

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**BRUSELLOZLU HASTALARDA SERUM
LL-37 DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI VE
KLİNİK SEYİRLE İLİŞKİSİ**

Kübra GÖGEBAKAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Zülal ÖZKURT

ERZURUM-2025



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Adı, Soyadı : Kübra Gögebakan	Sınav tarihi: 28 / 02/ 2025
Anabilim Dalı : Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı ve Atanma Tarihi: Prof. Dr. Zülal Özkurt, 22.11.2023	
Tezin Konusu ve Başlığı: Brusellozlu Hastalarda Serum LL-37 Düzeyinin Araştırılması ve Klinik Seyirle İlişkisi Belirlenme Tarihi: 22.11.2023	
Tezin Niteliği : ☒ Tıpta Uzmanlık Tezi ☐ Klinik Çalışmalar ☐ Prospektif ☐ Retrospektif ☐ Kesitsel ☐ Laboratuvar Çalışmaları ☐ Invitro (Cansız) Çalışmaları ☐ Hayvan Çalışmaları	
Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: ☒ Yüz yüze katılım sağlanarak ☐ Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)	

II. KARAR
Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçen tezinin, jüri üyelerince “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak; ☒ Kabulüne 1.Tez Sınavı ☐ Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY’nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine) 2.Tez Sınavı ☐ Reddine (TUEY’nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişkisinin kesilmesine) ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

III. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

IV. JÜRİ ÜYELERİ				
	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Zülal Özkurt	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi	
Jüri Üyesi	Doç.Dr.Fatma KESMEZ CAN	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi	

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLOLAR DİZİNİ	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tanım	4
2.2. Tarihçe	4
2.3. Epidemiyoloji.....	5
2.4. Bulaş Yolları	7
2.5. Patogenez	8
2.6. İmmunité	9
2.7. Klinik	11
2.7.1. Relaps.....	12
2.7.2. Komplikasyonlar	12
2.7.2.1. Osteoartiküler Sistem	12
2.7.2.2. Gastrointestinal Sistem	13
2.7.2.3. Nörolojik Sistem	13
2.7.2.4. Kardiyovasküler Sistem	13
2.7.2.5. Hematopoetik Sistem	14
2.7.2.6. Genitoüriner Sistem	14
2.7.2.7. Respiratuvar Sistem	14
2.7.2.8. Diğer Komplikasyonlar	15
2.8. Tanı	15
2.8.1. Direkt Tanı Yöntemleri.....	17
2.8.1.1. Kültür	17
2.8.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	18

2.8.1.2.1. PZR-Restriction Fragment Length Polimorfizm (PZR-RFLP)..	18
2.8.2. İndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler)	19
2.8.2.1. Rose Bengal Testi (RBT)	19
2.8.2.2. Mikroaglutinasyon	20
2.8.2.3. Spot Test	20
2.8.2.4. Brucellergen Deri Testi	20
2.8.2.5. Serum Tüp Aglutinasyonu (STA)	20
2.8.2.6. Coombs Testi (CT).....	21
2.8.2.7. Bruselloz Coombs Jel Testi (BCGT) (Odak Testi)	21
2.8.2.8. Kompleman Fiksasyon (KF) Testi	22
2.8.2.9. Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) ve 2-Merkaptoetanol'ü (2-ME) Aglutinasyon Testi	22
2.8.2.10. Immunocapture Aglutinasyon Testi (ICA, Brucellacapt Testi)	23
2.8.2.11. Floresan Polarizasyon Testi (FPA)	23
2.8.2.12. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA, ELIZA).....	23
2.8.2.13. Hızlı Testler.....	24
2.8.2.13. 1. Lateral Flow Assay (LFA)	24
2.8.2.13. 2. Dipstick Testi	24
2.9. Tedavi.....	24
2.10. LL-37 molekülü	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Çalışma Planı	31
3.2. Hastaların Seçimi	31
3.3. Kontrol Grubunun Seçimi	31
3.4. Analitlerin Tayin Yöntemleri.....	32
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	35
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
7. KAYNAKLAR	68

