

**BRUSELLOZ ÖN TANILI HASTALARIN
SERUMLARINDA BRUCELLA ANTİKORLARININ
BELİRLENMESİ AMACIYLA KULLANILAN
ÇEŞİTLİ SEROLOJİK YÖNTEMLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Esra GÜLTEKİN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK

Yüksek Lisans Tezi-2012

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BRUSELLOZ ÖN TANILI HASTALARIN
SERUMLARINDA BRUCELLA ANTİKORLARININ
BELİRLENMESİ AMACIYLA KULLANILAN ÇEŞİTLİ
SEROLOJİK YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Esra GÜLTEKİN

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK**

**ERZURUM
2012**

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

**BRUSELLOZ ÖN TANILI HASTALARIN SERUMLARINDA
BRUCELLA ANTİKORLARININ BELİRLENMESİ AMACIYLA
KULLANILAN ÇEŞİTLİ SEROLOJİK YÖNTEMLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Esra GÜLTEKİN

Tez Savunma Tarihi	: 10.08.2012
Tez Danışmanı	: Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK
Jüri üyesi	: Prof. Dr. A. Esin AKTAŞ
Jüri üyesi	: Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK
Jüri üyesi	: Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ
Jüri üyesi	: Doç. Dr. Hakan USLU

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.


Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2012

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Sınıflandırma.....	3
2.3. Etkenin Genel Özellikleri.....	4
2.3.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri.....	4
2.3.2. Kültür Özellikleri.....	4
2.3.3. Biyokimyasal Özellikleri.....	5
2.3.4. Antijenik Yapı.....	6
2.3.5. Genetik Özellikleri.....	8
2.3.6. Dirençlilik.....	8
2.4. Epidemiyoloji.....	9
2.5. Bulaş.....	11
2.6. Patogenez.....	12
2.7. Klinik.....	15
2.7.1. Akut Bruselloz.....	15
2.7.2. Subakut Bruselloz.....	16
2.7.3. Kronik Bruselloz.....	16
2.7.4. Asemptomatik-Subklinik Bruselloz.....	17
2.7.5. Relaps-Reinfeksiyon.....	17
2.7.6. Fokal Bruselloz.....	18
2.8. Komplikasyonlar.....	18
2.9. Tanı.....	19
2.9.1. Direkt Etiyolojik Tanı Yöntemleri.....	20
2.9.1.1.Kültür Yöntemleri ile Etkenin İzolasyonu.....	20
2.9.1.2. Moleküler Yöntemler.....	22
2.9.2. İndirekt Tanı Yöntemleri.....	23

2.9.2.1. Standart Tüp Aglütinasyon Testi.....	23
2.9.2.2. 2-Mercapto Ethanol ve Rivanol’lu Aglütinasyon Deneyleri.....	25
2.9.2.3. Coombs Testi.....	25
2.9.2.4. Hızlı Aglütinasyon Testleri.....	26
2.9.2.5. ELISA.....	27
2.9.2.6. Kompleman Birleşme Testi.....	29
2.9.2.7. Brucella Capt Testi.....	29
2.9.2.8. Dipstick Test.....	30
2.9.2.9. Floresan Polarizasyon Deneyi.....	30
2.9.2.10. Deri Testleri.....	30
2.10. İdentifikasyon.....	31
2.10.1. H ₂ S Üretimi.....	32
2.10.2. Boyalarla Birlikte Üreme (Boya İnhibisyon Deneyi)	32
2.10.3. Üreaz Deneyi.....	33
2.10.4. Monospesifik Antiserumlarla Aglütinasyon.....	33
2.11. Tedavi.....	33
2.12. Korunma ve Kontrol.....	35
3. MATERYAL VE METOT.....	36
3.1. Rose Bengal Testi (RBT)	36
3.2. Standart Tüp Aglütinasyon Testi (STA).....	37
3.3. Coombs Testi (CT).....	38
3.4. ELISA.....	39
3.5. İstatistiksel Analizler.....	40
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR.....	53
EKLER.....	65
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	65
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	66
EK-3. HASTA BİLGİ FORMU.....	67

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu tezin belirlenip hazırlanmasında ve her aşamasında bana bilgileriyle, anlayışıyla büyük destek olan değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. M.Hamidullah Uyanık'a, bu süreçteki destek ve hoşgörülerinden ötürü Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ahmet Ayyıldız'a ve hocalarım Prof. Dr. Selahattin Çelebi, Prof. Dr. Osman Aktaş, Prof. Dr. Halil Yazgı, Prof. Dr. A. Esin Aktaş, Prof. Dr. Ülkü Altıparlak, Doç. Dr. Ahmet Özbek, Doç. Dr. Hakan Uslu'ya teşekkür ederim.

Çalışmamdaki desteklerinden dolayı Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet PARLAK'a, büyük emek ve katkıları olan Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Ayşe Albayrak'a ve araştırma görevlisi Dr. Osman Aksoy'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmam esnasında yardımını esirgemeyen Uz. Dr. Resul Balkan'a, ve son olarak da tez süreci sırasındaki desteklerinden ötürü aileme

TEŞEKKÜR EDERİM.

Esra GÜLTEKİN

ÖZET

Bruselloz Ön Tanılı Hastaların Serumlarında Brucella Antikorlarının Belirlenmesi

Amacıyla Kullanılan Çeşitli Serolojik Yöntemlerin Karşılaştırılması

Amaç. Bu çalışmada, brusellozis ön tanılı hastaların tanısında kullanılan çeşitli serolojik yöntemlerden alınan sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot. Bruselloz ön tanılı hastaların serumlarından RBT, STA, CT ve ELISA (IgG ve IgM) çalışıldı. Ayrıca hastalara brusellozis epidemiyolojisi ile ilgili bir anket formu dolduruldu. Uygulanan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri, ELISA (IgG ve/veya IgM) pozitifliği sonuçları referans alınarak ROC eğrisi kullanılarak hesaplandı.

Bulgular. Bruselloz ön tanılı 117 hasta çalışma kapsamına alındı. Bruselloz tanısında kullanılan serolojik testlerden en az birisinin pozitif olduğu 85 hastanın 57'si (% 67.1) erkek ve 28'i (% 32.9) kadındı. Hastaların yaşları 5-75 (ortalama 34.0) aralığında idi. Serum örneklerinden RBT ile 81'i (%95.3), STA ile 73'ü (% 85.9), CT ile 64'ü (%75.3), ELISA ile 67'si (%78.8) pozitif bulundu. ELISA (IgG ve/veya IgM) pozitifliği referans olarak alındığında, testlerin duyarlılıkları ve özgüllükleri; Rose Bengal için % 94.0 ve % 64.0 STA için % 94.0 ve % 80.0, Coombs için % 91.0 ve % 94.0, ELISA IgG için % 86.6 ve %100.0, ELISA IgM için % 70.1 ve % 100.0 olarak belirlendi.

Sonuç. Hastalığın klinik şekillerini belirlemek ve çapraz reaksiyon, blokan antikor varlığı, prezon olayı gibi tanıyı olumsuz etkileyecek durumları engellemek için bruselloz kliniği olan kişilere endemik bölgelerde her zaman RBT ve STA yeterli olmamaktadır. Bu durumda STA'nın düşük titreleri için serokonversiyon takibi veya Coombs ve ELISA gibi testlerle laboratuvar tanı desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Aglütinasyon testleri, bruselloz, ELISA, serolojik yöntemler.

ABSTRACT

Comparison of Various Serological Methods Used for Laboratory Diagnosis of Brucellosis

Aim. The aim of this study was to compare the results of various serological methods, in patients who were suspected to have brucellosis.

Material and Method. Serological techniques, including the RBT, STA, CT and ELISA (IgG and IgM) method was performed to patients who were suspected to have brucellosis. Additionally we apply a questionnaire about epidemiology of brucellosis to this patient. The sensitivity and specificity of the used methods was calculated using ROC curve according to ELISA (IgG and/or IgM) positivity.

Results. 117 patients who were suspected to have brucellosis were included in the study. Eighty-five patients 57 (67.1%) were male and 28 (32.9%) were female were serologically positive at least one serologic method of laboratory diagnosis of Brucellosis. Their ages ranged from 5 to 75 years (median, 34.0 years). The positivity rate of RBT, STA, CTA, and ELISA (IgG and IgM) test were 95.3 %, 85.9 %, 75.3 %, and 78.8 % respectively. When ELISA (IgG and/or IgM) positivity accepted as the referans test, the sensitivities and specificity of the tests were calculated as follows; 94.0 % and 64.0 % for Rose Bengal, 94.0 % and 80.0 % for STA, 91.0 % and 94.0 % for Coombs, 86.6% and 100.0 % for ELISA IgG, and 70.1 % and 100.0 % for ELISA IgM.

Conclusion. RBT and STA is not enough for all case, to determine the clinical situtation of disease and to prevent cross reaction, nonaglutine antibody and prezone fenomeni which give faulty in diagnosis of brucellosis especially in endemic area. In this condition, for low titer of STA, detection of the seroconversion or some serological tests (CTA and ELISA) should be used together to increase the chance of laboratory diagnosis of brucellosis.

Key Words: Agglutination tests, brucellosis, ELISA, serological methods.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BOS	: Beyin omirilik sıvısı
CT	: Coombs Testi
DİC	: Dissemine intravasküler koagülasyon
DNA	: Deoxyribonucleic acid
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: Enzyme-linked immusorbent assay
H₂S	: Hidrojen sülfür
I	: Intermitter
KBT	: Kompleman birleşme testi
LPS	: Lipopolysaccharide
M	: Mukoid
MAT	: Mikroaglutinasyon testi
2-ME	: 2-mercaptoethanol
OM	: Outer membrane (Dış membran)
OMP	: Outer membrane protein (Dış membran proteinleri)
ORF	: Open reading frame (Açık okuma bölgesi)
PCR	: Polymerase chain reaction
RBT	: Rose Bengal plate test
RES	: Reticuloendothelial system
ROC	: Receiver operating characteristic
S-LPS	: Smooth lipopolysaccharide
STA	: Standart tüp agglutination test
TMP/SMZ	: Trimethoprim/Sulfamethoxazole

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 4.1. Olguların Yaş Gruplarına Göre Dağılımları	41
Tablo 4.2. Olguların Eğitim Durumlarına Göre Dağılımları	41
Tablo 4.3. Olguların Meslek Gruplarına Göre Dağılımları	42
Tablo 4.4. Serolojik Test Sonuçlarının Duyarlılık ve Özgüllükleri	43

1. GİRİŞ

Brusellozis, *Brucella* cinsi gram negatif bakterilerin neden olduğu, koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların etleri, süt, idrar gibi vücut sıvıları, enfekte süt ile hazırlanan süt ürünleri ve enfekte hayvanın gebelik materyali ile insanlara bulaşabilen, titreme, ateş, kas ve eklem ağrıları ile seyreden bir hastalıktır.^{1, 2}

Brusellozun tanısı, hastanın öyküsü, klinik semptom ve bulguları, bakteriyolojik ve serolojik testlerin birlikte değerlendirilmesiyle konulmaktadır. Hastalarda her zaman karakteristik semptom ve bulguların olmaması; klinik olarak akut, subakut, kronik ve lokalize formlarının olması nedeniyle, tanı konulmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır.¹

Brusellozda kesin tanı, kan ve kemik iliği kültüründen etkenin izolasyonu ile mümkün olmaktadır. Kültürde etkenin izolasyonu, hastalığın süresine, etkenin türüne ve dolaşımdaki miktarına, kullanılan yöntem, inkübasyon süresinin uzunluğuna ve hastanın daha önce antibiyotik tedavisi alıp almamasına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Brusellozda bakteriyi üretmek için uzun süre beklenmesi, üretme oranlarının % 15-70 arasında değişkenlik göstermesi, kültür ile yapılan çalışmaların bulaş açısından risk taşıması, kan kültürü yapılabilmesinin her zaman mümkün olmaması nedeniyle serolojik tanı ön plana çıkmaktadır. Sensitivite ve spesifiteleri yüksek, kısa sürede sonuca götüren, kolay ve ucuz olan birçok serolojik yöntem brusellozis tanısında kullanılmaktadır.^{1, 3, 4}

Bu çalışmada bruselloz ön tanılı hastaların, etkene maruz kalmaları ile ilgili çeşitli epidemiyolojik verilerin toplanması; laboratuvarda tanıda kullanılan çeşitli serolojik testlerin tanıda ki yeri ve öneminin belirlenmesi ve tanıda kullanılan yöntemlerden elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Bruselloz Millattan Önce 450 yıllarında Hipokrat tarafından ateşle karakterize olan bir hastalık olarak tarif edilmiş ve humma olarak tanımlanmıştır. Ancak insan brusellozuna ait ilk tanımlama bir cerrah olan Marston tarafından 1860 yılında yapılmıştır.^{1, 2}

Hastalık etkeni ilk kez İngiliz ordusunda doktor olarak çalışan Sir David Bruce tarafından 1887 yılında, Malta'da hastalıktan ölen İngiliz askerin dalak dokusundan izole edilmiş ve *Micrococcus melitensis* olarak adlandırılmıştır.² 1895 yılında veteriner Bernard Bang Danimarka'da düşük etkeni olarak *Bacillus (Brucella) abortus*'u izole etmeyi başarmıştır.¹

Hastalığın bir zoonoz olduğuna dair ilk bilgiler 1897 yılında Wright ve Smith'in insan ve hayvan serumlarından aglütinasyon testi ile *Brucella melitensis*'e (*B. melitensis*) ait spesifik antikorların tespitine dayanmaktadır.⁵ Zammit 1905 yılında *B. melitensis*'i keçi sütü ve idrarından izole ederek rezervuarın keçiler olduğunu ve hastalığın insanlara bulaşmasında çiğ süt ve süt ürünlerinin sorumlu olduğunu belirtmiştir.⁶

Amerikalı bir bakteriyolog olan Alive Evans 1918 yılında, Malta Ateşi ve Bang hastalığının etkenlerinin birbiriyle yüksek oranda benzer olduğunu göstermiştir. Daha sonra bu iki türün kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri kıyaslanarak gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda bunların aynı cins içinde oldukları belirtilmiş ve Sir David Bruce'un anısına bu cins bakteriler *Brucella* olarak adlandırılmıştır.³

1914'de Traum domuz düşük materyalinden *B.suis*'i izole etmiştir.⁷ Buddle 1956'da Yeni Zelenda ve Avusturalya'da koyunlardan *B. ovis*'i, 1957'de Stoenner ve Lackman çöl ratlarından *B. neotomae*'yı izole etmiştir.^{8, 9} *B. canis* 1968'de Carmichael

ve Bruner tarafından av köpeklerinden izole edilmiştir.¹⁰ Son yıllarda yapılan çalışmalarda deniz memelilerinden iki yeni *Brucella* türü izole edilmiş ve *B. pinnipediae* ve *B. ceti* olarak adlandırmışlardır.¹¹ 2008’de Scholz ve ark.¹² tarafından tarla farelerinden *B. microti* izole edilmiştir.

Ülkemizde ilk defa 1915 yılında Kuleli Askeri Hastanesi’nde tedavi gören bir askerde *B. melitensis* izole edilmiştir.¹³ Hastalık ilk olarak Malta adasında tespit edildiğinden “Malta Humması” veya “Akdeniz Humması” olarak adlandırılmış, klinik gidişteki tipik ateş trasesi nedeni ile “dalgalı humma” da denmiştir. Ülkemizde etkenin hayvanlardan insanlara bulaşması nedeniyle bu hastalık “koyun hastalığı” ya da “mal hastalığı” gibi isimlerle de anılmaktadır.²

2.2. Sınıflandırma

Brucella cinsi mikroorganizmalar, 16S rRNA sekans analizi sonucuna göre *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Bartonella*, *Phyllobacterium* ve *Ochrobactrum* gibi bakterilerin de içinde bulunduğu *Proteobactereaceae* sınıfının α -altgrubunda yer almaktadırlar.¹⁴⁻¹⁶

Brucella cinsi bakteriler Meyer ve Shaw tarafından, 6 türe ayrılmıştır: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. neotomae* ve *B. canis*.¹⁷ Ayrıca, *B. melitensis* 3, *B. abortus* 7 ve *B. suis* 5 biyotipe sahip olduğu saptanmışken, diğer türler için herhangi bir biyotip bildirilmemiştir.^{18, 19}

Son yıllarda henüz sınıflandırmaya dahil edilmemiş olan yeni *Brucella* türleri izole edilmiştir. Deniz memelilerinden (fok, yunus balığı) izole edilen ve *Brucella maris* olarak adlandırılan iki tür daha sonra *Brucella ceti* sp. nov. ve *Brucella pinnipedialis* sp. nov. olarak isimlendirilmiştir.^{11, 20} Ayrıca, *Brucella microti* olarak adlandırılan *Brucella* türü *Microtus arvalis* türü farelerden ve topraktan izole edilmiştir.²¹

2.3. Etkenin Genel Özellikleri

2.3.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Brucella türleri 0.5-0.7 mikrometre (μm) eninde, 0.6-1.5 μm boyunda kok, kokobasil veya kısa basiller şeklinde olup genellikle ikişerli uç uca durma eğilimi göstermelerine rağmen bazen sıvı besiyerinde 3-5'li zincirler de yapabilirler. Kirpiksiz, sporsuz ve hareketsiz olan bu bakteriler küçük olduklarından moleküler hareket nedeniyle yerlerinde titreşirler (Braunien hareket). S tipi koloni oluşturanların ilk izolasyonlarında ince bir kapsüle sahip oldukları gösterilmiştir. Pasajlarda ve R koloni şekillerinde bu kapsüller kaybolur. Bakteriyolojik boyalarla oldukça iyi boyanan *Brucella* türleri Gram negatif özellik gösterir.^{4, 22-25}

Kültürden hazırlanan preparatın modifiye Ziehl-Neelsen ya da Koster yöntemleri kullanılarak boyanması sonucu da *Brucella*'nın morfolojik bakımdan belirlenmesi mümkündür.²⁶

