood cultures of two newborns due to Exchange transfusion. *Turk J Pediatr* **2005**; 47: 272-4.
- 101- **Gedikoğlu S, Helvacı S, Özakin C, Gökırmak F, Kılıçturgay K.** Detection of *Brucella melitensis* by BACTEC NR 730 and BACTEC 9120 systems. *Euro J Epidemiol* **1996**; 12: 649-50.
- 102- **Marianelli C, Graziani C, Santangelo C, Xibilia MT, Imbriani A, Amato R, Neri D, Cuccia M, Rinnone S, Di Marco V and Ciuchini F.** Molecular epidemiological and antibiotic susceptibility characterization of *Brucella* isolates from humans in Sicily, Italy, *J Clin Microbiol*; **2007**; 45(9): 2923-2928.
- 103- **Cekovska Z, Petrovska M, Jankoska G, Panovski N and Kaftandzieva A.** Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of brucella blood culture isolates, Prilozhi Jul; **2010**; 31(1): 117-132,
- 104- **Al Dahouk S, Nockler K, Hensel A, Tomaso H, Scholz HC, Hagen RM and Neubauer H.** Human brucellosis in a nonendemic country: a report from Germany, 2002 and 2003, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; **2005**; 24(7): 450-456.
- 105- **Bodur H, Balaban N, Aksaray S, Yetener V, Akinci E, Colpan A and Erbay A.** Biotypes and antimicrobial susceptibilities of *Brucella* isolates, *Scand J Infect Dis.* **2003**; 35(5): 337-338.

- 106- Kuloğlu F, Erdenliş S, Akata F, Tansel O, Gurcan S and Tuğrul HM. Species and biovar distribution of *Brucella* isolates in Trakya University Hospital between 1997-2002, *Mikrobiyol Bul*; **2004**; 38(3): 187-191.
- 107- Zer Y, Namıduru M, Çam R. Kan kültüründen izole edilen *Brucella melitensis* suşlarına Tigesiklinin in-vitro etkinliğı. *ANKEM Derg*, **2007**;21(1):42-45.
- 108- Şengöz G, Yaşar K.K, Kutlu Batı S, Durdu Bilgin Y, Özdemir R, Nazlıcan Ö. KısaBildiri: *Brucella* Suşlarının Streptomisin, Rifampisin, Siprofloksasin ve Tetrasiklin için E-Test duyarlılık sonuçları. *Mikrobiol Bül*, **2006**; 40: 265-268.
- 109- Baykam N, Esener H, Ergönül Ö, Eren Ş, Çelikbaş K.A, Dokuzoğuz B. In vitro antimicrobial susceptibility of *Brucella* species. *International Journal of Antimicrobial Agents* 23: **2004**; 405–407.
- 110- Turan H, Arslan H, Uncu H, Azap Ö, Şerefhanoglu K. Tigesiklinin *Brucella* suşlarına in-vitro etkinliğinin Doksisiklin, Siprofloksasin ve Rifampisinin etkinliğı ile karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* **2007**; 21 (3): 147-151.
- 111- Turkmani A, Ioannidis A, Christidou A, Psaroulaki A, Loukaidis F, Tselentis Y. In vitro susceptibilities of *Brucella melitensis* isolates to eleven antibiotics. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **2006**, 5:24.
- 112- Maves C.R, Castillo R, Guillen A, Espinosa B, Meza R, Espinosa N, Nunez G, Sanchez L, Chacaltana J, Cepeda D, Gonzalez S, Halla R.E. Antimicrobial Susceptibility of *Brucella melitensis* Isolates in Peru. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2011**; 1279-1281.
- 113- Özhak-Baysan B, Ongut G, Ogunc D, Gunseren F, Sepin-Ozen N, Ozturk F, Aktepe OC and Gultekin M. Evaluation of in vitro activities of tigecycline and various antibiotics against *Brucella* spp, *Pol J Microbiol*, **2010**; 59(1): 55-60.
- 114- Anđ O ve Yumuk Z. Bruselloz. Cev: Madkour's Brucellosis. Ed: M.M.Madkour, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, **2008**.
- 115- Lopez-Merino A, Contreras-Rodriguez A, Migranas-Ortiz R, Orrantia- Gradin R, Hernandez-Oliva GM, Gutierrez-Rubio AT and Cardenosa O. Susceptibility of Mexican brucella isolates to moxifloxacin, ciprofloxacin and other antimicrobials used in the treatment of human brucellosis, *Scand J Infect Dis*, **2004**; 36(9): 636-638.
- 116- Aliskan H, Turunc T, Demiroğlu YZ, Colakoğlu S and Arslan H. Investigation of in vitro antibiotic susceptibility of *Brucella melitensis*, *Mikrobiyol Bul*, **2008**; 42(1): 125-129.
- 117- Kılıc S, Dizbay M and Cabadak H. In vitro activity of tigecycline, tetracycline and fluoroquinolones against *Brucella melitensis*. *Chemotherapy*; **2008**; 20(1): 33-37.
- 118- Altun B, Haşcelik G, Gür D. In Vitro Activity of Tigecycline Against *Brucella* spp. *Trakya Univ Tıp Fak Derg*, **2009**;26(3):261-263.

ÖZGEÇMİŞ

Adana’da 1983 yılında doğdu. İlköğrenimini Atatürk İlköğretim okulunda, ortaöğrenimini Özel Gönen Okullarında, Lise öğrenimini Seyhan Rotary Anadolu Lisesinde tamamladı. 2002 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat fakültesi Biyoloji bölümüne başladı ve 2006-2007 öğrenim yılında bu bölümden mezun oldu. 2007 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. Yüksek lisans öğrenimini 2009 yılında tamamlayıp aynı bölümünde doktora öğrenimine başladı.