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Brusellozun Olgu Ve Ölüm Sayıları, Morbidite Ve Mortalite Hızları, Türkiye, 2008-2019.....	6
Tablo 2.2. TC Sağlık Bakanlığı'na Göre Bruselloz Vaka Sınıflaması.....	16
Tablo 2.3. CDC'ye Göre Bruselloz Vaka Sınıflaması	16
Tablo 2.4. CDC'ye Göre Bruselloz Laboratuvar Kriterleri.....	16
Tablo 3.1. Kullanılan Malzeme, Kit ve Cihazlar	33
Tablo 4.1. Hastaların Yaşadıkları Yere ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı	38
Tablo 4.2. Hastaların Eğitim Düzeylerine Ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı	39
Tablo 4.3. Hastaların Mesleklerine Ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı.....	40
Tablo 4.4. Hastaların Semptomlarının Dağılımı	41
Tablo 4.5. Hastaların Semptomlarının Klinik Gruplarına Göre Dağılımı.....	42
Tablo 4.6. Hastaların ELIZA Ig G Ve Ig M Test Sonuçlarına Ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı.....	43
Tablo 4.7. Brusellozda Görülen Organ Tutulumlarının Hastaların Klinik Sınıfına Göre Dağılımı.....	45
Tablo 4.8. Hastaların Alınan Laboratuvar Parametrelerinin Gruplara Göre Dağılımı	45
Tablo 4.9. Hasta Bulgularının Sayı, Yüzde ve Klinik Gruplara Göre Sınıflandırılması	46
Tablo 4.10. AST Değeri ile Kan Kültürü Üremesinin Karşılaştırılması	46
Tablo 4.11. ALT Değeri ile Kan Kültürü Üremesinin Karşılaştırılması	47
Tablo 4.12. Gruplar Arası Serum LL-37 Seviyesi Kıyaslaması.....	49
Tablo 4.13. Brusellozlu Hastalarda LL-37 Düzeyleri İle Hemogram ve Biyokimya Değerleri Arasındaki İlişki	50
Tablo 4.14. Lökosit Başına Düşen LL-37 Miktarı İle Kan Kültürü Sonuçlarının Kıyası	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Dünya’da insan brusellozu insidansı.	5
Şekil 2.2. Bruselloz İnsidans Haritası, Türkiye 2019	6
Şekil 2.3. Tedavi edilmemiş brusellozda antikor cevapları.	10
Şekil 2.4. Rose Bengal testi sonuçları.....	19
Şekil 2.5. <i>Brucella</i> commbs jel testinin değerlendirilmesi.	22
Şekil 2.6. hCAP-18 ve ondan ayrılan 37 aminoasitlik LL-37 molekülü.....	28
Şekil 2.7. a. LL-37’nin dört alfa heliks demetinin moleküler düzeyde elektrostatik potansiyelinin gösterimi. b.LL-37’nin temsili görüntüsü.	29
Şekil 3.1 Absorbans-konsantrasyon grafiği	35
Şekil 4.1. Hastaların yaşadıkları yere göre dağılımı	38
Şekil 4.2. Hastaların eğitim durumuna göre dağılımı	39
Şekil 4.3. Hastaların mesleklerine göre dağılımları.....	40
Şekil 4.4. Hastaların semptomlarının çubuk grafiği	41
Şekil 4.5. Hastaların STA test sonuçlarına göre dağılımı.....	42
Şekil 4.6. Hastaların kan kültürü sonuçlarına göre dağılımı.....	43
Şekil 4.7. Hastaların kan kültürü sonuçlarına ve klinik sınıflarına göre dağılımının sütun grafikte gösterimi	44
Şekil 4.8. Hasta ve kontrol grubunun LL-37 değerinin karşılaştırılması.....	48
Şekil 4.9. Hastaların serum LL-37 seviyelerinin gruplarına göre kıyaslanması.....	49
Şekil 4.10. Hastaların CRP değerleriyle LL-37 değerleri arası korelasyon grafiği	50
Şekil 4.11. Hastaların sedimentasyon değerleriyle LL-37 değerleri arası korelasyon grafiği.....	51
Şekil 4.12. Hastaların ALT değerleriyle LL-37 değerleri arası korelasyon grafiği.....	52
Şekil 4.13. LL-37 değerinin tanısal değerini gösteren ROC eğrisi.....	54

KISALTMALAR DİZİNİ

ALT	alanin aminotransferaz
AMP	antimikrobiyal peptid
AST	aspartat aminotransferaz
BAP	bilimsel araştırma projeleri
BOS	beyin omurilik sıvısı
CD	başkalaşım kümesi, cluster of differentiation
CRP	C-reaktif protein
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELIZA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ER	endoplazmik retikulum
ESR	Eritrosit sedimentasyon hızı
hCAP18	insan katelisinini-18, human cathelicidin 18
ICA	Immunocapture Aglutinasyon Testi
IFN	interferon
Ig	immunglobulin
IL	interlökin
IM	intramusküler
IV	intravenöz
KFT	Kompleman Fiksasyon Testi
LAMP-1	lizozom ile ilişkili membran proteini 1
LFA	Lateral Flow Assay
LPS	Lipopolisakkarid
MHC	majör histokompatibilite kompleksi
PAMP	patojen ilişkili molekuler patern
PZR, PCR	polimeraz zincir reaksiyonu
RB	Rose Bengal
RBT	Rose Bengal testi
RES	retikuloendotelial sistem
RSV	Respiratuvar Sinsityal Virus
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
spp.	species pluralis, türleri
STA	standart tüp aglutinasyonu
STA	Serum Tüp Aglutinasyonu
Th1	yardımcı T hücreleri 1
TLR	toll like reseptör
TMP/SMX	trimetoprim/sulfametoksazol
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör- α
WBC	white blood cell count, lökosit sayısı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde büyük emeği olan, aynı zamanda tezimin hazırlanmasında desteğini esirgemeyen, her araştırma görevlisinin arzulayacağı şekilde bu süreci kolaylaştıran değerli danışman hocam Prof. Dr. Zülal ÖZKURT'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince deneyimlerini paylaşan, yol göstericilikleriyle bana rehberlik eden, merhametlerini meslek şiarı edinmek istediğim kıymetli hocalarım Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN, Prof. Dr. Ayşe ALBAYRAK, Prof. Dr. Emine PARLAK, Doç. Dr. Fatma KESMEZ CAN ve Doç. Dr. Handan ALAY'a minnetlerimi sunarım.