2.3.2. Kültür Özellikleri

İnsanlarda hastalığa neden olan diğer bakterilere göre daha uzun bir bölünme zamanına (2.5-3.5 saat) sahip olan *Brucella* cinsi bakterilerin klinik örneklerden izolasyonu için uzun süre (30 gün veya daha fazla) gerekmektedir.^{1, 27}

İntrasellüler yaşayan *Brucella* türlerinin beslenme ihtiyaçları komplekstir. Özellikle ilk izolasyonda kompleks besiyerlerinin kullanılması gerekir. Et özütü, triptoz gibi kompleks peptonlu, glikoz ve tuz içeren besiyerlerinde iyi ürerler. Bazı türlerin üreyebilmeleri için besiyerlerine tiamin, nikotinik asit, niasin, biotin, bazen serum eklemek gerekir. *Brucella*'ların üretilmesi için antibiyotikli-glikozlu-serumlu buyyon ve agar, *Brucella* buyyonu ve agarı, çikolotamsıagar, albimi buyyon ve agarı, kanlı jelöz gibi çeşitli besiyerleri geliştirilmiştir.^{3, 28 (s. 475-478), 29}

Jelözdeki 2-3 günlük kolonileri küçük, kabarık, saydam, şebnem tanesine benzeyen, kaygan, S şeklindedir. 6-7 günlük bir süre sonunda ise kültürde matlaşan ve ayrışmaya başlayan R koloni formları oluşur. Bu koloniler yassı, daha büyük çapta, mat ve granüllü bir yüzeye sahiptirler. Belirtilen bu iki ana S, R formundan başka, intermedier (I) ve mukoid (M) özellik gösteren koloni varyasyonları da vardır. Ayrıca *Brucella*'ların antibiyotik ve kimyasal maddelerden etkilenmeleriyle L formları da meydana gelebilir.^{28 (s.475-478), 29}

Mikroaerofil olan bu bakteri cinsinde *B. abortus*'un dışında ki tüm türler aerobtur. Özellikle *B. abortus* ilk izolasyonunda % 5-10 CO₂'te gereksinim duyar. Bundan dolayı inkübasyon için iki besiyeri hazırlanmakta ve bu besiyerlerinden biri normal atmosfer kosulu bulunan etüve, diğer besiyeri ise % 5-10 CO₂'lu ortama koyularak inkübe edilmektedirler.^{2, 29}

Optimal üreme sıcaklıkları 37°C olmakla beraber, 10-40°C arasında da üreyebilirler ve optimal pH: 6.7-7.4'tür. Kolonileri inkübasyondan 2-3 gün sonra görülebilir. Fakat 4-5 gün sonra 2-3 mm çapa ulaşırlar. Zengin besiyerlerinde hemolizsiz, pigmentsiz, düzgün kenarlı, konveks, nemli, parlak koloniler oluştururlar. *B.melitensis* ve *B.abortus*'un bazı türlerinin kolonileri, eski kültürlerde esmer-kahverengi renk alabilirler.²³

2.3.3. Biyokimyasal Özellikleri

Brucella cinsi bakteriler; aerobik, katalaz pozitif; *B. ovis*, *B. neotomae* ve *B. canis*'in bazı suşları dışında oksidaz pozitifdir. Bazı karbonhidratlar ve polihidrik alkollerini okside ederler, fermentasyon yapmazlar. *B. ovis* dışındaki tüm suşlar üreyi hidrolize ederler. Karbonhidratlardan asit ya da gaz yapmamakla beraber, glikozu az miktarda ütilize ederler. Bazı gaz oluşturan türlerin suşları nitratları nitritlere indirgerler.^{23, 30}

Brucella türleri; sütte hafif alkali reaksiyon yapar, jelatini eritmez ve indol negatiftirler ve asetil metil karbinol oluşturmazlar (Voges Proskauer), jelatin likefaksiyonu, sitratı kullanma ve hemoliz açısından negatiftirler. Metil kırmızısı testi olumsuzdur.^{23, 30, 31}

Organik kükürtlü bileşikler parçalama sonucunda *Brucella*'ların her üç türü de Hidrojen Sülfür (H₂S) oluştururlar. Ancak bunlar arasında *B.suis* en uzun süre (3-5 gün) ve en fazla miktarda, *B. abortus* orta süre (2 gün) ve az miktarda; *B.melitensis* ise en az süre (1 gün kadar) ve en az miktarda H₂S yapar.²⁹

Tb fajı olarak adlandırılan bir fajın standart koşullarda *B. abortus*'u lize ettiği halde diğerlerini eritmediği saptanmıştır.²³

2.3.4. Antijenik Yapı

Brucella bakterilerinin parçalandıktan sonra, bağışık seruma karşı immünelektroforeze tabi tutulduğunda, yirmiden fazla antijen-antikor reaksiyonunun varlığı görülür. Farklı suşlar ile yapılan karşılaştırma çalışmaları, birçok *Brucella* antijeninin tüm suşlarda ortak olarak bulunduğunu; sadece somatik lipopolisakkarit (LPS) antijenlerinin "S" tipinden olan ve olmayan suşlarda önemli farklılıklar gösterdiğini; dış membran proteinlerinin ise türler karşılaştırıldığında farklı yapılar gösterdiğini ortaya koymuştur.³²

Brucella bakterilerinin "S" tipi koloni oluşturan suşlarında, A (*B. abortus*) ve M (*B. melitensis*) epitoplarının varlığı saptanmıştır.³²

B.abortus ve *B. suis*'de A antijeni fazla, M antijeni az, *B. melitensis*'de ise M antijeni fazla, A antijeni az miktarlardadır. *B. abortus* ve *B.suis*'de A antijeninin M antijenine oranı 20 iken, *B. melitensis*'de bu oran 1/20 dir. Bu nedenle serolojik metodlar ile *B.melitensis*'i, *B.abortus* ve *B. suis*'den ayırmak mümkün iken, *B.abortus*'u *B.suis*'den ayırt etmek mümkün değildir.²³

S ve R tipi suşların ortaya çıkan en belirgin antijeninin LPS'ler olduğu görülmektedir (S-LPS ve R-LPS'ler). Ayrıca natif hapten, B polisakkaridi ve yirmi kadar protein/glikoprotein antijeni, bakterilerin yapısında yer almaktadır. LPS antijenlerinin hücre yüzeyinde yer almasına karşılık, protein antijenlerinin büyük kısmı hücre içinde bulunmaktadır.³² Bu antijenlerden S-LPS, aglütinasyon, kompleman birleşmesi ve Rose-Bengal testlerinde rol oynayan majör antijendir.³²

Serolojik testlerde ve koruyucu aşı çalışmalarında yaralanılan başlıca antijenler şunlardır:

A. Yüzey Antijenleri:

Brucella türlerinde diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi, yüzey katmanları en içteki sitoplazma membranı, bunu çevreleyen sert peptidoglikan tabakası ve fosfolipit-LPS- proteinleri (OMP) içeren dış membran (OM) olarak bilinen tabakalardan meydana gelir. Bakterilerin OMP'lerinde 36-38 K. ve 25-27 K olarak adlandırılan iki majör protein grubu bulunur. Peptidoglikanın yapısı ise, diğer gram negatif bakterilerinkine benzer ve adjuvan özelliği nedeniyle immün yanıtta rol oynar.³²

Bazı suşlarda ayrıca yüzeyel L zarf antijeni varlığı ortaya konmuştur. *Salmonella*'ların Vi antijenlerine benzeyen ve daha çok *B. abortus* kökenlerinde bulunan bu L antijeni yeni izole edilen bakterilerde var olup, onların immün serumlarla aglütinasyonuna engel olmakta, 100°C'de yarım saat ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadır.^{23, 33}

B. İç Antijenleri:

Bu bölgede yer alan proteinler (A1,A2,A3.....X antijenleri) deri deneylerinde rol oynar.³²

S-LPS'lere bağlı karbonhidratın O zincirindeki 4-6 dideoksi-4-afnino-D-mannoz (Nacil-D-perozamin) bölgesine bağlı olarak S tipi *Brucella* bakterileri ile *Escherichia*

coli 0:116 ve 0:157, *Francisella tularensis*, *N grubu naltophilia*, *Vibrio cholerae* 0:9 bakterileri *Salmonella*'lar, *Pseudomonas cholerae*, *Yersinia enterocoliti* arasında çapraz reaksiyonlar saptanmıştır.³³

2.3.5. Genetik zellikleri

B. suis 3,1 Mbp'lik tek bir halkasal kromozoma sahip olmakla beraber çoğu *Brucella* türleri 2,1 ve 1,2 Mbp'lik, iki halkasal kromozoma sahiptirler. *B. suis* iki kromozomlu genomun dışında, diğerk tüm *Brucella* 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. İki halkasal kromozoma sahip olan çoğu *Brucella* türünde daha küçük olan kromozom II, bir replikasyon orijinine ve bir megaplazmidten köken aldığı ne sürülen genetik ieriğes sahiptir. Kromozomdaki G+C ieriğesi % 57'dir. *Brucella*'nın kromozom I'i yaklaşık 2,100-2,200 açık okuma bölgesi (ORF) ve kromozom II'si tahminen yaklaşık 1,100-1,200 açık okuma bölgesine sahiptir. Sekansları tamamlanmış  *Brucella* genomunda, tanımlanmış sekansların % 99'undan fazlasını bu ORF'ler paylaşır. Bununla birlikte, şimdiye kadar yapılan genomik çalışmalarda; sınırlı sayıda tre spesifik ORF'ler ve değişken ORF'ler ile bir adet anlamlı sayıda, muhtemelen yüzey proteinlerini kodlayan bölge identifiye edilmiştir. *B. melitensis*' e ait 3,091 ORFs bölgelerinin *Brucella* patogenezinde rol oynadığı ve konak tropizmi sağladığı saptanmıştır.³

2.3.6. Dirençlilik

Brucella cinsi bakteriler ısı, iyonizan radyasyona ve dezenfektanlara karşı dirensizlerdir.³¹ Bakteri normal mide asiditesine dayanıklı değildir.²

Brucella türleri 60 C' de ısıtmakla 10 dakikada, %1'lik fenol eriyiğinde ise 15 dakikada ölürlür. Pastörizasyon işlemi sonrası çabuk ölmelerinin epidemiyolojik değeri

vardır. *Brucella* cinsi bakteriler süt içinde 17 gün, tereyağında 142 gün, çiğ süttten yapılan dondurmada 30 gün, çiğ süttten yapılmış tuzsuz krema yağında buzdolabında 142 gün, % 10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün yaşayabilirken, %17 tuz içeren ise 1 ay, 4-8°C’de saklanan keçi sütünden yapılmış peynirde ise 6 aydan daha uzun süre, tuzlanmış domuz etinde 3 hafta canlı kalırlar. Tulum ve kaşar peyniri uzun süre bekletildiğinden, yoğurt ise asiditesi fazla olduğundan hastalığı bulaştırmazlar. Etlerin normal dinlendirilmesiyle oluşan pH değişikliği (asidite) enfekte etteki *Brucella* türlerini öldürmede yeterlidir.^{2, 23, 31}

Çeşme suyunda 8°C’de 57 gün, 25°C’de ise 10 gün canlılığını koruduğu, insan idrarında en az 7 gün, hayvan dışıkısında açıkta 100 gün, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay, hayvanların barındığı ahır tozlarında 6 hafta, toprakta 10 hafta, gübrede 2 yıldan daha fazla canlı kaldığı bildirilmiştir.^{2, 23, 31} Güneş ışığında 1-12 saatte, 60°C’de 10 dakikada, 100 °C’de hemen ölürlar. Dondurulmuş dokularda birkaç yıl, nemli toprakta 60 gün ve 20 °C’de % 40 nemli ortamda 144 gün canlı kalabilirler. İdrarda 30 gün, atık fötuslarda en az 75 gün ve uterus akıntılarında 200 günden fazla canlı kalabilir.³⁴

Bu bakteriler; streptomisin, tetrasiklin, rifampisin, 3.kuşak sefalosporinler, trimetoprim/sülfametoksazol’e (TMP/SMZ) ve sülfonamide duyarlı, penisilinlere dirençlidir.^{2, 23}

2.4. Epidemiyoloji

Dünyanın en geniş yayılım alanına sahip zoonozu olan bruselloz, yalnız insanlarda ciddi klinik tablolara sebep olmayıp, aynı zamanda evcil hayvanları da enfekte etmesi ile büyük boyutlarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır.³

Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle birlikte Portekiz, İspanya, Güney Fransa, İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Kuzey Afrika ülkelerinin yer aldığı

Akdeniz havzası ile Arap Yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir.³⁵

İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloz hayvanlar arasında tamamen eradike edilmiş olmasına rağmen ülkemizde özellikle Ankara ovasında, Konya yöresinde, Güneydoğu Anadolu'da Diyarbakır ve Urfa yörelerinde, Doğu Anadolu'da hayvanlar arasında oldukça yaygın bir hastalıktır.^{2,35}

Türkiye'de 1984-87 yılları arasında Çetin ve ark.'ları³⁶ tarafından bruselloz epidemiyolojisi konusunda yapılan çok merkezli çalışmada 70.009 serum incelenmiş, bu geniş kapsamlı çalışmanın sonuçlarına göre seropozitifliğin normal popülasyonda %1,8 riskli grupta ise % 6.0 oranında olduğu saptanmış, ayrıca *Brucella* bakterileri ile karşılaşan kişi sayısının 1 750 000 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Bu veriler Sağlık Bakanlığının verileri de göz önünde bulundurulduğunda bruselloz olgu sayısının gerçekte Sağlık Bakanlığı'na bildirilen olgu sayısından fazla olduğunu göstermektedir.^{35, 36}

Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1970 yılında 37 olarak bildirilen olgu sayısı (0,1/100.000), 2004 yılına gelindiğinde 18.408'e ulaşmıştır (25,65/100.000). Bu artışın hastalık prevelansında ki gerçek artıştan çok, bildirim ve tanı koyma oranlarında ki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.³⁵

Köse ve ark.'larının³⁷ 2006 yılında yaptığı diğer bir seroepidemiolojik çalışmada ülkemizin çeşitli illerinde ki 832 sağlıklı erişkin Standart tüp aglütinasyon (STA) ve Rose Bengal (RBT) testiyle taranmış yapılan bu çalışmanın seroprevelansının % 3 olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda *Brucella* seroprevelansı % 1,3 ile % 27,6 arasında değişen oranlarda bulunmuştur.³⁷⁻⁴⁰

2.5. Bulaş

Hayvanlarda yaşam boyu kalan ve kronik enfeksiyonlara yol açan brucelloz etkeni bakteriler infekte hayvanların süt, idrar ve gebelik ürünleri ile atılır.^{31,41} Bakteri hayvanda neden olduğu mastit veya genital akıntıdan hayvan sütüne karışır.²

İnsanlara bulaş yolları, infekte hayvana ait pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi, sekresyonlarının bütünlüğü bozulmuş cilt ile direkt teması, infekte aerosollerin inhalasyonu, konjuktivaya inokülasyonudur. Hastalığın endemik olduğu ülkelerde başlıca bulaş yolu pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi iken, gelişmiş ülkelerde daha çok temas ve inhalasyon yolu ile bulaşın ön planda olduğu görülmektedir.³⁵

Fransa’ da yapılan bir araştırmada brucelloz olgularının % 60’ının inhalasyon yolu ile bulaştığı saptanmıştır. Ülkemizde ise bulaş daha çok çiğ süttten yapılan peynir ve krema yağlarla olmaktadır. Özellikle kırsal kesimde hayvanlardan sağılan sütlere herhangi bir ısıtma işlemi uygulanmadan peynir mayası ilave edilir veya santrüfuj esasına dayanan yağ makinelerinden krema yağlar elde edilir. Yaz aylarında insanların kırsal kesime seyahat olanaklarının artması ve pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerini taze olarak elde etmelerinden dolayı yaz mevsiminde enfeksiyonun görülme sıklığı 4 kat daha fazladır.²

Yoğurt yapımında, süt kaynatıldığından ve mayalanma işlemi sonucunda asidik ortam oluştuğundan, hastalık için bulaş kaynağı oluşturmazken yine kaynatılıp çöktürme işlemi ile elde edilen kaşar ve tulum peyniri ile de hastalık bulaşmaz.² Kas dokusunda az sayıda bakteri ihtiva eden ve genellikle çiğ tüketilmeyen et ürünleri, nadiren enfeksiyon kaynağı olmaktadır.³⁵

İnsandan insana bulaş son derece nadirdir. İnsan spermallerinden izole edilmiş olsalar bile seksüel geçiş tartışmalıdır.³¹ Kan nakli ile etkenin bulaşabileceğine dair

bilgiler mevcuttur.⁴² Ayrıca, anne sütü ile de etkenin bulaşabileceğini bildiren vakalarda bulunmaktadır.⁴³

Laboratuvar çalışmaları esnasında korumasız örnekler, plakların koklanması, ağız pipetleri, enfeksiyöz aerosollerle göze, buruna ya da ağıza bulaşabilme riskinden dolayı yaygın olarak laboratuvar kaynaklı bir enfeksiyon etkeni olabileceği düşünülmektedir.³

Ülkemizde her yaş ve her cinsten hastalık görülebilmektedir. Özellikle 15-35 yaş grubunda hastalığın görülme oranı en yüksek seviyede iken bazı meslek grupları (hayvan yetiştiriciler, veteriner hekim ve sağlık memurları, mezbaha işçileri ve et sanayinde çalışanlar, veteriner araştırma laboratuvarında çalışan elemanlar) bruselloz açısından risk teşkil etmektedir.²

Neden olduğu hastalığın ciddiyeti ve insanlar için uygun aşının yokluğundan dolayı *Brucella* türü bakteriler biyoterörizm ajanı olarak kullanılabilir. Bazı *Brucella* suşlarının B kategorisi biyoterörizm ajanı olarak tanımlanmasından dolayı; etkenin saptanması için hızlı ve uygun tanı araçları üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır.⁴⁴

2.6. Patogenezi

Etken, genellikle infekte hayvanların pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin sindirim yolundan alınması ile bulaşır. Genel olarak *B. melitensis* ve *B. suis*'in *B. abortus* ve *B. canis*'e göre daha virulan olduğu kabul edilmektedir.^{2, 31}