Çalışmamın istatistik kısmını oluşturan, sabrıyla ve samimiyetiyle beni rahatlatan hocam Prof. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e şükranlarımı sunarım.

Mesleki gelişimime büyük katkı sağlayan, benden önce uzman olarak yolumu aydınlatan kıdemli asistan arkadaşlarıma; ardımdan gelen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli meslektaşlarıma ve sürecin her anında desteklerini hissettiren tüm sağlık personeline teşekkür ederim.

Beni her daim koşulsuz sevgiyle destekleyen, önce iyi bir insan ve ardından iyi bir hekim olmam için çabalayan, bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan kıymetli aileme teşekkür ederim.

Bu zorlu süreci aşmamdaki büyük katkısı, bana verdiği tüm desteği için ve çalışmamın laboratuvar kısmını tamamlasından dolayı sevgili eşim Uzm. Dr. Mehmet Yusuf GÖGEBAKAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmamı evladım Ömer Bera'ya ve masumiyetleri yok sayılarak hayatlarına son verilen tüm şehit çocuklara ithaf ediyorum...

Kübra GÖGEBAKAN

ÖZET

Brusellozlu Hastalarda Serum LL-37 Düzeyinin Araştırılması ve Klinik Seyirle İlişkisi

Amaç: Bu çalışmanın amacı, bruselloz tanısı almış hastalarda LL-37 molekülünün serum düzeylerini belirlemek ve bu düzeylerin hastalığın klinik seyri ile olan ilişkisini araştırmaktır. Brusellozun patofizyolojisi ile ilişkilendirilen LL-37 düzeyleri incelenerek tanı ve prognozda kullanım potansiyeli değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda klinik, bakteriyolojik ve serolojik bulgulara göre bruselloz tanısı almış 45 akut, 30 subakut, 26 kronik ve 19 relaps hastası ile 60 sağlıklı gönüllü çalışmaya dâhil edildi. Serum LL-37 düzeyleri Enzim Linked İmmunosorbent Assay yöntemiyle ölçüldü, elde edilen bulgular hastaların klinik verileriyle karşılaştırıldı.

Bulgular: LL-37 düzeyleri bruselloz hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ve klinik gruplarına göre farklı düzeyler tespit edildi. Bruselloz hastalarında serum LL-37 düzeyi ile ALT, CRP ve sedimentasyon değerleri arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu gösterildi. Kan kültüründe *Brucella spp.* üremesi görülen hastaların serum LL-37 düzeyleri, üreme olmayanlara kıyasla daha yüksek bulundu. Ayrıca kemik eklem tutulumu olan komplike bruselloz vakalarının serum LL-37 seviyeleri, olmayanlara kıyasla yüksek saptandı. Cut-off değeri 18,26 ng/mL olan serum LL-37 seviyeleri, bruselloz vakalarını sağlıklı bireylerden ayırt etmede %92 sensitivite ve %88 spesivite gösterdi; positive prediktif değeri %82 ve negative prediktif değeri %91 idi (AUC = 0,956, $P < 0,001$, %95 güven aralığı 0,93–0,98, negatif sonuç için olasılık oranı = 0,09, pozitif sonuç için olasılık oranı = 7,66).

Sonuç: Literatür taraması sonucunda, bruselloz hastalarında serum LL-37 düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmaya rastlanmadı. LL-37, brusellozun tanı ve prognozunda kullanılabilecek bir biyobelirteç olma potansiyeline sahiptir. Bu bulgular, brusellozun patofizyolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunabilir ve ileride yapılacak çalışmalara temel oluşturabilir.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, LL-37, hCAP-18, antimikrobiyal peptit.

ABSTRACT

Evaluation of Serum LL-37 Levels in Patients with Brucellosis and Their Relationship with Clinical Course

Objective: This study aims to determine serum levels of LL-37 in patients diagnosed with brucellosis and to investigate the relationship between these levels and the clinical course of the disease. By examining LL-37 levels, which are associated with the pathophysiology of brucellosis, the potential use of this molecule in diagnosis and prognosis was evaluated.

Materials and Methods: A total of 45 acute, 30 subacute, 26 chronic, and 19 relapse brucellosis patients, diagnosed based on clinical, bacteriological, and serological findings at Atatürk University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, were included in the study along with 60 healthy volunteers. Serum LL-37 levels were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay method, and the findings were compared with the clinical data of the patients.