Konağın beslenme ve bağışıklık durumu, bulaşan bakterinin miktarı, bulaşma yolu gibi faktörler hastalığın oluşumunda belirleyici faktörlerdir. Bakteri oral yoldan alındığında; mide asidinin yetersizliği veya herhangi bir ilaçla ya da diyetle nötralize edilmiş olması, bakterinin geçişini kolaylaştırır. *B. melitensis* mide asiditesine *B. abortus*'a oranla daha dayanıklıdır. Bakterinin diğer giriş yolları bütünlüğü bozulmuş deri, konjonktiva ve bakterilerle kontamine tozlar aracılığı ile solunum yoludur.^{2, 31}

Kuluçka süresi yaklaşık 2-3 haftadır. Bu süre, alınan bakteri sayısı ve bakterinin vücuda giriş yoluna bağlı olarak değişebilir. Bölgesel lenf bezlerinde çoğalan bakteriler kan yoluyla yayılarak karaciğer, dalak, lenf bezleri, kemik iliği, böbrek gibi retiküloendotelial sistem (RES) organlarında yerleşmeye eğilimlidir.^{2,31}

İntrasellüler mekanizmalar ile öldürülemeyen mikroorganizmalar yerleştiği RES organlarının büyümesine neden olurlar. Bunun nedeni; büyük, tek nükleuslu hücrelerde gelişen progressif proliferasyondur. Hücre içerisinde üremekte olan bakteri, aynı zamanda antikor tehdidinden ve kullanılan antimikrobiyal ajanlardan uzun süre korunmuş olur. Bu nedenle uzun süreli antimikrobiyal tedaviye gereksinim duyulmaktadır. Mikroorganizmaya karşı immünitinin gelişmesi ve makrofajların aktive olması ile mikroorganizmalar öldürülmeye başlar ve bakterinin sahip olduğu hücre duvar yapısı kana dökülür. Organizmanın bu endotoksine yanıtı ile de hastalıkta görülen birçok belirti ortaya çıkar. Savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılamayan bakteriler, granülom oluşumu ile sınırlandırılmaya çalışılır. Özellikle dalak, karaciğer ve kemik iliğinde; epiteloid hücreler, plazma hücreleri ve mononükleer hücreler ile çevrili granülomlar brusellozun karakteristik histopatolojik görünümünü oluşturur.^{1,31}

Granülomlar, epiteloid dev hücrelerin bulunduğu santral nekroz ve periferik fibrozisten oluşur. *Brucella* türü bakteriler, fakültatif intrasellüler patojenlerdir. Konağın fagositik hücrelerinde yaşar ve çoğalırlar. Polimorfonükleer lökositlerin intrasellüler öldürme mekanizmalarından *Brucella* türü bakterilerin, nasıl kurtulduğu tam olarak anlaşılamasa da bakteri yüzey özelliklerinin, bakteriyi fagositik hücrelerin saptanmasından kurtardığı görülmektedir.

Brucella'nın intrasellüler yaşamını sağlayan faktörlerin, şunlar olduğu düşünülmektedir:

a) Nötrofillerin miyeloperoksidaz-H₂O₂ sistemlerini baskılayan adenin ve 5-guanozin monofosfat üretimi,

b) Makrofajlardaki fagozom-lizozom füzyonunu inhibe eden maddeler,

c) Oksidatif yıkıma karşı savunma yapan süperoksit dismutaz gibi enzimler.

Brucella, yaşamını sürdürüp çoğalabileceği RES makrofajları tarafından da fagosite edilir.

Brucella'nın başlıca virulans faktörü S-LPS'dir. R tipi suşların genellikle virulansları azalmış ve normal serum tarafından öldürülmeye çok daha hassastırlar. Doğal olarak R tipi olan *B. canis* ve *B. ovis* gibi türlerin çok kısıtlı sayıda enfekte edebildikleri konakları vardır.^{2,31}

Brucella türleri doğal konakları olan hayvanlarda hafif seyirli veya asemptomatik hastalık oluştururlar. Bakteri metabolizmasında glukoza tercih ettiği bir şeker olan eritritolden zengin dokulara yerleşme eğilimindedir. Hayvanların meme, uterus, plesanta ve epididimine yerleşirler. Bu yüzden bakteri insan dışında ki konaklarda bu organlara yerleşerek düşük, kısırlık ve asemptomatik taşıyıcılığa neden olabilir. İnsan plesantasında eritritol bulunmaması nedeniyle, insanlarda bruselloza bağlı düşük riski, diğer bakteriyel infeksiyonların seyrinde görülebilecek düşük riskinden fazla değildir. Overler ve endometriyum tutulumu daha nadirken, genç-erişkin hastalarda testis, epididim ve veziküloseminallara yerleşim sonucu akut orşit, epididimit gelişimi daha sıktır.^{2,45}

Brusellozda karaciğer hemen tamamen tutulmakla birlikte, karaciğer fonksiyon testlerindeki yükselme genellikle düşük düzeydedir. *Brucella*'lar büyük eklem ve vertebralarda da yerleşerek buralarda da bir dizi patolojik değişikliğe neden olurlar. En çok tutulan periferik eklemler kalça, diz ve dirseklerdir. Spondilite daha çok yaşlılarda rastlanır ve parasipinal apse gelişebilir. Hastalığın seyri sırasında görülebilen vaskülit,

eritema nodosum ve çeşitli cilt döküntüleri, immün komplekslere bağlı olarak açıklanmaya çalışılmıştır. Bazı hastalarda Antinükleer antikor veya Romatoid faktör pozitifliği saptanmıştır.²

2.7. Klinik

Sistemik bir infeksiyon hastalığı olan bruselloz geniş bir klinik yelpazeye sahip olup hastalığın klinik seyri konağın direncine, yaşına, etkenin türüne, virulansına ve uygun antimikrobiyal tedaviye kadar geçen süreye bağlı olarak değişiklik gösterir.^{46,47}

Her hastada farklı klinik tablolar gösteren bruselloz klasik olarak titreme ile yükselen ateş, aşırı terleme, baş ağrısı, kırıklık, halsizlik, kilo kaybı, bel ağrısı ve yaygın vücut ağrıları ile ortaya çıkan bir infeksiyon hastalığıdır. Bruselloz vakalarında en sık rastlanan bulgular ateş, hepatomegali, splenomegali, lenfadenomegali ve artrittir.⁴⁸

Semptomların süresine göre brusellozun temelde akut, subakut, kronik olmak üzere üç farklı klinik formu vardır. Bu klinik formlar dışında bruselloz asemptomatik, subklinik, fokal ya da komplikasyonlu, relaps veya reinfeksiyon şeklinde de seyredebilir.⁴⁷

2.7.1. Akut Bruselloz

Hastalık belirtilerinin başlamasından sonraki sekiz haftalık süreye kadar olan dönemdir. Hastalıkta 2-3 haftalık bir inkübasyon süresi sonunda hafiften çok ağır seyirli toksik bir tabloya kadar değişik klinik seyir görülür. Olguların yarısında hastalık ani başlangıç gösterir. Akut başlayan ve ağır seyreden bruselloz, sepsis gibi değerlendirilebilir. Orta ve hafif seyirli vakalar ise grip benzeri tabloyla geldiğinden klinik olarak tanı koymak pek mümkün değildir. Özellikle risk gruplarında yüksek ateş, terleme ve yaygın vücut ağrıları gibi semptomların varlığında bruselloz da ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Genellikle intermittant veya remittan ateş görülür. Ateş öğleden sonra üşüme ve titreme ile yükselir, gece yarısından sonra bol terleme ile düşer. Ateş, 7- 10

günde yavaş yavaş düşer. Ateşsiz dönem 3-5 gündür. Sonra tekrar aynı ateş periyodu görülür. Bu ateş şekli, bruselloz için tipik olan ondulan ateş trasesi olarak tanımlanmakta fakat pratikte bu ateş şekline sık rastlanmamaktadır.⁴⁷

2.7.2. Subakut Bruselloz

Akut bruselloz vakalarının tedavi edilmeyen bir kısmı, subakut döneme geçebilir.²³ İki aydan bir yıla kadar olan hastalık dönemi subakut bruselloz olarak bilinmektedir.⁴⁷

Ondulan ateş, kas ve iskelet sistemine ait belirti ve bulgular ön plandadır. Tedavi edilmemiş subakut olguların % 60'ında ondulan ateş görülürken klinik bulgulara rölatif bradikardi eşlik edebilir. Ateşin öğleden sonra yükselmeye başlaması ve gece yarısına doğru bol terleme ile düşmesi tipiktir. Olguların % 5'inde nörolojik semptomlar vardır. Erkeklerde orşio-epididimit görülebilir.⁴⁶

Akut ve subakut brusellozda en sık rastlanan fizik muayene bulguları splenomegali (% 20-30), hepatomegali (% 20), servikal ve aksiller bölgede hafif lenfadenopatidir(% 12-21).³¹

2.7.3. Kronik Bruselloz

Tanı konulduktan sonra bir yıldan fazla süren hastalık dönemidir. Klinik belirtiler genellikle çok ağır değildir ve semptomlar siliktir. Klinik olarak tanı konulması oldukça güçtür. Vakaların % 85'i asemptomatiktir. Relaps ve komplikasyonların mevcut olduğu dönemdir. Erişkinlerde baş ağrısı, halsizlik, depresif ataklar, uykusuzluk, emosyonel labilite, kronik yorgunluk semptomlarıyla seyreden kronik form çocuklarda nadir olarak görülmektedir.⁴⁷

Kronik bruselloz vakalarının % 25-50'sinde ateş görülür.²³ Hafif lenfadenomegali vardır. Fizik bulgular akut veya subakut vakalardaki kadar belirgin değildir.⁴⁷

Kronik bruselloz dört şekilde ortaya çıkabilir;

1-Sinsi seyir,

2-Akut hastalık sonrası tekrarlayan relapslar,

3-Kalıcı hastalık,

4-Fokal organ tutulumları.⁴⁷

Kronik brusellozlu olguların bir bölümünde ilk epidozun uygun olmayan tedavisine bağlı infeksiyon devam edebilir. Kemik, karaciğer veya dalakta süpüratif lezyonlar vardır.³¹

Akut seyir ve periferik büyük eklemlerin (kalça, diz, dirsek, omuz, ayak bileği) tutulumu daha çok çocuk ve genç erişkin döneminde görülürken, kronik seyir ve spondilit, vertebral osteomyelit ve paravertebral abseler yaşlılarda daha sıktır.⁴⁶

2.7.4. Asemptomatik Subklinik Bruselloz

Hastalığın subklinik geçirilme oranı oldukça değişkendir. Çocukların bir kısmında bruselloz asemptomatik seyirli olabilir. Semptomsuz meslek hastalığı yalnız serolojik olarak belirlenebilir.⁴⁷

2.7.5. Relaps-Reinfeksiyon

Bruselloz tam tedavi edilmesine rağmen %5 oranında relaps görülür. Genellikle hastalıktan 3-6 ay sonra gelişir. Tedavili veya tedavisiz iyileştikten sonra yeniden akut olarak başlar. Yüksek ateş veya daha şiddetli semptomlarla seyredebilir. Relaps ve reinfeksiyonun ayırt edilmesi zordur. Hastalarda humoral ve hücrel cevap olduğu halde oluşan antikörlerin koruyuculuğu yoktur.⁴⁷

2.7.6 .Fokal Bruselloz

Bruselloz lokal olarak bir organı tutabilir. Fokal bruselloz; genellikle sistemik hastalığın belirli bir organda daha fazla yakınma ya da komplikasyonunun göstergesidir. Akut bruselloz vakalarının dışında hemen her sistemi tutan fokal formuna rastlanabilir.⁴⁷

2.8. Komplikasyonlar

Bruselloz sistemik bir infeksiyon hastalığı olup birçok doku ve organı tutulabilir. Spesifik organ tutulumları, “fokal veya lokalize hastalık” veya komplikasyon olarak tanımlanmaktadır.¹

Brusellozda en sık karşılaşılan komplikasyonlar;

- Osteoartiküler Komplikasyonlar^{49,50}
- Gastrointestinal Sistem Komplikasyonlar^{51,52}
- Genitoüriner Sistem Komplikasyonları⁵³
- Nörobruselloz Komplikasyonlar⁵⁴⁻⁵⁷
- Kardiyovasküler Komplikasyonlar⁵⁸
- Pulmoner Sistem Komplikasyonlar⁵⁹⁻⁶²
- Hematolojik Sistem Komplikasyonlar^{46,63}
- Kutanöz Komplikasyonları⁶⁴
- Oküler Sistem Komplikasyonları⁴⁶

İnsanlarda bruselloza neden olan türler arasında en virulan tür olan *B.melitensis*, en sık akut ciddi hastalık tablosuna ve komplikasyonlara neden olmaktadır. *B.suis* daha çok subakut ve kronik seyirli süperatif destrüktif lezyonlarla seyreden infeksiyonlara neden olmaktadır. *B.abortus* orta derecede ılımlı, komplikasyonları daha nadir, sporadik olgulara neden olmaktadır. *B.canis*’in neden olduğu infeksiyonların klinik seyri

B.abortus infeksiyonuna benzemekle beraber, sinsi başlangıçlı olup nüksler sık görülmektedir.⁴⁶

2.9. Tanı

Hastanın hikayesi, fizik muayene bulguları, radyolojik bulgular ve laboratuvar verileri bruselloz tanısı için gereklidir.⁶⁵

Brusellozun tanısında laboratuvar bulguları büyük önem taşımaktadır. Rutin laboratuvar tetkiklerinde; lökosit sayısı normal olmakla birlikte, bazen lökopeni bazen de $10.000/\text{mm}^3$ 'in üzerinde lökositoz saptanabilir. Hastanın lökosit formülünde hafif bir lenfomonositoz bulunabilir. Kronik vakalarda anemi, trombositopeni de görülebilir. Eritrosit sedimentasyon hızı genellikle orta derecede artmıştır. İdrar tetkik sonuçları normaldir. Hastanın yüksek ateşli olduğu dönemde febril albuminuri bulunabilir. Böbrek tutulumu olduğu zaman; idrar dansitesi düşebilir, proteinürü belirginleşir, idrar sedimentinde eritrosit, lökosit ve silendir görülebilir.²

Kesin tanı mikrobiyolojik yöntemlerden elde edilen bulgular sonunda konulabilmektedir. Tanıda kullanılan yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü; örnek içerisinde bulunan mikroorganizma sayısına, tanıda kullanılan antikor ya da genetik probun cins ya da türe özgü olup olmaması gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir.⁶⁵

Brucella kültürü yönünden incelenecek başlıca örnekler kan ve kemik iliği, daha az olarak ta dalak ve karaciğer biyopsileri, abse, BOS (Beyin omurilik sıvısı), eklem, periton ve perikard sıvıları ve idrar örnekleri gelmektedir. Serolojik çalışmalar amacıyla en sık alınan örnek ise serumdur. Akut dönemde serolojik çalışmalar için serum örnekleri hastalığın başlangıcında; iyileşme döneminde ise akut dönemden 21 gün sonra alınması uygundur. Kültür için alınan bakteriyolojik örnekler en geç 2 saat içerisinde

ekilmeli, eğer ekimlerin yapılması mümkün değilse 4-10°C’de korunması gerekmektedir.⁶⁵

Bruselloz’da kan kültürü pozitifliği % 15-70 arasında değişmektedir. Bakterinin kan kültürlerinden izolasyonunun düşük olmasının nedenleri arasında; hastanın önceden antibiyotik kullanması, bakteri sayısının düşük olması, ateşin yüksek olduğu dönemde kanın alınmaması, kültürlerin en az 3-4 hafta izlenmemesi sayılabilir. Brusellozda bakteriyi üretmek için uzun süre beklenmesi, üretme oranlarının değişkenliği, her yerde kan kültürü yapılamaması nedeniyle serolojik tanı ön plana çıkmaktadır.⁶⁶

2.9.1. Direkt Etiyolojik Tanı Yöntemleri

2.9.1.1. Kültür Yöntemleri ile Etkenin İzolasyonu

Bruselloza neden olan suşun kültürden izolasyonu altın standart tanı yöntemi olarak kabul edilir. Bakteriyolojik çalışmalar laboratuvar içi bulaş bakımından tehlikeli olmasına rağmen, bakterinin antimikrobiyal duyarlılığına ve tiplendirmesine de olanak sağlamaktadır. Etkenin izolasyonu kullanılan kültür yöntemine ve klinik örneğin tipine ve volümüne bağlı olarak değişmektedir.^{67,68}

Kültür amacıyla sıvı, katı ve seçici besiyerleri kullanılır. Sıvı besiyerleri daha çok kan ve beyin omurilik sıvısı gibi materyallerin ekiminde kullanılır. Seçici besiyerleri ise özellikle kontamine örneklerden bakteri izolasyonunda kullanılır.^{28(s. 475-478), 29}

Fakültatif zorunlu hücre içi paraziti olan *Brucella* cinsi bakterilerin kültürden izolasyonu 5-7 gün arasında bir zamanı gerektirmektedir.²³ Etkenin ilk izolasyonunda bakteriler yavaş ürediklerinden 30 gün bekletilmeden kültürler olumsuz diye atılmamalıdır. Ekimler çift yapılarak birisi % 5-10 CO₂’li ortamda, diğeri normal atmosfer koşullarına bekletilmelidir. 2–3 günde bir, sıvı ortamlardan katı ortamlara pasajlar yapılarak, 37 °C’de bekletilip koloni oluşup oluşmadığı izlenir.^{28(s.475-478), 29}

Genelde geç ve güç üreyen bir bakteridir. Et ekstresi, triptoz, glikoz ve tuz içeren ortamlarda izole edilebilmelerine rağmen birçoğu da tiamin, niasin nikotinik asit, biotin ve serum gibi maddelerin varlığında üreyebilmektedir. *Brucella*'ların üretilmesinde; %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar, triptikaz soy agar, trypton soya agar, potato infusion agar, serumlu dekstroaz agar, gliserol dekstroaz agar, *Brucella* agar, columbia agar ve kan kültürü şişeleri kullanılan besiyerlerinden bazılarıdır.²³