Results: Serum LL-37 levels were significantly higher in brucellosis patients compared to the control group, with variations observed among clinical subgroups. A significant positive correlation was found between serum LL-37 levels and ALT, CRP, and erythrocyte sedimentation rate. The serum LL-37 levels were found to be higher in patients with *Brucella spp.* isolation in blood culture compared to those without. Additionally, patients with complicated brucellosis involving osteoarticular involvement had significantly higher serum LL-37 levels than those without such complications. Serum LL-37 levels with a cut-off value of 18.26 ng/mL demonstrated a sensitivity of 92% and a specificity of 88% in distinguishing brucellosis cases from healthy individuals, with a positive predictive value of 82% and a negative predictive value of 91% (AUC = 0.956, $P < 0.001$, 95% confidence interval: 0.93–0.98, negative likelihood ratio = 0.09, positive likelihood ratio = 7.66).

Conclusion: A literature review revealed no previous studies on serum LL-37 levels in brucellosis patients. LL-37 appears to have potential as a biomarker for the diagnosis and prognosis of brucellosis. These findings contribute to a better understanding of the pathophysiology of brucellosis and may serve as a foundation for future research.

Keywords: Brucellosis, LL-37, hCAP-18, antimicrobial peptide.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Brucella türü bakterilerin neden olduğu bruselloz, dalgalı ateş, Akdeniz ateşi, Malta humması ve Bang hastalığı olarak da bilinen, vücudun pek çok dokusunu, organını ve sistemini etkileyebilen, çok çeşitli belirtilerle ortaya çıkan, zoonotik bir hastalıktır (1). Gelişmiş ülkelerde, evcil hayvanlarda bruselloz kontrol altına alınmış ve insidansı düşük seviyelere indirilmiştir. Ancak, gelişmekte olan ülkelerde hala endemik olarak görülmektedir. Türkiye'de de bruselloz endemik bir hastalıktır (2). Bruselloz, pastörize edilmemiş sığır, koyun, keçi, deve, domuz gibi enfekte hayvanların ürünlerinin tüketimi, vücut sıvılarıyla teması veya enfekte aerosollerin solunması yoluyla bulaşabilir. Seyrek de olsa, kan transfüzyonu, doku nakli, emzirme, cinsel temas gibi yollarla veya nozokomiyal enfeksiyonlarla insandan insana bulaşma vakaları görülmüştür. *Brucella* bakterisi, Gram negatif, fakültatif, sporsuz ve hareketsiz kokobasillerdir. İnsanlarda enfeksiyona yol açan dört temel türü bulunmaktadır: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* ve *B. canis*. Dünya genelinde, insanları enfekte etme potansiyeli en yüksek olan tür *B. melitensis*'tir (3). İlerleyen teknoloji ve ekonomiye rağmen ülkemizde, diğer Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde olduğu gibi, kırsal alanlarda pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin yaygın olarak tüketilmesi, brusellozun hala önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kalmasına neden olmaktadır (4). Endemik bir bölgede hayvanlarla temas öyküsü ve/veya mesleki maruziyet gibi risk faktörleri bulunan kişilerde ateş, gece terlemeleri, halsizlik ve eklem ağrıları gibi belirtiler görüldüğünde brusellozdan şüphelenilmelidir. Bu semptomlara ek olarak kilo kaybı, bel ağrısı, baş ağrısı, baş dönmesi, iştahsızlık, sindirim bozuklukları, karın ağrısı, öksürük ve depresyon gibi belirtiler de ortaya çıkabilir (5).

Bakterilerin hücre içi yerleşim göstermeleri, hastalığın birçok farklı klinik formda ortaya çıkması ve semptomların düşük özgüllüğü gibi nedenler, hastalığın tespit edilmesini zorlaştırmaktadır. Brusellozun kesin tanısı kan, kemik iliği, sinovyal sıvı, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve diğer klinik örneklerin kültürünü gerektirir. Ancak patojenin geç üremesi, hastanın daha önce antibiyotik kullanması ve bakterinin bulaşıcı dozunun düşük olması gibi nedenlerden dolayı patojen her zaman izole edilemez. Bu nedenle tanıda öncelikli olarak Rose Bengal ve standart test aglütinasyonu (STA) gibi serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Serolojik testler oldukça duyarlı olmasına rağmen, endemik bölgelerdeki sağlıklı yetişkinlerde antikor titrelerinin yüksek olması nedeniyle özgüllüğü düşüktür. Serolojik testler tanıyı doğrulayabilir ancak her zaman kesin tanıyı sağlamaz. Ayrıca serolojik testlerin diğer bakterilerle çapraz reaksiyon oluşturma, blokan antikorlardan etkilenme, hastalığın erken

evrelerinde negatif sonuç vermesi ve bazı *Brucella* türlerini tespit edememesi gibi dezavantajları vardır (6, 7).

Hastalığın teşhisinde zorluklar bulunduğu gibi tedavisinde de pek çok zorluklar vardır. Etkili antibiyotik tedavisine rağmen brusellozda relaps oranları %10'lara kadar ulaşabilmektedir. Relaps genellikle tedavi sona erdikten sonraki 6 ay içinde ortaya çıkmaktadır (8, 9). Bruselloz tedavisinin amacı, hastalığı kontrol altına almanın yanı sıra komplikasyonları, nüksleri, kalıcı hasarları ve ölümleri önlemektir (10). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) önerilerine göre, 8 yaş üzerindeki komplikasyonsuz hastalar için doksisisiklin 200 mg/gün 6 hafta boyunca ve streptomisin 1 gr/gün 14-21 gün veya doksisisiklin 200 mg/gün ve rifampisin 600-900 mg/gün 6 hafta süreyle kullanılmalıdır. Özellikle spondilodiskiti olan bruselloz vakalarında streptomisin içeren rejimler önerilmektedir (9).

Antimikrobiyal peptit LL-37, katelisin ailesine aittir ve insandan izole edilen ilk amfipatik alfa-helikal peptittir. LL-37, diğer adıyla insan katelisini-18'in (human cathelicidin 18, hCAP18) enfeksiyona karşı ilk savunma hattında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. İn vitro çalışmalar, LL-37'nin hem bakteriyel hem de normal ökaryotik hücrelere karşı sitotoksik olduğunu ortaya çıkarmıştır (11). İnsan antimikrobiyal peptidi olan LL-37, geniş spektrumlu antibakteriyel ve anti-biyofilm aktivitelerinin yanı sıra immünomodülatör fonksiyonlar gösterdiği için geleneksel antibiyotiklere potansiyel bir alternatif olarak kabul edilmiştir. Güçlü antimikrobiyal özelliklerine rağmen yüksek maliyet, fizyolojik ortamlarda daha düşük aktivite, proteolitik bozunmaya duyarlılık ve insan hücrelerine karşı yüksek toksisite gibi çeşitli sınırlamaları sebebiyle bir peptit antibiyotigi olarak henüz onay almamıştır (12). Tekrarlayan üriner enfeksiyonu olanlarda, tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonu olanlarda, COVID-19 hastalarında, sağlıklı kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük LL-37 seviyesi olduğu gösterilmiştir (13). LL-37'nin invitro ortamda *B. suis*'e karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (14). LL-37'nin bruselloz hastalarında yapılmış bir klinik çalışması bulunmamaktadır.

Bruselloz tanısında yaşanan zorluklar nedeniyle, tanıya yol gösterici ve destekleyici testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tez çalışmasında Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji klinik ve polikliniğinde takip edilen bruselloz tanısı almış hastalarda, bruselloz patofizyoloji ile ilişkili olan LL-37 düzeyi araştırılacaktır. Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi (Proje kodu: TTU-2024-13936) tarafından desteklenen bu tez çalışmasında, bruselloz patofizyolojisiyle ilişkili olduğu düşünülen LL-37 düzeyinin akut,

subakut, kronik ve relaps hastalarındaki serum düzeyleri belirlenerek tanıdaki öngörüsü araştırılacak, bruselloza yatkınlık açısından sağlıklı gönüllülerle karşılaştırılması yapılacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

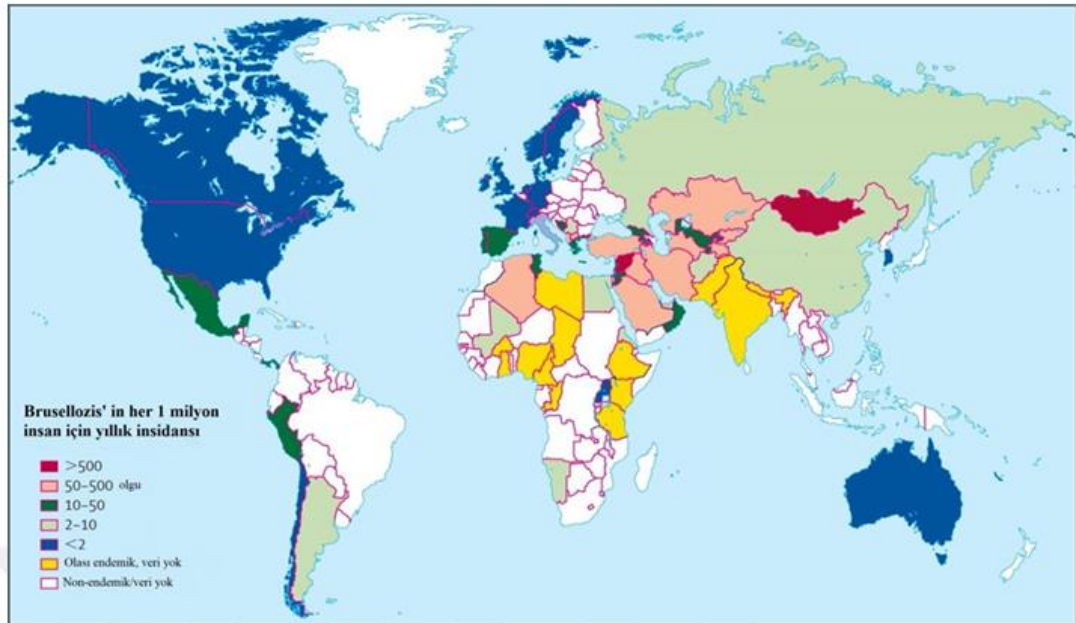
Bruselloz, Dünya Sağlık Örgütüne göre dünya çapında yaygın olan, önemli sağlık ve ekonomik sorunlara neden olan zoonotik bir enfeksiyondur (15). *Brucella* bakterileri Gram negatif, hücre içi, aerobik yaşayan kokobasillerdir. Bu mikroplar, konak hayvanların üreme organlarında bulunur; düşüklere veya kısırılığa yol açabilir. Hayvanların sütü, idrarı, plasenta sıvısı ve diğer vücut sıvılarıyla atılırlar (16). Bang hastalığı, peynir hastalığı, Malta ateşi, Cebelitarık ateşi, Akdeniz ateşi, keçi ateşi, Kırım ateşi, remittan ateş ve ondülan ateş gibi farklı isimlerle de bilinen bruselloz, hayvanlardan insanlara direkt temas, enfekte süt ve süt ürünlerinin tüketimi veya enfekte aerosollerin inhalasyonu yoluyla bulaşmaktadır. Bu bulaş genellikle sığır, koyun, keçi, deve, domuz gibi hayvanlardan olmaktadır (9, 16-18). Sıklıkla akut ateşli bir hastalık olarak ortaya çıkmakla birlikte lokal tutulum ile de kendini gösterebilmektedir (19).