Konvansiyonel olarak kullanılan bifazik Castaneda kültür ortamında uzun inkübasyon süresine gereksinim duyulmaktadır. Kan, diğer vücut sıvılarıyla ve süten *Brucella* izolasyonunda tercih edilir. Castaneda tekniğinde, 120 ml'lik dört köşe ilaç şişelerinde kullanılacak besiyerinin agarlı katı şekli yatık olarak, ayrıca 20–30 mL aynı besiyerinin sıvı şeklini bulunduracak şekilde hazırlanırlar. Ekim, sıvı kısma yapılır. 2–3 günde bir eğmek suretiyle katı besiyeri yüzeyine bulaştırılıp yine dik durumda 37 °C 'de bekletilerek koloni oluşması izlenir. Üretme oranları, akut vakalarda % 40-90, kronik, fokal ve komplike vakalarda % 5-10 gibi değişken oranlardadır.^{28(s.475-478), 29, 67}

Tüm temel besiyeri ortamları *Brucella* bakterilerinin dışındaki organizmaların üremesini engellemek için antibiyotik ilave edilerek seçici hale getirilebilir. Bu amaçla belirli oranlarda polimiksin, basitrasin, sikloheksimid, nalidiksik asit, nistatin, vankomisin içeren antimikrobik komplekslerinin kullanılması uygun olmaktadır.⁶⁹

Brucella türlerinin direkt izolasyonu ve kültürü amacıyla genellikle katı besiyerleri tercih edilmektedir. Katı besiyerlerinin en önemli avantajlarından birisi gelişen bakteri kolonilerinin morfolojisinin incelenmesi ile tanıya katkı sağlamasıdır. Katı yüzeylerde elde edilmiş kolonileri 1-2 mm çapında, nonhemolitik, şebnem tanesine benzer saydam, küçük, kabarık, S tipi kolonilerdir. Yavaş üreyen bakterinin kolonileri 48 saat sonra gözle görülebilir büyüklüğe erişmektedir. Koloniler eskidikçe çapları büyür ve matlaşır.⁶⁵

Kullanılan metot ve inkübasyon süresinin uzunluğuna bağlı olarak kandan izolasyon oranı % 15–70 arasında değişir. Kan kültürü *B. melitensis* için iyi bir duyarlılığa sahip iken, *B. abortus* ve *B. suis* için duyarlılığı düşüktür. *Brucella* cinsi bakteriler fakültatif intrasellüler patojen oldukları için, kemik iliği kültürleri, kan kültürüne göre daha yüksek sonuç verir.⁶³

Hastanın antibiyotik kullanıp-kullanmadığı klinik örneğin nereden alındığı üreme oranını ve üretme süresini etkilemektedir. Antibiyotik kullanmışlarda kan kültürü ile %50 olan izolasyon oranı kemik iliği kültürlerinde % 90, antibiyotik kullanmayanlarda kan kültürü ile % 75 olan izolasyon oranı kemik iliği kültürlerinde %92.5'e kadar yükselmekte, yine kemik iliği kültürlerinde 4-32 gün olan üreme zamanı, kan kültürlerinde 6-65 gün olduğu bildirilmektedir.⁷⁰

Brucella teşhisinde kemik iliği kültürü kan kültüründen daha hassas olmasına rağmen kemik iliği kültürü zahmetli ve invaziv bir işlem olması nedeniyle sonuçlar tekrarlanamaz. Ayrıca *Brucella*'nın laboratuvar içi bulaş riski nedeniyle gerek klinik örneklerle temas gerekse kültür ortamları ile uğraşta uygun koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir.⁷¹

Bactec (BD Diagnostics, Sparks, MD, USA) ve BacTAlert (bioMerieux, Durham, NC, USA) gibi otomatize kan kültürü sistemleri geleneksel kültür yöntemlerine oranla daha başarılı sonuçlar vermekte ve bakteri saptanmasını hızlandırmaktadır. Bakteri üremesi için genellikle bir haftalık süre yeterlidir. Inkübasyon süresi 10-14 günden daha fazla değildir.^{27, 67, 72}

2.9.1.2. Moleküler Yöntemler

PCR (Polymerase chain reaction); duyarlılığının yüksek olması, hızlı olması, herhangi bir vücut dokusunda uygulanabilmesi ve bulaştan 10 gün sonra bile pozitif sonuç vermesi nedeniyle brusellozun tanısında önemli bir tanı yöntemidir. Değişik

hedef genler, primer çiftleri, PCR teknikleri ve ekstraksiyon yöntemleri *Brucella* infeksiyonlarının tanısında kullanılmaktadır.^{4, 73, 74}

PCR, akut-kronik hastalarda yüksek özgüllük ve duyarlılıkta hızlı sonuç verebilir. Ana genetik hedef olarak *Brucella* BCSP-31 geni, F4/R2 geni ve 16S-23S rRNA gen bölgeleri kullanılmaktadır.^{75,76}

Hızlı ve güvenilir sonuç veren PCR yönteminin kontaminasyon riski ve pahalı olma gibi önemli dezavantajları vardır.⁷¹

2.9.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

2.9.2.1. Standart Tüp Aglütinasyon Testi

Brusellozun tanısında kullanılan standart serolojik test, Standart Tüp Aglütinasyon (STA) testidir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır.¹

Bu test; *Brucella* bakterileri hızla antijen yapılarını değiştirdikleri için standart aglütinasyon veren kökenlerin S (*B. abortus* S99 veya *B. abortus* 1119) 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.^{28 (s. 223-228), 77}

Ancak *B.canis* ile çapraz reaksiyon yoktur. *B.canis* infeksiyonlarında serolojik tanı için türe özgü antijenlerin kullanılması gereklidir.^{45, 78}

STA ile total *Brucella* antikorları (IgG, IgM ve IgA) ölçülmektedir.⁶⁷ Bu testte yalancı negatiflik sonuçları; prezon fenomeni, hastalığın erken döneminde olması ve blokan antikor varlığında gözlenebilir. Prezon'da; aglütinasyon, serumun düşük dilüsyonunda ve özellikle serumun yüksek titrede antikor içerdiği durumlarda maskelenebilir. Sıklıkla 1/20 dilüsyonda görülür; 1/80 ve üstü dilüsyonlarda nadirdir.^{4,79}

Yalancı pozitif sonuçlar ise *Francisella tularensis*, *Escherichia coli* O116 ve O157, *Salmonella urbana*, *Yersinia enterocolitica* O:9, *Vibrio cholerae*, *Xanthomonas maltophilia* ve *Afipia chevelandensis*'e karşı oluşan antikorlar ile çapraz reaksiyona bağlıdır.⁴ Yalancı pozitif ve negatif sonuçlar sulandırımının 1/320 den daha fazla yapılmasıyla önlenabilir.¹ Hastalıkta antikorlar ikinci haftadan başlayarak oluşurlar ve uzun süre kanda kalırlar.^{28 (s. 223-228)}

Brusellozda enfeksiyonun akut döneminde ilk olarak IgM antikorları birinci haftadan sonra ortaya çıkarlar, titreleri artarak 3 ayda en yüksek düzeye ulaşırlar. Sonra azalarak kaybolurlar. Ancak birçok olguda düşük düzeyde ve bazen yüksek düzeyde uzun süre kanda bulunabilirler. IgG antikorları ise hastalığın başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra belirginleşerek 6-8 haftada en yüksek düzeye çıkarlar. Kronik enfeksiyon süresince uzun süre anlamlı düzeyde kanda bulunurlar.^{28 (s. 223-228)}

Akut enfeksiyonun geçirilmiş enfeksiyonlardan ayırt edilmesi için yüksek titrelerde antikor saptanması veya antikor titresinde artış olduğunun ortaya konması gereklidir. Titrede dört kat artış olması ya da 1:160 veya daha yüksek titrede antikor pozitifliğinin saptanması serolojik tanı için yeterlidir. Endemik bölgede yaşayanlarda nüfusun % 5-10'u oranında yüksek antikor titreleri (1:160) saptanabilir. Bu nedenle sadece serolojik test sonuçları ile tanı konamaz.⁴⁵

STA'nın tanıda bazı dezavantajları vardır. Enfeksiyonun konağın immün yanıtını uyarmada başarısız olduğu hastalık alt tiplerinde özellikle lokalize hastalıkta (bağışıklık sistemi aşık baskılanmadan bile) STA sonuçları yanılgılara sebep olabilmektedir. STA'nın diğer bir dezavantajı ise titreler uzun süre yüksek kaldığından, hasta takibi için uygun değildir. Ayrıca *B.canis* enfeksiyonunun teşhisinde kullanılamamaktadır.⁷¹

2.9.2.2. 2-Mercapto ethanol ve diamino 6,9 etoxy acridin (rivanol)'lu aglütinasyon deneyleri

Bruselloz'un akut döneminde önce IgM sonra IgG antikorları oluşur. IgM antikorlarının düzeyi daha çabuk düşer ve kaybolurlar. Süregen dönemde ise IgG antikorlarının yapımı devam eder. Ancak birçok olguda IgM antikorları, düşük titrelerde ve bazen anlamlı titrelerde varlıklarını sürdürebilir. Böyle olgularda olumlu bulunan bir aglütinasyon sonucunun IgM antikorlardan mı yoksa hastalığın süregen olarak devam etmesinden mi kaynaklandığının ayırt edilmesi gerekir. Klasik STA testiyle Ig'lerin hangi sınıftan olduklarını belirlemek mümkün olmamaktadır. Önemli olan hastalığın aktif olarak sürdüğünü belirleyen IgG antikorlarının varlığını saptamak olduğundan hasta serumundaki IgM antikorlarının tahrip edilerek aglütinasyon deneylerinin yapılması yöntemleri uygulanır. Bu amaçla 2-mercaptoethanol (2-ME) ya da rivanol kullanılır. 2-ME veya rivanol eklemekle IgM sınıfı antikor moleküllerinin polipeptit zincirleri kırılarak, bu molekülleri yıkıma uğratmak mümkün olmaktadır. Bu maddelerle işlem görmüş serumlarla yapılan aglütinasyon deneylerinin yine olumlu bulunması IgG antikorlarına bağlı olup hastalığın süregenleştiği anlamı taşır. Önce olumlu iken bu işlemlerden sonra olumsuz aglütinasyon elde edilmesi ise ilk aglütinasyonun, IgM antikorlarına bağlı olduğu anlamı taşır. Bu test ile kronik ve aktif enfeksiyonun belirlenmesi, enfeksiyonun tekrarının belirlenmesini, antibiyotik tedavisinin gerekliliğinin açıklanmasında yol göstermektedir.^{26, 28 (s. 223-228),80}

2.9.2.3. Coombs Testi

Coombs testi (CT), STA'nın bir uzantısı olarak yapılan blokan ya da aglutine olamamış IgG'leri belirlemeye yarayan bir testtir.⁶⁷ Bu test, STA sonucu negatif olan şüpheli hastalarda aglutine olamamış antikorların varlığını saptamak için antihuman globülinin kullanıldığı bir yöntemdir.⁷¹ Bloke edici ya da blokan antikorlar olarak

tanımlanan bu tip immunoglobulinlerin varlığında, antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon meydana gelmemektedir. Bu antikorların varlığı Coombs serumu (antihuman globulin) kullanılmak suretiyle ortaya çıkarılır. Ortama ilave edilen coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar.^{28(475-478), 29}

Bu yöntemde, Serum dilüsyonlarını ve antijen olarak *B. abortus* ya da *B.melitensis* içeren STA tüpleri, 24 saatlik inkübasyondan sonra negatif ise, santrifüj edilerek üstte kalan kısım uzaklaştırılıp dipteki içerik fosfat tamponlu tuzlu su ile üç defa yıkanıp yeniden süspanse edilir. Her bir tüpe Standart antihuman globülin (anti-IgG) eklenir ve 24 saat 37 °C’ de inkübe edilir. İnkübasyon sonrası test tüpleri aglütinasyon yönünden tekrar değerlendirilir.⁶⁷ Bu yöntem komplike ve kronik hastaların saptanması için iyi bir yöntemdir. ELISA ile karşılaştırıldığında yaklaşık %7 oranında vakayı kaçırabilmektedir.^{67, 81}

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 miktarlarda antijen ve antikor bulunmamasına bağlı olarak da ortaya çıkabilir. Özellikle serum yüksek titrede antikor içerdiği zaman aglütinasyon düşük serum dilüsyonlarında maskelenebilir. Bu duruma “antikor fazlalığı zone” veya “prezon” adı verilir. Ancak serum örnekleri sulandırımının oldukça ileri oranlarda tutulması ile prezon olayı önlenir.^{28(s.475-478),29}

2.9.2.4. Hızlı Aglütinasyon Testleri

A. Spot Test:

Tam kan kullanılarak yapılan lam aglütinasyon deneyi özellikle kitle taramalarında kullanılan hızlı tarama testidir. Yoğun *Brucella* bakteri süspanسیونundan

hazırlanmış antijenin bir damlası üzerine, parmak ucundan alınan bir damla kan damlatılarak yapılan aglütinasyon deneyidir. Epidemiyolojik çalışmalarda tarama amacıyla kullanılabilmesine rağmen çevresel koşullardan etkilenmesi nedeniyle fazla tercih edilmez.^{28(s. 223-228), 29}

B. Rose-Bengal Testi

Diğer bir hızlı test olan Rose Bengal testi (RBT); *B.abortus* S99 suşundan hazırlanan ve özel teknikle Rose Bengal boyası ile boyanan, tamponlu tuzlu sudaki yoğun *Brucella* antijeni kullanılarak yapılan tek sulandırımli aglütinasyon temeline dayanan tarama testidir. Tamponlanmış reaktifler ile düşük pH'ta (pH:3.65) aglütinasyon temeline dayanmaktadır.^{1, 47, 65, 77}

Test hızlı (5-10 dk) ve kolay uygulanabilir. Akut brusellozlu hastaların teşhisinde oldukça iyi sonuçlar verirken kronik ve komplike vakalarda yüksek oranda yalancı negatif sonuçlar verir.⁸² *Vibrio cholerae*, *Yersinia* infeksiyonlarında, lenfoma ve tüberkülozda yalancı pozitiflik görülebilir.¹

C. Mikroaglütinasyon testi (MAT)

STA'nın V ya da U tabanlı mikropleytlerde uygulanan formudur. Daha küçük hacimlerde serum ve ayıraçlar kullanılması ve aynı örneklerle çok kez test edilebilmesi yönünden STA'dan avantajlıdır. Akut brusellozis'li hastalarda iyi sonuç verirken kronik vakalarda yüksek oranda yalancı negatif sonuçlar verir. Çapraz reaksiyonlardan dolayı yalancı pozitif sonuçlar da görülebilmektedir.⁶⁷

2.9.2.5. ELISA

Akut ve kronik bruselloz tanısında immünglobulin sınıflarının profilini veren hızlı, yüksek duyarlılıklı, özgül ve güvenilir bir yöntemdir.⁸² ELISA ile total ve spesifik immünglobulinler (IgG, IgM, IgA) hızlı bir şekilde (4-6 saat) yüksek duyarlılık ve özgüllükle saptanabilir.⁶⁷

ELISA testinin avantajları blokan antikorlardan etkilenmemesi, kantitatif olması, objektif sonuç vermesi, kolay uygulanabilmesi ve kitle taramalarına uygun olmasıdır. ELISA testi ile, bir serum örneğinde spesifik IgM saptanması her zaman akut infeksiyon lehine değerlendirilmemeli, hangi evrede olursa olsun IgG ve IgM birlikte değerlendirilmeli, tedavi gören olguların izleminde de IgM çalışılmalıdır.^{67,81}

Mesleki risk taşıyanlar ve subklinik vakaların tespitinde ELISA ile belirlenecek spesifik IgM araştırması uygun bulunmuştur.⁸²

Nörobruselloz vakalarında da BOS'da antikor aramak için ELISA testi uygun bir yöntemdir.⁶⁵ ELISA nörobrusellozlu vakalarda konvansiyonel aglütinasyon yöntemlerine oranla teşhiste önemli avantajlar sunar. Ayrıca aktif ve inaktif infeksiyon arasında ki farkı ortaya çıkarır.⁷¹ Akut bruselloz vakalarında önce IgM'lerin, sonraki dönemde IgM yanında IgG1, IgG2 ve IgG3 alt gruplarının tespiti, kronik vakalarda ise IgG4 ve IgA'ların çoğunlukta olduğu ELISA ile gösterilmiştir.^{82, 83}

ELISA testinde, *B. abortus* lipopolisakkaridi ile bovin IgM'lerinin nonspesifik bağlanması sonucu yalancı pozitif sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Yeni geliştirilen ELISA testleriyle tanıda duyarlılık ve özgüllük arttırılmaya çalışılmaktadır. Son zamanlarda geliştirilen Competitive Enzyme Immunoassay'in özgüllüğü % 96.5-100; duyarlılığı ise % 94.8-100 arasında bulunmuştur. Ayrıca, indirek ELISA testinin en duyarlı test olduğunu ancak bu testin yorumlanmasında *Y.enterocolitica* O:9 ile infekte olgularda yanlış pozitif sonuçlar olabileceğine ilişkin problemler dikkatleri çekmektedir.⁸⁴

Competitive ELISA'da infeksiyon bölgelerinden elde edilen çoklu *Brucella* türlerine karşı tek tek oluşan monoklonal antikorlar aranabilmektedir. Bu deneyde kullanılan monoklonal antikorlar bakteriye ait S-LPS için özgüldür. Competitive ELISA, S-LPS'nin O polisakkaritine karşı oluşan özgül IgM antikorlarının aranması esasına dayanan bir testtir. Bu antikorlar çapraz reaksiyon veren antikorlarla yarışır.