2.2. Tarihçe

Bruselloz hastalığının ilk doğru tanımı, 1861 yılında Malta adasındaki İngiliz askerlerinde "farklı bir ateş nedeni" tespit eden cerrah Marston tarafından yapılmıştır. Hastalığın etkeni ise, 25 yıl sonra, cerrah David Bruce tarafından 1886 ve 1887 yılları arasında "Malta Humması" nedeniyle ölen hastaların dalak pulpasından izole edilerek *Micrococcus* (daha sonra *Brucella*) *melitensis* olarak adlandırılmıştır. 1895 yılında veteriner hekim Bang, sığırlarda düşüğe neden olan küçük bir basilin *Bacillus abortus* olarak adlandırıldığını kanıtlamıştır. 1914'te Traum, ölü doğan domuzlardan *Bacterium abortus suis* olarak adlandırdığı bir bakteriyi izole etmiştir. 1953'te Van Drimellen koyunlardan *B.bovis*'i, 1957'de Stoenner ve Lackman ratlardan *B. neotomae*'yi, 1968'de Carmichael ve Bruner köpeklerden *B.canis*'i, 1994'te Ewalt ve Ross deniz memelilerinden *B.pinnipidae* ve *B.cetaceae*'yi izole etmişlerdir. Yunus balıkları ve foklardan izole edilenler *B. pinnipidae* (daha sonra *B. pinnipedialis*), balinalardan izole edilenler ise *B. cetaceae* (daha sonra *B. ceti*) olarak adlandırılmıştır (20). Ülkemizde insanlarda bruselloz hastalığı teşhisi ilk defa 1915 yılında Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından bir askere konulmuştur. Sığırlardan ilk brusella izolasyonu 1931, koyunlardan ise 1944 yılında gerçekleştirilmiştir. İnsan ve hayvanlarda bruselloz teşhisinde serolojik yöntemler ilk kez 1943 yılında Said Bilal Golem tarafından kullanılmıştır (21).