İnsan brucellozunun tanısında uygun bir test olduğu ve bir doğrulama testi olarak kullanılabileceği bildirilmektedir.⁸⁴

2.9.2.6. Kompleman Birleşme Testi

Kompleman Birleşme testi (KBT) en sensitif ve en spesifik konvansiyonel serolojik yöntem olması nedeniyle brucelloz tanısında doğrulama testi olarak kabul edilmektedir. STA testi sonuçlarının yetersiz kaldığı veya negatif olduğu inkübasyon dönemi, geç kronik safha veya aşılanmalarda KBT önemli bir tanı yöntemidir.¹ Fakat antikomplementer aktivitenin ortaya çıkması, kompleman gibi kararsız reaktiflerin kullanılması, hastalığın başlangıç dönemlerinde kompleman fiksasyonuna yanıtın tespit edilmesindeki yetersizlik ve teknik gereksinimler gerektirmesi gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir.⁶⁵

2.9.2.7. Brucellacapt Testi

Son yıllarda kullanıma giren Brucellacapt testi (immunocapture-agglutination test), blokan antikor varlığından etkilenmeksizin brucelloz'da oluşan total antikorları tespit edebilmektedir. Bu test immuncapture aglütinasyon tekniğine dayalı olarak çalışmaktadır. Bu yöntem ile aglütinin antikorların yanı sıra non-aglütinin IgG ve IgA antikorları da saptanır.

Çalışma için anti-insan immüoglobulinleriyle kaplanmış U şeklinde ki mikropleytler kullanılır. Çalışma çukurcuklarına sulandırım sıvısı eklenerek serum örnekleri dilue edilir. Pozitif ve negatif kontroller de kullanılarak çalışma çukurcuklarının üzerlerine boyalı formaldehit ile inaktive edilmiş *B. melitensis* antijen serumu eklenir. Işıktan uzak, nemli ortamda 37⁰C'de 24 saat inkübe edilir. Kuyucuğun tabanında yayılma varsa test pozitif, düğme şeklinde çökme varsa sonuç negatif olarak değerlendirilir.

Brucellacapt (immuncapture aglütinasyon) yöntemi, Coombs testine benzer sensitive ve spesitifiteye sahip alternatif bir yöntemdir. Özellikle kronik vakalarda Coombs yöntemine benzer etkinliğe sahiptir. En önemlisi uygulama daha hızlıdır.^{67, 85, 86}

2.9.2.8. Dipstick Test

İnsan serum örneklerinde Brucella IgM antikorlarının tespiti için basit dipstick testi geliştirilmiştir. *B. abortus*'un ısıya dirençli antijeni elde edilerek nitroselüloz banda bir çizgi olarak uygulanmıştır. İnternal kontrol için antihuman IgM antikoru ayrı bir çizgi olarak nitroselüloz banda uygulanmıştır. Pozitif reaksiyon da antijen bandı kırmızımsı bir leke gösterir. Test negatif olduğu zaman renk gözlenmez. Testin uygulanmasının kolay oluşu, özel araç ve çok fazla deneyimli personel gerektirmemesinden dolayı saha kullanımı için uygundur.⁸⁷

2.9.2.9. Floresan Polarizasyon Deneyi

Bu deneyin esası florokrom ile işaretli çözelti içindeki az miktardaki bir çözünür antijen ile antikoruyla kompleks oluşturmuş antijen molekülü arasında rotasyonel farklılıklara dayanmaktadır. Küçük molekül, hızlı şekilde rastgele döner ve ışık hızla depolarize olur. Daha büyük olan kompleks molekül ise daha yavaş döner ışığın depolarizasyonu yavaşlar. Depolarizasyondaki değişim hızı ölçülebilmektedir. Floresan depolarizasyon deneyi reaksiyona girmeyen reaktiflerin ortamdan uzaklaştırılmasını gerektirmeyen bu nedenle hızlı, taşınabilir ekipmanla yapılabilen laboratuvar ve sahada uygulanabilir olan homojen bir deneydir. Floresan depolarizasyon deneyinin sığır, domuz, koyun, keçi ve bizon gibi hayvanların brusellozunun serolojik tanısında uygun olduğu kabul edilmektedir.⁸⁸

2.9.2.10. Deri Testleri

Geç tip aşırı duyarlılık testleri de bruselloz tanısında yardımcı olmaktadır. Özellikle geviş getiren hayvanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda deri

testinde antijen olarak, öldürülmüş *Brucella* bakterileri, saflaştırılmış bakterilerin 21 günlük kültür süzüntüleri ve ticari olarak hazırlanmış saflaştırılmış rekombinant bakteri proteinleri kullanılmaktadır. Gram negatif bakteri infeksiyonlarında çapraz reaksiyonlar nedeniyle testte kullanılan antijenlerin lipopolisakkarit içermemesi gerekmektedir. Brusellin allerjik deri testleri; tarama testi veya tamamlayıcı test olarak kullanılmaktadır. Brusellozun allerjik tanısında en sık kullanılan test “Brucellergen” deri testidir. Brucellergen bir nükleoprotein kompleksi olup deri içine şırınga edildikten sonra 24 saat içinde duyarlı kişilerde injeksiyon yerinde kızarıklık, ödem ve sertlik meydana gelir.⁶⁵

Kısıtlı kullanım alanı olan deri testleri ile, geçirilmiş olgular, kronik brusellozdan ayırt edilememektedir.³³

2.10. İdentifikasyon

Tür identifikasyonu için başlıca iki ana yöntem kullanılır. Bunlar fajlarla lizis ve monometrik metodlarla izolatin 14 çeşit amino asit ve karbonhidrat substantlarının oksidasyon ile metabolize etme özelliklerinin incelenmesidir. Oksidatif metabolik testler zaman alıcı, yetişmiş elamana ihtiyaç gösteren ve pahalı testler olduğundan ancak referans laboratuvarlarında taksanomik amaçlı çalışmalarda kullanılmaktadır.⁸⁹

Tbilisi eyaletinde izole edilip Tbilisi (Tb) adı verilen faj son derece stabil olduğundan referans faj olarak tür tayininde geniş çapta kullanılmaktadır. Tb fajı rutin test dilusyonunda (RTD) yani tam bir lizisin görüldüğü minimal faj konsantrasyonunda sadece smooth *B. abortus* kültürlerini lize eder.⁸⁹

RTD×10⁴ kullanıldığında *B. suis* lizise uğrayacaktır. RTD fajın seri olarak 10 kat seri dilüsyonlarından 10Ml bilinen bir *B. abortus* kültürü üzerine damlatılarak birlikte inkübe edilir. RTD en yüksek dilüsyondaki lizistir. Test edilen organizmada benzer şekilde beraberce lak üzerine inoküle edilmelidir. Fajın 10 Ml damlası RTD ve

RTD $\times 10^4$ ile birlikte uygulanmalıdır. *B. canis* pürüzlü bir organizmadır, akriflavin solüsyonunda aglütinasyon oluşturur. *B. melitensis*, *B. suis* ve *B. abortus* tipik olarak düz türler olup aglütinasyon oluşturmazlar. Bu test için distile edilmiş su içinde 1/1.000 nötral akriflavinin temiz olarak hazırlanmış solüsyonunu bir damlası içinde üreyen organizmanın küçük miktarları süspanse edilir ve aglütinasyon araştırılır.³

Brucella türlerinin biyotip düzeyindeki identifikasyonları başlıca 4 ana test ile yapılmaktadır. Bunlar CO₂ gereksinimi, hidrojen sülfid (H₂S) üretimi, bazik fuksin ve tiyonin boyaları ile inhibisyona duyarlılık ve monospesifik A, M ve R serumları ile aglütinasyondur.⁸⁹

2.10.1. H₂S Üretimi

H₂S üretimi kalp infüzyon agara inokülasyon yapıldıktan sonra havada asılı kalacak şekilde kurşun asetat emdirilmiş stripler kullanılarak saptanabilmektedir. Altı gün süreyle stripler günlük değiştirilir veya strip kararınca kadar okumalar yapılır. Siyahlanma pozitif sonucun göstergesidir.³

B.suis 3 gün ve daha çok *B. abortus* 2 gün ve *B. melitensis* az miktarda ve 1 gün H₂S yapar.^{28(s. 475-478)}

2.10.2. Boyalarla Birlikte Üreme (Boya İnhibisyon Deneyi)

Amaç tiyonin ve fuksin gibi boyaların çeşitli konsantrasyonları içeren besiyerlerinde *Brucella* türlerinin üreyebilme özelliklerin araştırılarak tür ayrımı yapılmasıdır.^{28(s. 475-478)}

Boyaya duyarlılık incelemesinde test edilecek mikroorganizmadan hazırlanan salin süspanسیون silgeçle triptikas soy agar veya kalp infüzyon agar 20 mg/ml konsantrasyonda boya içeren besiyeri üzerine sürülerek yapılmaktadır.³

Çift ekimlerden birisi CO₂'li ortamda diğeri normal atmosferde 37 °C de inkübe edilir. 48 saat sonra üremelerin olup olmadığına bakılır.^{28(s. 475-478)} *B. melitensis*, *B.suis* ve *B. abortus* olarak bilinen kültürlerle kontrol gerekmektedir.³

2.10.3. Üreaz Deneyi

Crystensen üre agar besiyerinin yüzeyine saf kültürlerden çizgi ekimleri yapılarak araştırılır. *B. suis* 15-20 dakikada *B. abortus* 2 saattten sonra üreaz etkinliği göstererek besiyerinin rengini kızartırlar. *B. melitensis* ise saatler sonra pozitifleşir veya olumsuz sonuç verir.^{28(s. 475-478)}

2.10.4. Monospesifik Antiserumlarla Aglütinasyon

A ve M monospesifik anti-serumlar ile bir dakika içinde oluşan aglütinasyon durumuna göre okunarak değerlendirilmektedir.⁸⁹ Lam aglütinasyonları yapılarak *B. melitensis* diğer iki türden ayırt edilebilir. *B.suis*'i *B. abortus*'tan ayırmak olanaksızdır. Brucellaların sık antijen varyasyonları nedeniyle antiserumların elde edilmesi zordur. Bu konuda referans laboratuvarı, Dünya Sağlık Örgütünün (DSÖ) Kopenhag Serum Enstitüsüdür.^{28(s. 475-478)}

Aşı suşlarının saha suşlarından ayırımında çeşitli testler kullanılmaktadır. *B. abortus* S19 aşı suşu virulent saha suşundan CO₂'e bağımlı olmaması, 2 µg/ml tiyonin mavisinde ürememesi ve 5 IU penisilin/ml'de inhibe olması ile ayrılır. *B. melitensis* Rev.1 aşı suşu, saha suşundan 20 µg/ml bazik fuksin ve tiyoninde ürememesi, 2.5 µg/ml streptomisin konsantrasyonunda inhibe oluşu ile ayrılmaktadır.⁸⁹

2.11. Tedavi

Tedavi sağaltımında, hastanın istirahatinin sağlanması, ağrıların giderilmesi ve hücre içine etkili kombine antibiyotik tedavisi gereklidir.⁹⁰

Bruselloz'da tedavi süresi birçok enfeksiyondan daha uzun sürmekte ve tedaviden sonra hastalık tekrarlayabilmektedir. Hastalığın tekrar ve kronikleşme oranını azaltmak için kombine ve uzun süreli antibiyotik kullanımı tavsiye edilmektedir.¹

Brucella hücre içi bir bakteri olması nedeniyle tedavide güçlüklerle karşılaşmaktadır.⁹¹ Hücre içi çalışmalarda birçok antibiyotiğin *Brucella* suşlarına etkili olduğunun gösterilmesine karşın, bakterinin makrofaj ve retiküloendotelial sistem hücrelerine yerleşmesi nedeniyle hücre içi tedavide sorunlar yasanabilmektedir. Bu nedenle kullanılan antibiyotiğin mutlaka hücre içi ve bakterisit etkinlik gösterebilmesi gerekmektedir.⁹²

Tetrasiklinler, aminoglikozidler, rifampisin, TMP/SMZ, fluorokinolonlar, azitromisin ve diğer makrolidler *Brucella* bakterilerine karşı hücre içi etkinliği kanıtlanmış antibiyotiklerdir.⁹³ İn vitro etkili olmalarına karşılık penisilinler, kloramfenikol, eritromisin, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler tedavide etkisizdir; bu nedenle kullanılmamalıdır. İmipenem'in de etkili olduğu gösterilmiştir.⁹⁴

Brusellozda tedavi, DSÖ'nün de önerdiği ikili ve bazı durumlarda üçlü antibiyoterapi uygulaması şeklindedir. Hızlı direnç gelişimi, bakterinin intraselüler çoğalabilmesi ve relapslar görülmesi nedeniyle monoterapi önerilmemektedir.

DSÖ 1986'da altı hafta doksisisiklin (2x100 mg, oral)+rifampisin (15 mg/kg/oral) kombinasyonunu önermiştir. Bu arada streptomisin yerine alternatif aminoglikozitler aranmaya başlanmıştır.⁹⁰ Streptomisinin üç hafta kullanımı önerilmiş; ancak iki haftadan uzun kullanımın nüks oranını azaltmayıp, işitme kaybı riskini arttırdığı saptanmıştır.⁹⁰ Streptomisin 8. sinir üzerine toksik etkisi nedeniyle gentamisin ve netilmisinin kullanılması önerilmektedir.^{1, 91}

Doksisisiklin 45 gün+streptomisin 14 gün tedavisinin etkinliğiyle Doksisisiklin 45 gün+gentamisin/netilmisin yedi gün etkinliği spondilit gibi komplike olguların tedavisi

hariç klasik bruselloz olgularının tedavisinde eş değeri bulunmuş olup, böylece hastalarda aminoglikozit kullanım süresi kısaltılarak, fiyat ve yan etkileri azaltılabilmektedir.⁹⁰

2.12. Korunma ve Kontrol

İnsanlarda bruselloz, evcil hayvanlarda brusellozun kontrol edilmesi ve eradikasyonu ile önenebilir. Bu nedenle veteriner hekimlerin doktorlarla işbirliği içerisinde çalışması önem taşır. *Brucella* bakterisi ile enfekte olmamış süt danaları *B.abortus* 19 suşu, süt kuzuları ise *B. melitensis* Rev 1 suşu aşısı ile aşılanır. Özellikle kırsal kesimde yaşayan toplum bilinçlendirilmeli, çiğ süttten peynir ve yağ yapımının önlenmesi gerekmektedir. Sütün pastörize edilerek tüketilmesi, enfeksiyonun epidemik olduğu yörelerde kaşar ve tulum peynirinin tüketilmesi önerilmektedir.

Etkenin temas yoluyla bulaşını önlemek için risk grupları olan mezbaha işçileri, veterinerler, hayvan sağlık memurları, hayvan bakıcıları, et paketleyicilerinin, hayvanların atıkları ile temas etmemeleri ve eldiven giymeleri önerilmektedir.²

Laboratuvar kaynaklı brusellozdan korunmak için *Brucella* ile ilgili işlemler Biyogüvenlik düzey 3 önlemlerle yapılmalıdır.³¹

3. MATERYAL VE METOT

Atatürk Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvurup klinisyen tarafından bruselloz ön tanısı alan hastalar çalışma kapsamına alındı ve gönüllü hastalara anket formu uygulanarak hastalara ait yaş, cinsiyet, meslek grupları, süt ürünlerini tüketme alışkanlıkları, hayvan teması gibi bilgiler elde edildi. Bruselloz'la ilgili soruların gönüllü hastalar tarafından cevaplandırılması amacıyla uygulanan hasta bilgi formu ek-3'de verilmiştir.

Hastalara bruselloz tanısı konulması amacıyla serolojik testlerde kullanılmak üzere kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüje edilerek serumları ayrıldı. Elde edilen serum örneklerinden brusellozun serolojik tanısında kullanılan RBT, STA, CT testleri bekletilmeden çalışılırken, ELISA IgG ve IgM çalışılması için serum örnekleri -20°C'de ELISA çalışılincaya kadar saklandı.

3.1. Rose Bengal Testi (RBT)

Rose Bengal Lam Testi Antijeni, *B.abortus* S99 suşundan hazırlanmış, standart Brucella antiserumu ile standardize edilmiş ve Rose-Bengal ile boyanmış olan antijen; Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden (*BRUCELLA* Rose Bengal Pleyt (RBT) Antijeni (İstanbul)) temin edildi.

Ön hazırlık;

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

2. Çok temiz ve üzerinde yaklaşık 1.5 cm çapında daireler bulunan plastik plaklar ve karıştırmak için kürdanlar temin edildi.

3. Hasta serumu

4. Rotatör

Testin uygulanışı;

1. Temiz plak üzerine 0.03 ml hasta serumu damlatıldı.
2. Bunun üzerine 0.03 ml Rose Bengal Lam Testi Antijeni eklendi.
3. Antijen ve serum kürdan ile karıştırılarak 1.5 cm çaplı alana yayıldı.
4. Plak; rotatörde 4 dakika boyunca çevrildi.
5. Sonuçta iri tanecikli kümeleşme oluşumu pozitif, homojen görünüm ise negatif aglütinasyon olarak değerlendirildi.

3.2. Standart Tüp Aglütinasyon Testi (STA)

Brucella Tüp aglütinasyon test (tat) antijeni: *B.abortus* S99 suşu ile hazırlanmış; standart Brucella antiserumu ile standardize edilmiş; *B.abortus*, *B.melitensis* ve *B.suis* teşhisinde kullanılan antijen; Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden (İstanbul) temin edildi.

Ön hazırlık;

1. Standart *Brucella* Antijeni kullanılmaya başlamadan 15 dakika önce oda ısısına getirildi ve iyice çalkalandı.
2. Serum sulandırımı için 9 adet temiz tüp ve 1 adet kontrol tüpü (10X100ml) hazırlandı.
3. Ucuna kadar bölüntülü 1 ml ve 5 ml'lik steril pipetler hazırlandı.
4. Fizyolojik tuzlu su (% 0.9).

Testin uygulanışı;

1. Her serum için 9 adet serolojik tüp ve 1 adet kontrol tüpü ile çalışıldı.
2. İlk tüpe 0.9 ml, diğerlerine 0.5 ml fizyolojik tuzlu su konuldu.
3. İlk tüpe 0.1 ml hasta serumu eklendi ve karıştırıldı. Birinci tüpten 0.5ml ikinci tüpe ve 2. tüpten 0.5 ml 3. tüpe aktarıldı. 9. tüpe kadar işleme devam edildi ve 9.tüpten 0.5 ml dışarı atıldı. Kontrol tüpüne serum bırakılmadı.

4. Tüplerde serum dilusyonları 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280, 1/2560, oldu.

5. Tüm tüplere 10. kontrol tüpü de dahil olmak üzere 0.5 ml Standart Brucella Tüp Aglütinasyon Antijeni eklendi. Böylece son serum sulandırımıları 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280, 1/2560, 1/5120 oldu.

6. Tüpler karıştırıldı ve 37⁰C’de 24 saat inkübe edildi.

7. İnkübasyonu takiben aglütinasyonun derecesi sıvının berraklığına göre +4 (% 100 berrak),+3 (% 75 berrak),+2 (% 50 berrak),+1 (% 25 berrak) ve negatif olarak değerlendirildi.

8. Aglütinasyon derecesi +2 ve daha yüksek titrelerde pozitiflik görülen tüplerden en son tüpün titresi pozitif değer olarak kabul edildi.

Bu testin değerlendirilmesinde 1/40 ve üzeri titreler pozitif olarak kabul edildi.

3.3. Coombs Testi (CT)

Coombs (anti-human globulin) Serumunu olarak Lorne Labs. (UK) kullanıldı.

Ön hazırlık;

1. STA testi sonucunda CT uygulanacak tüpler ayrıldı.
2. Coombs serumu kullanımdan 15 dakika önce oda ısısına alındı.
3. Coombs serumu 1/10 oranında sulandırıldı.

Testin uygulanışı;

1. Ayrılan tüp dizisinde aglütinasyon pozitif görülen tüpler not edilerek işlem den çıkarıldı.

2. Diğer tüpler 2000 rpm’de 20 dk santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım atılarak yeniden fizyolojik tuzlu su eklenip santrifüj edilip üst kısımdaki sıvı atıldı. Bu işlem 3 kez tekrar edildi.

3. Her tüpe 0.45 ml fizyolojik tuzlu su eklenerek süspanse edildi.

4. Her tüpe 0.05 ml, 1/10 oranında sulandırılmış Coombs serumu eklendi.

5. Tüpler karıştırıldı ve 37 °C’de 24 saat inkübe edildi.

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

Bu testin değerlendirilmesinde 1/160 ve üzeri titreler pozitif olarak kabul edildi.

3.4. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Ticari kit (NovaLisa Brucella IgM (Brucella IgM, NOVATEC, Germany)) ve (NovaLisa Brucella IgG (Brucella IgG, NOVATEC, Germany))kullanıldı.

ELISA’da serum ve konjugat sulandırılmaları ile yıkama işlemlerinde Tamponlu Yıkama Solüsyonu (PBS+Tween 20) kullanıldı. Yıkama solüsyonu 1/20 oranında (950 ml distile su+50 ml yıkama solüsyunu konsantresi) hazırlanarak kullanıma hazır hale getirildi.

Test, ticari firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı. Kısaca, 96 kuyucuklu pleytin ilk beş kuyucuğundan birinci çukur blank olmak üzere, biri pozitif kontrol, biri negatif kontrol diğer ikisi ise cut-off serumlar için kullanıldı. Blank olarak kullanılan kuyucuğa bu aşamada herhangi bir sıvı ilave edilmeden boş bırakıldı. Kontroller (negatif, cut-off ve pozitif) kullanıma hazır halde olduklarından serum dilüent ile dilüe etmeden direk olarak ilgili kuyucuklara 100 µl olarak ilave edildi. Kuyucuklardan birine negatif serum, bir diğerine pozitif serum, iki tanesine ise cutoff serumlarından 100’er µl eklendi. Kalan diğer kuyucuklara ise 1/100 oranında dilüe edilerek 100’er µl çalışılacak serumlar eklendi. 60 dakika 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra 100 µl konjugat eklenerek 30 dakika 25 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon işleminin sonunda 5 kez yıkama solüsyonu ile kuyucuklar yıkandı. Her bir kuyucuğa (blank dahil) 100’er µl substrat eklenip 15 dakika oda ısısında, direk gün ışığı almayan bir ortamda bekletildi. Hemen sonra 50 µl stop solüsyonu (blank dahil) eklendi. 450/620 nanometre dalga

boyunda okutuldu. Antikor indeksi üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. Serum örneğinin optik dansitesinin, cut-off serum ortalamasına bölünmesi ile sonuçlar hesaplandı. Çıkan sonuç 0-9 arası negatif, 9-11 arası gri zone, 11’den büyük sonuçlar ise pozitif olarak kabul edildi.

Şüpheli sonuç (gri zone) durumunda örnek tekrar çalışılarak elde edilen sonuçlara göre pozitif veya negatif ELISA gruplarına dahil edildi.

3.5. İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler SPSS version 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences) adlı bilgisayar programında yapıldı, testte elde edilen $p < 0.05$ değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi. RBT, STA, Coombs, ELISA IgG ve ELISA IgM yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüklerinin hesaplanmasında ise (ELISA IgG ve/veya IgM pozitifliği geçerli kabul edilerek) metodolojik araştırma yöntemlerinden “Receiver Operating Characteristic (ROC)” eğrisi kullanıldı.

Bruselloz ön tanılı kişilere ait yaş, cinsiyet, meslek grupları, süt ürünlerini tüketme alışkanlıkları gibi bilgiler hastaların doldurmuş olduğu hasta anket formundan faydalanılarak yorumlandı.

4. BULGULAR

İntaniye kliniğine başvuran ve bruselloz klinik ön tanısı konulan 117 hasta çalışma kapsamına alındı. Hasta serumlarının serolojik incelemesi sonucu 32 hastada (% 27.4) bruselloz serolojisine ait hiçbir pozitif gösterge saptanmadığından bu kişiler çalışma kapsamı dışında tutuldu.

Serolojik testlerden en az birisinin pozitif olduğu 85 hastanın 57'si (% 67.1) erkek ve 28'i (%32.9) kadındı. Yaş ortalaması 34.0 (yaş aralığı ise 5-75) idi. Olguların 29'u (% 34.1) kentsel alanda, 56'sı (% 65.9) ise kırsal kesimde yaşamaktaydı.

Olguların yaş grupları, eğitim durumları ve mesleklerine göre dağılımları sırasıyla tablo 4.1. , 4.2. ve 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Olguların Yaş Gruplarına Göre Dağılımları

Yaş Grubu	Sayı (n)	%
10≤	6	7.1
10-19	16	18.8
20-29	18	21.2
30-39	13	15.3
40-49	16	18.8
50-59	8	9.4
60≥	8	9.4

Tablo 4.2. Olguların Eğitim Durumlarına Göre Dağılımları

Eğitim Durumları	Sayı (n)	%
Okur-yazar değil	25	29.4
İlkokul	37	43.5
Ortaokul	11	13
Lise	7	8.2
Üniversite	5	5.9

Tablo 4.3. Olguların Meslek Gruplarına Göre Dağılımları

Meslek Grupları	Sayı (n)	%
Günlük işçi	1	1.2
Çiftçi	49	57.6
Serbest meslek	2	2.4
Sigortalı işçi	3	3.5
Kamu çalışanı	1	1.2
Ev hanımı	17	20.0
Öğrenci	12	14.1

Olguların 17'si (% 20) ailesinde daha önceden bruselloz geçirme öyküsü olduğunu belirtti. Bruselloz açısından risk faktörleri değerlendirildiğinde, olguların 48'inde (% 56.5) çiğ süt ve 56'sında (% 65.9) taze peynir tüketimi, 70'inde (% 82.4) hayvan teması olduğu belirlendi. Hayvan teması olan 69 kişi (% 98.6) hayvanlarının veteriner tarafından kontrol edildiğini ve aşılandığını belirtti. Hayvan uğraşısı olanların 46'sı (% 65.7) hayvanlarında daha önce spontan düşük olduğunu belirtti.

Serolojik testlerden en az biri ile pozitif sonuç veren 85 hasta serum örneğinden RBT ile 81'i (% 95.3), STA ile 73'ü (% 85.9), CT ile 64'ü (%75.3), ELISA ile 67'si (%78.8) pozitif bulundu. RBT negatif olan 4 (% 4.7) hastanın 3'ünün ELISA, 1'inin ise CT ve ELISA ile pozitif olduğu tesbit edildi.

Tüm hasta serumlarına (RBT negatif çıksa bile) STA ile yüksek dilüsyonlar çalışılarak prezon olayına bağlı görülebilecek yalancı negatif sonuçların önüne geçildi.

STA ile 1/80 ve altındaki titrelerde pozitiflik veren örneklerle CT yöntemi uygulanarak 11 (% 12.9) örnekte blokan antikor varlığı tespit edildi.

STA ile 1/40 titrede aglütinasyon oluşturan 8 serum örneği CT ile değerlendirildiğinde; 2 örnekte titre artışı görülmezken, 5 örnekte bir kat, 1 örnekte ise iki kat titre artışı saptandı. STA ile 1/80 titrede aglütinasyon veren 12 serum örneği CT ile değerlendirildiğinde; 3 örnekte titre artışı saptanmazken, 8 örnekte bir kat, 1 örnekte

iki kat titre artışı görüldü. Ayrıca STA ile negatif bulunan 5 serum örneğinden birinde 1/20, ikisinde 1/40, birinde 1/80, birinde ise 1/160 oranında pozitiflik saptandı.

ELISA sonuçları değerlendirildiğinde 9 (% 10.6) hastada yalnız IgM, 20 (%23.5) hastada yalnız IgG, 38 (% 44.7) hastada ise hem IgM hem de IgG birlikte pozitif olarak belirlendi.

ELISA IgG ve/veya IgM pozitifliği referans kabul edilerek RBT, STA, CT, ELISA IgG ve ELISA IgM'nin duyarlılık ve özgüllükleri tablo 4.4.' de belirtildiği gibi bulunmuştur.

Tablo 4.4.Serolojik Test Sonuçlarının Duyarlılık ve Özgüllükleri

Serolojik Testler	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
RBT	94.0	64.0
STA	94.0	80.0
CT	91.0	94.0
ELISA IgG	86.6	100.0
ELISA IgM	70.1	100.0

5. TARTIŞMA

Bruselloz ülkemizin de içinde yer aldığı endemik bölgelerde her yaşta görülebilen fakat özellikle üretken yaş grubunu etkileyen bir zoonozdur.^{1,95}

Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda brusellozlu olguların yaş ortalamasının 30 ile 44.2 arasında olduğu görülmektedir.^{66, 96-100} Bizim çalışmamızda da olguların yaş ortalaması 34.0 ve 47'sinin (% 55.3) üretken yaş grubu olan 20-49 yaş grubunda yer aldığı görüldü.

Brusellozun düşük insidanslı olduğu ülkelerde mesleksen risk nedeniyle erkeklerde daha yaygın olmasına karşın endemik olduğu bölgelerde cinsiyet farkı olmadığı bildirilmektedir.¹ Ülkemizde yapılan çalışmalarda cinsiyetler arasında fark olmadığı belirtilmiştir.^{96,101-103}

Yapılan bir çalışmada kırsal kesimlerde hayvanlarla daha çok kadınların ilgilenmesine bağlı olarak enfeksiyonun kadınlar arasında daha yaygın görüldüğü bildirilmiştir.¹⁰⁴ Yaptığımız çalışmada olguların 28'ini (% 32.9) kadınlar, 57'sini (%67.1) ise erkekler oluştuyordu. Bölgemizde hayvanlarla daha çok erkek nüfusun ilgilenmesinin sonucu olarak çalışmamızda enfeksiyon oranı erkeklerde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Büke ve ark.'nın¹⁰⁵ yapmış olduğu çalışmada olgular eğitim düzeylerine göre, okur-yazar olmayanlar % 26.1, ilkokul mezunu % 58.8, ortaokul-lise mezunlarının ise % 15.2 oranında olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da olguların % 29.4'ünü okur-yazar olmayanlar, % 43.5'ini ilkokul, % 13'ünü ortaokul, % 8.2'sini lise, %5.9'unu ise üniversite okuyanlar ve/veya mezunları oluştuyordu.

Bruselloz hayvanlardan insanlara bulaşan bir hastalık olması nedeniyle enfeksiyon özellikle hayvancılığın yoğun olduğu kırsal bölgelerde daha sık görülmektedir.^{35, 96} Ataman ve ark.'nın¹⁰⁶ yaptıkları çalışmada olguların % 76 sını

kırsal kesimde yaşayanlar oluştıruyordu. Gürsoy ve ark.'nın⁹⁶ yaptığı çalışmada ise olguların % 53'ünü kırsal, % 47'sini ise kentsel bölgelerde yaşayanlar oluştıruyordu. Bizim çalışmamızda ise olguların 56'sı (% 65.9) kırsal alanda yaşarken, 29'u (% 34.1) kentsel bölgelerde yaşıyordu.

Bruselloz yalnız çiğ süt ve süt ürünleriyle indirekt yolla değil aynı zamanda hayvanlarla direkt temas sonucu da bulaşabilir. Bu nedenle hayvan yetiştiricileri, veterinerler, kasaplar, deri ile ilgili işlerde çalışanlar ve laboratuvar çalışanları da *Brucella* bakterilerinin neden olabileceği enfeksiyon açısından risk altındadır.⁹⁸

Ataman ve ark.¹⁰⁶ yaptıkları çalışmada olguların % 52'sini bruselloz açısından riskli işlerde (% 40.1'ini çiftçiler, % 10.4'ünü hayvan yetiştiricileri, % 1.5'ini veteriner hekimler) çalışanlar olduğunu, ev kadınlarının ise (% 31.2) ikinci sıklıkta saptanan meslek grubu olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise olguların % 58.8'ini (49 çiftçi ve bir laboratuvar teknikeri) mesleki açıdan risk taşıyanlar oluştıruyordu. Çalışmamızda da ev kadınları (% 20) ikinci sıklıkta saptanan meslek grubu idi.

Bruselloz genellikle enfekte hayvanların süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ve enfekte hayvanın gebelik materyali, idrar gibi vücut sıvıları ile temas sonrası insanlara bulaşabilmektedir. Ülkemizde en çok bulaşma çiğ süttten yapılan peynir, krema ve yağdan kaynaklanmaktadır.²

Taşova ve ark.'ları¹⁰¹ yaptıkları çalışmada, olguların % 63'ünde kaynağın taze peynir, % 37'sinde ise direkt hayvan ve hayvanlardan elde edilen ürünler ile temas sonucu bulaşın olduğunu bildirmişlerdir. Özer ve ark.'nın⁹⁹ yaptıkları çalışmada olguların % 58'inde çiğ süt ve taze peynir tüketme öyküsünün bulunduğunu, hayvancılık öyküsüne ise sadece bir olguda rastlandığını bildirmişlerdir. Kaya⁹⁷ ise 44 bruselloz olgusunu değerlendirdiği çalışmasında bulaş yolu olarak 35 (% 79.5) olguda çiğ süt veya çiğ süttten yapılmış peynirle beslenme ve 5 (% 11) olguda hastalıklı

hayvanla temas öyküsü bulunduğunu, dört (% 9) olguda ise herhangi bir bulaş yolunun saptanamadığını bildirmiştir. Çalışmamızda 85 olgunun 48'inde (% 56.5) çiğ süt tüketimi ve 56'sında (% 65.9) taze peynir tüketimi, 70'inde (% 82.4) ise hayvan teması olduğu belirlendi.

Ataman ve ark.¹⁰⁶ yaptıkları çalışmada hayvancılıkla uğraşan olguların sadece % 4.2'sinin hayvanlarının aşılı olduğunu ve düzenli olarak veteriner kontrolü yaptırdıklarını, geriye kalan olguların hayvanlarının ise aşılı olup olmadığının bilinmediğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise hayvan uğraşısı olan olguların % 98.6'sı hayvanlarına veteriner kontrolü yaptırdıklarını ve hayvanlarının aşılı olduğunu belirtmişlerdir.

Duyarlı hayvanların dokularında bulunan eritritol maddesi *Brucella* cinsi bakterilerin genital bölgeye yerleşmesinde önemli role sahip olup, hayvanlarda temel olarak spontan düşüğe neden olmaktadır.¹ Bizim çalışmamızda hayvan uğraşısı olan olguların % 65.7'sinin hayvanlarında spontan düşük hikayesinin olduğu saptanmıştır.

Hastalığın endemik olduğu bölgelerde aile bireylerinin etkilendiği bruselloz olguları bildirilmiştir.³⁵ Aile içi bireylerde bruselloz görülmesinde birincil neden olarak ortak beslenme alışkanlığı (taze peynir tüketimi), diğer neden olarak da hayvanlarla uğraş düşünülmektedir.⁹⁶ Ataman ve ark.'nın¹⁰⁶ yaptığı çalışmada olguların 70'i (% 37.4) kendi ailesinde, 92'si (% 45.5) ise yaşadığı çevrede bruselloz olgularının bulunduğunu bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada ise olguların % 20'sinin aile bireylerinde de geçirilmiş bruselloz hikayesi varlığı tespit edilmiştir.