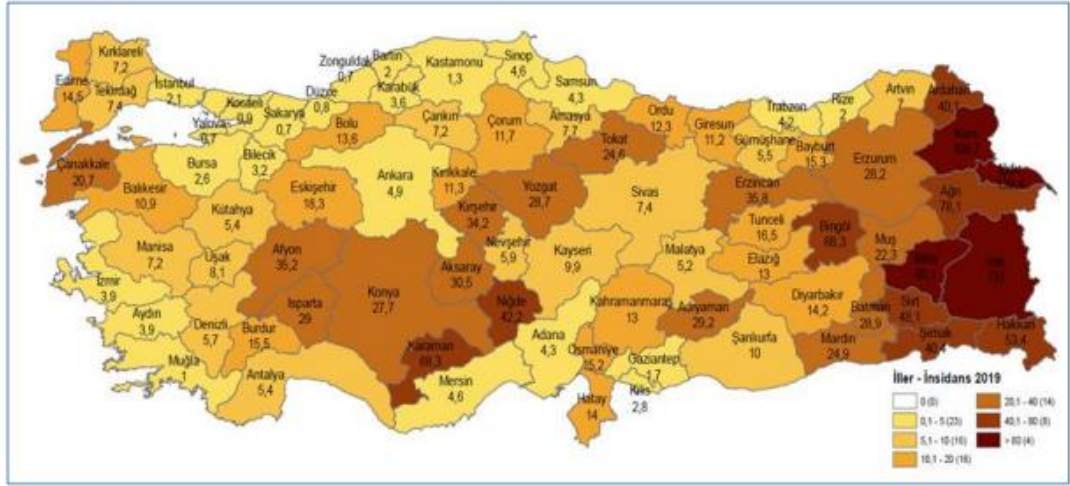
2.3. Epidemiyoloji

Bruselloz, en yaygın görülen zoonotik hastalıklardan biridir ve tüm vakalarda doğrudan ya da dolaylı hayvan teması bulunmaktadır. Hastalık, dünya genelinde görülmekle birlikte, özellikle Akdeniz ülkeleri, Arap Yarımadası, Hindistan ve Asya kıtasının bazı bölgelerinde, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir. İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük kısmı, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloz eradike edilmiştir. Ancak, gelişmekte olan ülkelere hâlâ önemli bir sağlık sorunu olarak devam etmektedir. DSÖ verilerine göre dünya genelinde her yıl 500.000 yeni bruselloz vakası tespit edilmektedir (22).



Şekil 2.1. Dünya'da insan brusellozu insidansı (23).

Dünya bruselloz insidans haritası Şekil 2.1.'de görülmektedir. Ülkemiz, Ortadoğu ülkeleri gibi brusellozun endemik olduğu bir bölgede yer almaktadır ve özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde insidans oldukça yüksektir. Kars, Iğdır, Hakkâri, Bitlis ve Van en yüksek insidansa sahip illerimizdir. Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgeleri dışında ise İç Anadolu bölgesinde Aksaray ve Isparta en yüksek insidansa sahip iller arasında öne çıkmaktadır. Ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada genel seroprevalans %1,8 olarak tespit edilirken, veterinerler ve mezbaha çalışanları gibi risk gruplarında bu oran %6'ya yükselmiştir (24). Türkiye bruselloz insidans haritası Şekil 2.2.'de görülmektedir (25).



Şekil 2.2. Bruselloz İnsidans Haritası, Türkiye 2019 (25)

Ülkemizde bruselloza bağlı son ölüm 2018 yılında gerçekleşmiş olup, 2008-2019 yılları arasında 1 hasta kaybedilmiştir. 2019 yılında ülkemizdeki vaka sayıları ile mortalite hızları tablo 2.1.'de gösterilmiştir (26).

Tablo 2.1. Brusellozun Olgu Ve Ölüm Sayıları, Morbidite Ve Mortalite Hızları, Türkiye, 2008-2019 (27).

Yıllar	Nüfus	Vaka sayısı	İnsidans (100.000'de)	Ölüm sayısı	Mortalite (1.000.000'da)
2008	71.517.100	9.818	13,73	1	0,01
2009	72.561.312	9.385	12,93	0	0,00
2010	73.722.988	7.703	10,45	0	0,00
2011	74.724.269	7.177	9,60	0	0,00
2012	75.627.384	6.759	8,94	0	0,00
2013	76.667.864	7.225	9,42	0	0,00
2014	77.695.904	4.475	5,76	0	0,00
2015	78.741.053	4.173	5,30	0	0,00
2016	79.814.871	5.148	6,45	0	0,00
2017	80.810.525	6.457	7,99	0	0,00
2018	82.003.882	7.219	8,80	1	0,01
2019	83.154.997	10.244	12,32	0	0,00

Bruselloz prevalansı genç nüfusta daha yüksektir. Akdeniz bölgesinde, yirmili yaşların ortalarındaki erkeklerde özellikle *Brucella melitensis*'e bağlı bruselloz en yüksek

insidansa sahiptir. Kuzey Suudi Arabistan'da yapılan bir çalışmada, bruselloz vakalarının %60'ı 13-40 yaş arası, %16'sı 40-60 yaş arası, %21'i 13 yaşından küçük ve %2,5'i 60 yaş ve üzerindedir. Aynı çalışmada, özellikle 13-40 yaş arasındaki kişilerde erkek/kadın oranı 1.7:1 olarak rapor edilmiştir (28). Erkeklerde bruselloz prevalansı, genellikle mesleki faktörlere bağlı olarak kadınlardan daha yüksektir. Gıda kaynaklı brusellozda ise yaş veya cinsiyete özel bir dağılım gözlenmez ve kadın ve erkeklerde eşit sayıda görülür (29). Akut lokalize bruselloz olan yaşlı bireylerde, özellikle omurgada lokalize destrüktif lezyon manifestasyonu görülme olasılığı yüksektir (30). Bruselloz bebeklerde nadir görülür. Gelişmekte olan ülkelerde ve tarım toplumlarında, çocukların da tarımda aktif olarak çalışmaları nedeniyle brusellozun daha küçük yaşlarda da yaygın olabileceği düşünülmektedir (31).