Bruselloz, birçok hastalıkla kolaylıkla karışabilir. Hastalık spesifik olmayan çok değişik semptom ve klinik bulgular ile ortaya çıkabilmektedir.^{1,107} Bruselloz'un tanısı, hastanın öyküsü, klinik semptom ve bulguları, bakteriyolojik ve serolojik testlerin birlikte değerlendirilmesiyle konulmaktadır. Hastalarda her zaman karakteristik

semptom ve bulguların olmaması; klinik olarak akut, subakut, kronik ve lokalize formlarının olması nedeniyle, tanı konulmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır.¹

Brusellozda kesin tanı mikrobiyolojik yöntemlerle konulmaktadır. Kültürde etkenin izolasyonu; hastalığın süresine, etken olan *Brucella* türüne, dolaşımdaki bakteri miktarına, kullanılan yöntem, inkübasyon süresinin uzunluğuna ve hastanın daha önce antibiyotik tedavisi alıp almamasına göre % 15-70 oranları arasında değişkenlik gösterir. Brusellozda bakteriyi üretmek için uzun süre beklenmesi, üretme oranlarının değişkenliği, kültür ile yapılan çalışmaların bulaş açısından risk taşıması, her türlü sağlık kurumunda kan kültürü yapılamaması nedeniyle serolojik tanı ön plana çıkmaktadır. Sensitivite ve spesifiteleri yüksek, kısa sürede sonuca götüren, kolay ve ucuz olan birçok serolojik yöntem brusellozis tanısında kullanılabilmesine rağmen, tüm dünyada en yaygın olarak RBT ve STA yöntemleri tercih edilmektedir.^{1, 3, 4}

Ancak RBT çapraz reaksiyonlardan dolayı yalancı pozitifliklere, STA testi ise çoğunlukla blokan antikorlar (incomplete, non-aglütinan) olarak tanımlanan ve özellikle kronik olgularda rastlanan IgG ve IgA tipindeki antikorları tespit edemediğinden yalancı negatifliklere neden olabilmektedir.¹⁰⁸

RBT duyarlılığının yüksek olması, uygulama kolaylığı ve kısa sürede sonuç alınabilmesinden dolayı tarama testi olarak kullanılmaktadır. RBT testinde kullanılan antijenin kaynağına göre lam aglütinasyon testinde değişken sonuçlar alınabilmektedir.⁶⁷

Güzelant ve ark.'nın¹⁰⁹ yaptığı çalışmada Rose Bengal testinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla % 94, % 97, bir başka çalışmada ise % 94.44 ile % 67.65 olarak bulunmuştur.¹¹⁰ Çalışmamızda ELISA referans olarak alındığında RBT'nin duyarlılığı % 94.0, özgüllüğü ise % 64.0 bulunmuştur.

RBT ile özellikle akut brusellozlu hastaların tanısında oldukça iyi sonuçlar alınırken, kronik ve komplike vakalarda yüksek oranda yalancı negatif sonuçlar görülmektedir.⁸² Çalışmamızda ELISA sonuçları pozitif olan 4 (% 4.7) hastada RBT negatif olarak bulundu. RBT ile negatif sonuç alınan vakalarda Bruselloz klinik formunun kronik ve/veya komplike olmasından kaynaklanıyor olabileceğini düşünmekteyiz.

Lenfoma ve tüberküloz, *Vibrio cholerae*, *Yersinia* infeksiyonlarında, *E.coli* O157, *Salmonella* gibi bakterilerle oluşan infeksiyonlarda yalancı pozitiflikler veya ülkemiz gibi hastalığın endemik olduğu yerlerde yaşayan ve hayvancılıkla uğraşan, kasap, veterinerlik gibi iş kollarında çalışanlarda düşük titrede pozitiflik görülebilmektedir.^{1,111} RBT pozitif olan fakat ELISA sonuçları negatif çıkan 18 (%21.2) örnekte STA ile düşük titrede pozitiflikler elde edilmiştir. Düşük titrelerde bulduğumuz pozitifliklerin yukarıda bahsedilen yalancı pozitiflik nedenlerine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. RBT sonuçlarının doğrulanması için diğer spesifik testlerin varlığına ihtiyaç duyulmaktadır.^{3, 26}

RBT, tek başına değerlendirildiğinde hastalığın klinik formu (akut, subakut, kronik, tekrarlayan ve lokal enfeksiyon) ayırt edilememekte, ayrıca tedavi sonrası uzun süre pozitif kalması nedeniyle tedavinin değerlendirilmesinde yetersiz kalabilmektedir.¹

STA, brusellozun doğrulanmasında en sık kullanılan serolojik yöntemdir. Klinik bulgular varlığında serokonversiyonun ya da $\geq 1/160$ titrelerin saptanması hastalığın tanısında yol göstericidir.^{1,3} STA'nın tek ölçümüne bağlı düşük titrelerdeki pozitiflik her zaman çapraz reaksiyon veya endemik bölgedeki yaşama bağlanmamalıdır. Nitekim çalışmamızda da Bruselloz kliniği gösteren hastalardan 11'inde (% 12.9) STA 1/40 veya 1/80 titreler vermesine rağmen ELISA ile pozitiflik elde edilmiştir. Bu durumda

özellikle klinik bulguları olan kişilerde serokonversiyon takibi veya ELISA ile düşük titredeki pozitifliklerin ne anlama geldiği aydınlatılmalıdır.

STA testinde hastalığın erken ve geç dönemlerinde yüksek antikor titrelili serumlarda daha sık olmak üzere prezon olayı ve blokan antikor varlığına bağlı yalancı negatif sonuçlar gözlenebilir.

Prezon fenomeni olarak da adlandırılan durumda aglütinasyon, yüksek titrede antikor içeren durumda özellikle serumun düşük dilüsyonlarında maskelenebilir. Sıklıkla 1/20 dilüsyonda görülmekle beraber 1/80 ve üstü dilüsyonlarda nadirdir.^{4,79} Çalışmamıza dahil edilen tüm hasta serumlarına (tarama testi olarak kullanılan RBT negatif çıksa bile) yüksek dilüsyonlar çalışılarak prezon olayından kaynaklanabilecek yalancı negatif sonuçların önüne geçildi.

STA testi aglutine olamamış antikorların saptanmasında yetersiz kalmaktadır. Coombs testi STA'nın devamında yapılan incomplete, blokan ya da aglutine olamayan IgG'leri belirlemeye yarayan bir testtir. Ortama ilave edilen antihuman globulin, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar.^{29,30}

Aydın¹¹⁰ yaptığı çalışmada STA'nin duyarlılığını % 88.89, özgüllüğünü ise %76.47 bulmuştur. Yapılan bir başka çalışmada ise STA'nin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla% 94 ile % 96 olarak bildirilmiştir.¹⁰⁹ Çalışmamızda ise STA duyarlılığı % 94.0 ve özgüllüğü % 80.0 bulunmuştur.

Zahmetli ve zaman alıcı bir test olan Coombs yöntemi, komplike ve kronik hastaların saptanması için iyi bir yöntemdir. ELISA ile karşılaştırıldığında yaklaşık %7 oranında olguyu kaçırabilmektedir.⁶⁷ Çalışmamızda da 3 (% 3.5) hastada Coombs yöntemi ile antikor varlığı saptanmamışken, ELISA ile IgG varlığı gösterilmiştir.

Brucella serolojisinde STA ile yalancı negatif sonuçlara yol açan blokan antikorların sıklığı ihmal edilemeyecek kadar yüksek orandadır. Bu nedenle STA

sonuçlarının Coombs veya ELISA gibi diğer serolojik yöntemlerle doğrulanması önerilmektedir.^{4, 108, 112}

Alışkan ve ark.'nın¹⁰⁸ yaptıkları çalışmada STA ile pozitif saptanan hasta sayısı, Coombs testi kullanılarak 10'dan (% 40) 23'e (% 92) yükselmiştir. Çalışmamızda ise STA ile 1/80 ve altında ki titrelerin tespit edildiği 11 (% 12.9) hastada, Coombs yöntemiyle 1/160 ve üzerindeki dilüsyonlarda pozitiflik elde edilerek blokan antikor varlığı saptanmıştır.

Orduna ve ark.⁸⁵ eşik titresi 1/160 olarak alındığında Coombs testinin duyarlılığını % 91.4, özgüllüğünü ise % 96.2 olarak bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise Coombs testinin duyarlılığı % 91.0 özgüllüğü ise % 94.0 olarak bulunmuştur.

ELISA akut ve kronik bruselloz tanısında immünglobulin sınıflarının profilini veren hızlı, yüksek duyarlılıklı, özgül ve güvenilir bir yöntemdir. ELISA ile total ve spesifik immünglobulinler (IgG, IgM, IgA) hızlı bir şekilde (4-6 saat) yüksek duyarlılık ve özgüllükle saptanabilir. ELISA testinin avantajları blokan antikorlardan etkilenmemesi, kantitatif olması, objektif sonuç vermesi, kolay uygulanabilmesi ve kitle taramalarına uygun olmasıdır.^{67, 82}

Ayrıca ELISA, *Brucella*' ya özgül IgG, IgM ve IgA antikorlarının düzeyini belirleyen, klinik yorumu daha kolay olan ve STA testinde yalancı negatiflik/pozitifliklere neden olan faktörleri ortadan kaldıran bir yöntemdir.¹¹³ Buna rağmen yapılan bazı araştırmalarda *Brucella*'ya özgül IgM'nin aranmasında kullanılan ELISA ticari ürünlerinde duyarlılığın düşük olduğu bildirilmiştir.^{11, 54, 114}

Güzelant ve ark.'nın¹⁰⁹ yaptığı çalışmada ELISA *Brucella* IgM ve IgG için duyarlılık ve özgüllükler % 95'in üzerinde bulunmuştur. Çalışmamızda ise ELISA IgG ve IgM'nin duyarlılıkları sırasıyla % 86.6 ve % 70.1 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda

ELISA sonuçlarına göre 9 (% 10.6) hastada yalnız IgM, 20 (% 23.5) hastada yalnız IgG, 38 (% 44.7) hastada ise hem IgM hem de IgG pozitif olarak belirlendi.

Hastalığın seyri sırasında spesifik immünglobulinlerin oluşumları farklı dönemlerde olabileceğinden ELISA ile yalnız IgG veya IgM türündeki antikorların araştırılması yanlış negatifliklere sebep olabilmektedir.^{1,115}

Çalışmamızda da ELISA sonuçları ile hastaların % 10.6' sında yalnız IgM, %23.5'inde ise yalnız IgG pozitifliği saptanmış, bu durum yalnız IgG'nin ve yalnız IgM'nin pozitif olduğu hasta sayısının göz ardı edilemeyecek kadar önemli oranda olduğunu göstermiştir. Bu nedenle ELISA yöntemiyle spesifik immünglobülinlerden bir kaçının birlikte çalışılması uygun bir yaklaşım olacaktır.

Bruselloz'un tanısında çeşitli serolojik yöntemler kullanılmakta, kullanılan bu yöntemlerin karşılaştırıldığı çalışmalarda farklı duyarlılık ve özgüllük oranları bildirilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları ve önerilerimizi şu şekilde özetleyebiliriz:

Bruselloz şüpheli kişilerde RBT, duyarlı bir yöntem olması, uygulama kolaylığı, kısa sürede sonuç alınabilmesi ve ekonomik olması nedeniyle uygun bir tarama yöntemidir.

Brusellozun serolojik tanısında sıklıkla tercih edilen bir yöntem olan STA, blokan antikor varlığını tespit edemediğinden yalancı negatif sonuçların raporlanmasına yol açabilmektedir. Blokan antikorların saptanması için zaman alıcı ve zahmetli olmasına rağmen değerli bir test olan CT ya da ELISA testi gibi yöntemler özellikle endemik bölgelerdeki laboratuvarlarda rutin olarak uygulanmalıdır.

STA ile 1/40 ve 1/80 titreleri yorumlamakta güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu değerdeki titreleri yorumlarken ELISA yöntemi gibi daha duyarlı yöntemlerden elde edilen sonuçlar da göz önünde bulundurulmalıdır.

ELISA yöntemi ile sadece IgG veya IgM türündeki antikorların belirlenmesi bazı olguların saptanamamasına neden olmaktadır. Bu nedenle tanıda ELISA kullanılacaksa spesifik immunglobulinlerin birlikte araştırılması daha uygun bir yaklaşım olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1.Young EJ. *Brucella species*, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. New York Churchill Livingstone,2000,vol 2: 2386-2392
- 2.Sözen TH: Bruselloz. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, Cilt 1, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 636-642.
3. Çetinkaya Z. *Francisella ve Brucella*. İçinde: Klinik Mikrobiyoloji, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). *Manual of Clinical Microbiology*, Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML, Jorgensen JH. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009: 815-834.
4. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *The New England Journal of Medicine*,2005, 352: 2325-2336.
- 5.Wright AE, Smith F. On the application of the serum test to the differential diagnosis of typhoid fever and Malta fever. *Lancet*, 1897, 1: 656-659.
- 6.Vassallo DJ. The corps disease: brucellosis and its historical association with the Royal Army Medical Corps. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 1992, 138: 140-150.
7. Banai M and Corbel M. Taxonomy of *Brucella* *The Open Veterinary Science Journal*, 2010, 4: 85-101.
8. Buddle MB. Studies on *Brucella ovis* (n.sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. *The Journal of Hygiene (London)*, 1956, 54: 351-364.
9. Stoenner HG and Lackman DB. A new species of *Brucella* isolated from the desert wood rat, *neotomaelepida* Thomas. *American Journal of Veterinary Research*, 1957, 18: 947-951.

10. Carmichael LE, Bruner DW. Characteristics of a newly recognized species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions. *Cornell Veterinarian*, 1968, 58: 579-592.
11. Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckaert A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57: 2688-2693.
12. Scholz HC, Hubalek Z, Sedlacek I, Vergnaud G, Tomaso H, Dahouk S, Melzer F, Kampf P, Neubauer H, Cloeckaert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore A.M, Falsen E, Bahn P, Göllner C, Pfeffer M, Huber B, Busse H.J. and Nöckler K: *Brucella microti* sp. nov. isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58: 375-382.
13. Mamıkoğlu L. Bruselloz, Önemli ve sorunlu gram-negatif bakteri infeksiyonları. Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D. (editörler). Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005: 327-342.
14. De Lay J, Mannheim W, Segers P, Lievens A, Denijin M, Vanhoucke M, Gillis M. Ribosomal ribonucleic acid cistron similarities and taxonomic neighborhood of *Brucella* and CDC group Vd. *International Journal Systematic Bacteriology*, 1987, 37: 35-42.
15. Moreno E, Stackebrandt E, Dorsch M, Wolters J, Busch M, Mayer H. *Brucella abortus* 16S rRNA and lipid A reveal a phylogenetic relationship with members of the Alpha-2 subdivision of the class Proteobacteria. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172: 3569-3576.
16. Corbel M.J, Moriyon I. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56: 1169–1170

17. Nicoletti P. A Short history of Brucellosis. *Veterinary Microbiology*, 2002, 90: 5-9.
18. Garin-Bastuji B, Blasco JM, Grayon M, Verger JM. *Brucella melitensis* infection in sheep: present and future. *Veterinary Research*, 1998, 29: 255-274.
19. Aras Z, Ateş M, Uçan US. *Brucella* suşlarının identifikasyonu ve biyotiplendirilmesi. *Veteriner Bilimler Dergisi*, 2009, 25: 51-59.
20. Jahans KL, Foster G, Broughton ES. The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Veterinary Microbiology*, 1997, 57: 373-382.
21. Scholz HC, Hubalek Z, Nesvadbova J, Tomaso H, Vergnaud G, Flèche PL, Whatmore AM, Al Dahouk S, Krüger M, Lodri C, Pfeffer M. Isolation of *Brucella microti* from soil. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14: 1316-1317.
22. Yakupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to *Brucella* and implications for bioterrorism. *Emerging Infectious Diseases*, 2005, 11: 1180-1185.
23. Baysal B. *Brucella*. Ustaçelebi Ş (editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. I. Baskı: Ankara, Güneş Kitabevi. 1999; 571-577.
24. Young EJ. An overview of human brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*, 1995, 21: 283-289.
25. Ferroz J, Letesson JJ. Morphological analysis of the sheathed flagellum of *Brucella melitensis*. *BMC Research Notes*. 2010, 9: 333.
26. Corbel, M.J. Brucellosis in humans and animals. II. World Health Organization. III. Food and Agriculture Organization of the United Nations. IV. World Organization for Animal Health. 2006: 22-35.
27. Yakupsky P. Minireview: Detection of *Brucella* in blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999, 37: 3437-3442.
28. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, 5. Baskı. İzmir, Barış yayınları fakülteler kitabevi, 2009.

29. Bilgehan H. Aerob GRAM-negatif küçük basiller, *Brucella*. Bilgehan H, editor. *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, 10.baskı. İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2000: 199-214.
30. Meyer ME, Morgan WJ. Metabolic characterization of *Brucella* strains that show conflicting identity by biochemical and serological methods. *Bulletin of the World Health Organization*, 1962, 26: 823-827.
31. Sümerkan B. *Brucella* türleri. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, Cilt 2, İstanbul, Nobel Tıp kitapçıları. 2002: 1647-1652.
32. Badur S.Brusellozda seroepidemiolojik tanı ve seroepidemioloji. *Klinik dergisi*, 1990, 3: 17-20.
33. Cengiz AT, Dolapçı Gİ, *Brucella*’ların özellikleri ve brusellozda tanı yöntemleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 1997, 50: 41-46.
- 34.Aydın FE. Süt ve Süt Ürünlerinde *Brucella* Cinsi Bakterilerin Araştırılması Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Mersin: Mersin Üniversitesi, 2007.
35. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye’de bruselloz: Genel bakış. *Klinik Dergisi*, 2006, 19: 87-97.
36. Çetin ET, Çoral B, Bilgiç A, Bilgehan H, Sipahioğlu Ü, Gürel M, Kılıçturgay K, Arıkan E, Özenli H, Babacan M, Mutlu G, Yılmaz S, Sarısayın F, Eroğlu M. Türkiye’de insanda bruselloz insidansının saptanması. *Doğa-Turkish Journal Medical Sciences*, 1990, 14: 324-334.
37. Kose S, Smits HL, Abdoel TH, Ozbel Y. Prevalence of *Brucella* antibodies in rural and suburban communities in three provinces of Turkey: need for improved diagnosis and prevention. *The Journal of Infection*, 2006, 53: 308–314.

38. Karabay O, Serin E, Tamer A, Gokdogan F, Alpteker H, Ozcan A, Gündüz H. Hepatitis B carriage and *Brucella* seroprevalence in urban and rural areas of Bolu province of Turkey: a prospective epidemiologic study. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 2004, 15: 11–13.
39. Cetinkaya Z, Aktepe OC, Ciftci IH, Demirel R. Seroprevalence of human brucellosis in a rural area of Western Anatolia, Turkey. *Journal of Health Population Nutrition*, 2005, 23: 137–141.
40. Yumuk Z, O’Callaghan D. Brucellosis in Turkey-an overview. *International Journal of Infectious Diseases*, 2012, 16: 228–235
41. Haque N, Bari MS, Hossain MA, Muhammad N, Ahmed S, Rahman A, Hoque SM, Islam A. An overview of Brucellosis. *Mymensingh Medical Journal*. 2011; 20: 742-747.
42. Doğanay M, Aygen B, Esel D. Brucellosis due to blood transfusion. *Journal of Hospital Infection*, 2001, 49: 151-152.
43. Palanduz A, Palanduz S, Güler K, Güler N. Brucellosis in a mother and her young infant: probable transmission by breast milk. *International Journal of Infectious Diseases*, 2000, 4: 55-56.
44. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of notifiable diseases. *Morbidity Mortality Weekly Report*, 2003, 50: 1-108.
45. Özinel MA. *Francisella* ve *Brucella*. İçinde: Tıbbi Mikrobiyoloji, Başustaoğlu A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, Yapar M, (Çeviri editörleri). *Tıbbi Mikrobiyoloji*, Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. 6. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2010: 357-363.
46. Ertek M. Bruselloz: Klinik formları ve özellikleri. *Ankem Dergisi*, 2003, 17: 333-335.
47. Geyik MF. Brusellozun klinik formları. *Klinik XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, 2003, 209-210.

48. Dilmener M. Bruselloz'un klinik prezantasyonları. *Klinik Dergisi*, 1990, 3: 23-25.
49. Solera J, Lozano E, Martinez-Alfaro E, Espinoza A, Castillejos ML, Abad L: Brucellar spondylitis: review of 35 cases and literature survey. *Clinical Infectious Diseases*, 1999, 29: 1440-1449.
50. Ateş Ö, Çaylı SR, Koçak A, Kutlu R, Önal RE, Tekiner A. Spinal epidural abscess caused by Brucellosis. *Neurologia Medico Chirurgical*, 2005, 45: 66-70.
51. Ablin J, Mevorach D, Eliakim R. Brucellosis and the gastrointestinal tract. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1997, 24: 25-29.
52. Jorens PG, Michielsens PP, Van den Enden EJ, Bourgeois NH, Van Marck EA, Krueger GR, Ramon AM, Van Maercke YM. A rare cause of colitis-*Brucella melitensis*. Report of a case. *Diseases of the Colon and Rectum*. 1991, 34: 194-196.
53. Cesur S, Çapar Y, Demir P, Kurt H, Sözen TH, Tekeli E. *Brucella* Orşiti: Dört Olgunun İncelenmesi. *Klinik Dergisi*, 2002, 15: 22-24.
54. Madkour MM. Brucellosis. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL (eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 14th ed. McGraw-Hill publication, 1998: 969-971.
55. Heper Y, Yılmaz E, Akalın H, Mıstık R, Helvacı S. Nörobruselloz: 9 Olgunun irdelenmesi. *Klinik dergisi*, 2004, 17: 99-102.
56. McLean DR, Russell N, Kahn MY. Neurobrucellosis: Clinical and therapeutic features. *Clinical Infectious Diseases*, 1992, 15: 582-590.
57. Özdemir D, Albayrak F, Cesur S, Gönenli B, Sözen TH, Tekeli E. Bir nörobruselloz olgusu. *İnfeksiyon Dergisi*, 2003, 17: 499-500.
58. Al-Jubair K, al-Fagih MR, Ashmeg-A, Belhaj M, Sawyer W. Source Cardiac operations during active endocarditis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 1992, 104: 487-490.

59. Pappas G, Bosilkovski M, Akritidis N, Mastora M, Krteva L, Tsianos E. Brucellosis and Respiratory System. *Clinical Infectious Diseases*, 2003; 37: 95-99.
60. Simsek F, Yildirmak MT, Gedik H, Kantmürk A, Iris EN. Pulmonary involvement of Brucellosis: a report of six cases. *African Health Sciences*, 2011, 11: 112-116.
61. Turkulov V, Madle-Samardzija N, Canak G, Gavrancić C, Vukadinov J, Doder R. Various clinical manifestations of brucellosis infection. *Medicinski Pregled*, 2008, 61: 517-520.
62. Bekci TT, Kesli R. Pulmoner tutulum gösteren bruselloz olgusu. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 2007, 70: 16-18.
63. Gotuzzo E, Cellillo C. *Brucella*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Diseases*. 2nd Edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1992: 1513-1521.
64. Berger TG, Guill MA, Goette DK: Cutaneous lesions in brucellosis. *Archives Dermatology*, 1981, 117: 40-42.
65. Aktaş O. Brusellozda mikrobiyolojik tanı. *Ankem dergisi*, 2003, 17: 336-339.
66. Tansel Ö, Yavuz M, Kuloğlu F, Akata F. Trakya üniversitesi hastanesi'ne başvuran 40 bruselloz olgusunun değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, 2003, 17: 1-4.
67. Araj GF. Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2010, 36: 12-17.
68. Pappas G, Papadimitriou P. Challenges in *Brucella* bacteraemia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2007, 30: 29-31.
69. Marin CM, Alabart JL, Blasco JM. Effect of antibiotics contained in two *Brucella* selective media on growth of *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. ovis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1996, 34: 426-428.

70. Gotuzzo E, Corillo C, Guerra J. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis. The value of bone marrow culture. *The Infectious Diseases*, 1986; 153: 122-125.
71. Almajid FM. Lymphocyte activation test for diagnosis of seronegative Brucellosis in humans. *Indian Journal of Pathology Microbiology*, 2011; 54: 775-781
72. Baysallar M, Aydogan H, Kilic A, Kucukkaraaslan A, Senses Z, Doganci L. Evaluation of the BacT/ALERT and BACTEC 9240 automated blood culture systems for growth time of *Brucella* species in a Turkish tertiary hospital. *Medical Science Monitor*, 2006, 12: 235-238.
73. Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2004, 4: 115-123.
74. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, Forootan A, Jonak J, Lind K, Sindelka R, Sjoback R, Sjogreen B, Strombom L, Stahlberg A, Zoric N. The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine*, 2006, 27: 95-125.
75. Morata P, Queipo-Ortuno MI, Reguera JM, Garcia-Ordenez MA, Cardenas A, Colmenero JD. Development and evaluation of a PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human brucellosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41: 144-148.
76. Navarro E, Esribano J, Fernandez J, Solera J: Comparison of three different PCR methods of detection of *Brucella spp.* In human blood samples. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2002; 34: 147-151.
77. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis--a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. *Clinical Laboratory*, 2003, 49: 577-589.

78. Lucero NE, Jacob NO, Ayala SM, Escobar GI, Tuccillo P, Jacques I. Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. *Journal of Medical Microbiology*, 2005, 54: 505-508.
79. Yaylı G. Brusellozun Laboratuvar Tanısında Sorunlar. *II. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı*. 2003: 211-213.
80. Gazapo E, Lahoz JG, Subiza JL. Changes in IgM and IgG antibody concentration in brucellosis over time: importance for diagnosis and follow-up. *The Journal of infectious Diseases*, 1989, 159: 219-225.
81. Araj GF, Awar GN. The value of ELISA vs negative Coombs findings in the serodiagnosis of human brucellosis. *Serodiag Immunotherapy Infectious Diseases* 1997, 8: 169–172.
82. Araj GF, Brown GM, Haj MM, Madhavan NV. Assessment of brucellosis card test in screening patients for brucellosis. *Epidemiology and Infection*, 1988, 100: 389–398.
83. Arija J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*, 1992, 14: 131-140.
84. Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K: Competitive enzyme immunoassay for diagnosis of human brucellosis. *Journal Clinical Microbiology*, 1999, 37: 3245-3248.
85. Orduna A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Duenas A, Cuervo M, Abad R, Hernandez B, Lorenzo B, Bratos MA, Torres AR. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *Journal Clinical Microbiology*, 2000; 38: 4000-4005.
86. Casao MA, Navarro E, Solera J. Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis. *Journal of Infection*, 2004, 49: 102-108.

87. Smits HL, Basahi MA, Diaz R, Marrodan T, Douglas JT, Rocha A, Veerman J, Zheludkov MM, Witte OWM, deJong J, Gussenhoven GC, Goris MGA, van der Hoorn MAWG. Development and evaluation of a rapid dipstick assay for serodiagnosis of acute human brucellosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, 37: 4179-4182.
88. Nielsen K, Gall D. Fluorescence polarization assay for the diagnosis of brucellosis: a review, *Journal of immunoassay immunochemistr*, 2001, 22: 183-201.
89. Erdenliğ S. Türkiye’de *Brucella* kökenleri. *Klimik XI Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi* 30 Mart-3 Nisan 2003, 214-216
90. Kaya S. Bruselloz ve tedavi sorunu *İnfeksiyon Dergisi*, 2006, 20: 227-230.
91. Gotuzzo E, Carillo C. *Brucella*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Disease*. 2th ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1998: 1837-1845.
92. Cengiz AT. Brusellozdan korunma ve tedavi. In: Prof. Dr A. Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Bruselloz Sempozyumu Kitabı. Ankara, 2000: 57-67.
93. Rubinstein E, Lang R, Shasha B, Hagar B, Diamanstein L, Joseph G, Anderson M, Harrison K. In vitro susceptibility of *Brucella melitensis* to antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1991, 35: 1925-1927.
94. Özsüt H. Bruselloz tedavisi. *Klimik Dergisi*, 1990. 3: 26-29.
95. Yüce A. Klinik ve laboratuvar bulgularına göre bruselloz. *İzmir Göğüs Hastalıkları Hastanesi Dergisi*, 1986,1: 65-68.
96. Gürsoy B, Tekin-Koruk S, Sırmatel F, Karaağaç L. Bruselloz: 140 Olgunun Değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi*, 2008, 21: 101-104.
97. Kaya S. 44 Bruselloz Olgusunun Değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi*, 2007, 20: 17-19.
98. Yüce A, Çavuş SA, Yapar N, Çakır N. Bruselloz: 55 olgunun değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi*, 2006, 19: 13-17.

99. Özer S, Oltan N, Gençer S. Bruselloz: 33 Olgunun Değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi*, 1998, 11: 82-84.
100. Tülek N, Ertem GT, Şahan S, Tanyel E. Brusellozlu Hastalarda Farklı Tedavi Kombinasyonlarına Bağlı Yan Etkilerin İrdelenmesi. *Klimik Dergisi*, 2004, 17: 205-208.
101. Taşova Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, İnal S, Aksu HSZ. Bruselloz: 238 erişkin olgunun klinik, laboratuvar ve tedavi özelliklerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, 1998, 12: 307-312.
102. Aygen B, Sümerkan B, Kardaş Y, Doğanay M, İnan M. Bruselloz: 183 olgunun değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi*, 1995, 8: 13-16
103. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K, Cevik R, Sarac J, Hosoglu S. Complications of brucellosis in different age groups: a study of 283 cases in Southeastern Anatolia of Turkey. *Yonsei Medical Journal*, 2003, 44: 33-44.
104. Koşar A, Aygündüz M, Yaylı G. İkiyüzseksen bruselloz olgusunda farklı iki tedavinin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 2001, 15: 433-437.
105. Büke Ç, Çiçeklioğlu M, Türk M, Atalay S, Tunçel M. Ovakent beldesinde bruselloz seroprevalansı ile hastalık konusundaki bilgi ve davranışın saptanması. *İnfeksiyon Dergisi*, 2006; 20: 23-26.
106. Ataman-Hatipoğlu Ç, Kınıklı S, Tülek N, Tekin Koruk S, Arslan S, Tuncer Ertem G, Koruk İ, Demiröz AP. Bir eğitim hastanesinin infeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji kliniğinde izlenen 202 bruselloz olgusunun epidemiyolojik verilerinin irdelenmesi. *Klimik Dergisi*, 2005, 18: 94-98.
107. Saçar S, Cenger DH, Toprak S, Demir M, Turgut H. Otuz bruselloz olgusunun klinik değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, 2008, 22: 11-14.

108. Alışkan H, Çolakoğlu Ş, Turunç T, Demiroğlu YZ, Yazıcı AC, Arslan H. Brusellozun tanısında Brucellacapt testinin değerinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 2007, 41: 591-595.
109. Güzelant A, Kurtoğlu MG, Kaya M, Keşli R, Terzi Y, Baysal B. Brusellozis'in tanısında Brucellacapt'in diğer serolojik testler ile karşılaştırılması. *Selçuk Tıp Dergisi*, 2009, 25: 125-131.
110. Aydın L. Konya Bölgesinde Ateş ve Eklem Ağrısı Şikayetli İnsanların Kan Örneklerinde Brusellozun Serolojik Testlerle (Rose Bengal Plate, Modifiye Rose Bengal Plate, Serum Aglütinasyon, Rivanol Aglütinasyon, 2-Merkaptoetanol Aglütinasyon ve ELISA) Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (vet) Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi 2009.
111. Yetkin G, Iraz M. Malatya ilinde bir yıllık sürede laboratuvar verilerine göre bruselloz seroprevalansı. *Ankem Dergisi*, 2006, 20: 156-158.
112. Colak H, Usluer G, Ozgunes I, Karaguven B, Barlas S. Comparison of the Wright, indirect Coombs' and enzyme immunoassay IgG methods for the diagnosis of chronic brucellosis. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 1992, 26: 56-60.
113. Alışkan H. Kültür ve Serolojik Yöntemlerin İnsan Brusellozu Tanısındaki Değeri. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 2008, 42: 185-195.
114. Gómez MC, Nieto JA, Rosa C, Geijo P, Escibano MA, Muñoz A, López C. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2008, 15: 1031-1033.
115. Cargill C, Lee K. and Clarke I. Use of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in a Bovine Brucellosis Eradication Program. *Australian Veterinary Journal*, 1985, 62: 49-52.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş

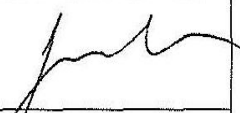
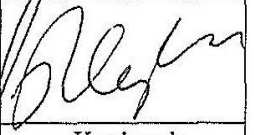
KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	:Esra GÜLTEKİN
Doğum tarihi	:01.01.1983
Doğum yeri	: Ardahan
Medeni hali	:Bekar
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel	: 05559934303
Faks	:
E-mail	: esra_gltkn83@hotmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Samandıra Lisesi (1999)
Lisans	: Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi (2004-2008)
Yüksek lisans	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2010-)
Doktora	:
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	: Orta derecede (ÜDS 60, Mart 2012)
ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR	
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

"2011 .1.1/ 4 "SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 28.02.2011

1.1/4- Enstitümüz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Esra GÜLTEKİN' in " Bruselloz Ön Tanılı Hastaların Serumlarında Brucella Antikorlarının Belirlenmesi Amacıyla Kullanılan Çeşitli Serolojik Yöntemlerin Karşılaştırılması " tez konusu görüşüldü;

İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof.Dr.Türkan PASINLIOĞLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Prof.Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof.Dr.İsmail CEYLAN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof.Dr.Mustafa ATASEVER	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı
Prof.Dr. Zekeriya AKTÜRK	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı
Prof.Dr.H.İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı
Doç.Dr.Hakan USLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr. Abdülkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	Katılmadı
Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN	Raportör	

EK-3. HASTA BİLGİ FORMU

BRUSELLOZ ÖN TANISIYLA GELEN HASTALAR İÇİN DÜZENLENECEK BİLGİ FORMU

ADI SOYADI			
DOSYA NO			
YAŞ			
CİNSİYET	KADIN		ERKEK
TELEFON NUMARASI			

HASTADAN İSTENECEK TETKİKLER

BRUCELLA (ROSE-BENGAL)
BRUCELLA (COOMBS ANTİSERUMU)
Bruselloz ön tanısını açıkça belirtiniz
ELİSA (IgG-IgM)
KAN KÜLTÜRÜ

EĞİTİM DURUMU

OKUR YAZAR DEĞİL	
İLKOKUL	
ORTAOKUL	
LİSE	
ÜNİVERSİTE	

MESLEK GRUBU

İŞSİZ	
GÜNLÜK İŞÇİ	
ÇİFTÇİ	
SERBEST MESLEK	
SİGORTALI İŞÇİ	
KAMU ÇALIŞANI	
EV HANIMI	
ÖĞRENCİ	

HASTANIN ŞİKAYETLERİ

ATEŞ	
KİLO KAYBI	
EKLEM AĞRISI	
AŞIRI TERLEME	
İŞTAHSIZLIK	
KARIN AĞRISI	
HALSİZLİK	
BAŞ AĞRISI	

AİLEDE BRUSELLOZ HİKAYESİ

AİLEDE BRUSELLOZ	VAR		YOK	
------------------	-----	--	-----	--

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİ İMALATI

SÜT SAĞMA ŞEKLİ	ÇIPLAK EL		ELDİVEN/MAKİNE	
SÜT MAMÜLÜ İMALATI	ÜRETEN		ÜRETMEYEN	
SÜT KAYNATMA ALIŞKANLIĞI	KAYNATMIYOR		KAYNATIYOR	

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİ TÜKETİM DURUMLARI

TAZE PEYNİR TÜKETİMİ	EVET		HAYIR	
TUZSUZ TEREYAĞI TÜKETİMİ	EVET		HAYIR	
ÇÖKELİK TÜKETİMİ	EVET		HAYIR	
ÇİĞ KAYMAK TÜKETİMİ	EVET		HAYIR	

HAYVAN UĞRAŞISI

HAYVANLA UĞRAŞI	UĞRAŞILMIYOR		HAFTADA BİR VEYA DAHA SIK	
BESLENEN HAYVAN TÜRÜ	BÜYÜK BAŞ		KÜÇÜK BAŞ	
VETERİNER KONTROLÜ	EVET		HAYIR	
HAYVANLAR AŞILI MI	EVET		HAYIR	
ÖLÜM VE DÜŞÜK	VAR		YOK	