2.4. Bulaş Yolları

Hasta hayvanların idrar, süt, kan, plasenta ve diğer salgılarında brusella bakterisi bulunmaktadır. Brusellozun insanlara bulaşma yolları arasında; bütünlüğü bozulmuş deriden enfekte hayvan veya salgıları ile doğrudan temas, enfekte aerosollerin solunması veya konjonktivaya bulaşması, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin (taze peynir, krema, tereyağı, dondurma) gastrointestinal sistemden alınması yer alır. Türkiye'de en yaygın bulaş yolu pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimidir (15). Kaşar peyniri ve yoğurt yapımında fermentasyon gerçekleştiği için bulaş riski düşüktür. Et ürünleri genellikle pişirilerek tüketildiğinden ve kas dokusundaki bakteri sayısının düşük olması nedeniyle bu yolla bulaş nadirdir. Ancak yeterince pişirilmemiş dalak ve karaciğer tüketimi hastalığın bulaşmasına neden olabilir. Laboratuvarında çalışanlar ise doğrudan temas, perkütan yaralanma sonucu inokülasyon, göz ve buruna enfekte materyalin teması ve aerosollerin solunması yoluyla bulaş riski altındadır. Laboratuvar kaynaklı salgınlar da rapor edilmiştir (32, 33). Maruziyet sonrası enfeksiyon gelişme oranı, bulaş yoluna ve kontamine materyaldeki bakteri miktarına bağlı olarak %30-100 arasında değişebilmektedir. DSÖ, *Brucella* türlerinin risk grubunu III olarak belirlemiş olup, maruz kalanlar için riskin yüksek olduğunu göstermektedir. Canlı brusella aşılı ile inokülasyon sonrası da bulaş gerçekleşebilir (34, 35).

İnsandan insana bulaş nadir olmakla birlikte, transplasental, emzirme, kan transfüzyonu, cinsel yol ve organ transplantasyonu ile bulaş vakaları bildirilmiştir (36).

2.5. Patogenez

Genellikle sindirim sistemi kanallarından ve nadiren solunum, cilt ve diğer mukozalar yoluyla vücuda giren mikroorganizma, bölgesel lenf nodlarına yerleşir ve burada ilk üremesini gerçekleştirir. Ardından, hematogen yolla öncelikle retiküloendotelyal sistem (RES) organlarına ve neredeyse tüm vücuda yayılır. Karaciğer, kemik iliği ve dalak gibi RES organlarının yanı sıra kemikler ve eklemler, merkezi sinir sistemi, kalp ve testis gibi birçok organı da etkileyebilir. İmmün sistem tarafından ortadan kaldırılamayan bakteriler, granülom oluşturarak ilgili organda sınırlandırılmaya çalışılır (37, 38).

Brucella türleri, kendine özgü mekanizmalarla hayatta kalma yeteneğine sahip olan ve makrofajların içinde yaşayan fakültatif intraselüler bakterilerdir. Konağın bağışıklık sisteminden kaçışı; makrofaj apoptozunun önlenmesi, Th1'e özgü bağışıklık yanıtının baskılanması ve Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α) üretiminin engellenmesi gibi mekanizmalarla gerçekleşir. Önde gelen virülans faktörleri arasında hücre zarındaki lipopolisakkarit yapısı, VirB tip IV sekresyon sistemi ve siklik B-1,2 glukon sistemi bulunur. Ayrıca, bakterinin diğer virülans faktörleri arasında fagolizozomların birleşmesini, miyeloperoksidaz salınımını ve TNF salınımını engelleyen adenin ve guanin monofosfat sistemleri yer alır. Süperoksit dismutaz enzimi, reaktif oksijen ara maddelerinin detoksifikasyonunu sağlar. Üreaz enzimi ise, *B. abortus* ve *B. suis*'in mide asidinden korunmasını sağlar (39). Enfeksiyonun ilk aşamalarında, brucella bakterileri hücrelerin erken fagositik kompartmanlarını hedef alır, buna karşılık konak hücresi ise geç endozomu oluşturur. Geç endozomun oluşması ile lizozom ve fagolizozom yapıları da meydana gelir. Fagositik olmayan hücrelerde, brucella bakterileri genellikle otofajik yolak aracılığıyla endoplazmik retikulum (ER) yönlendirilir. Bu aşamada, brucella bakterileri tip-1 transmembran glikoproteini olan lizozom ile ilişkili membran proteini 1 (LAMP-1) üzerinden ER ile birleşir. Böylece, brucella bakterileri fagozomdan korunmuş olur ve ER içinde hücresel fonksiyonlara zarar vermeden çoğalabilirler (40).

Brucella spp. bakteri türlerinde toksin, fimbria ve kapsül gibi virülans faktörleri bulunmaz. Bu organizmalar; konak savunma sisteminden korunmak, konak hücresine nüfuz etmek, lizozomal sindirimden kaçmak, hücre içinde uzun süre yaşayabilmek, çoğalmaya izin vermek ve hücre içi ortamı değiştirmek için çeşitli mekanizmalara sahiptirler. Bakteriyel gen ekspresyonunu düzenleyen BvrR/BvrS sistemi, protein fosforilasyonu yoluyla hücreye tutunma ve penetrasyonunda önemli bir faktör olarak bilinir. BvrR/BvrS sistemi, Omp25

(Omp3a olarak da bilinir) ve Omp22 (Omp3b) gibi çeşitli hücre yüzeyi proteinlerinin ekspresyonunu sağlar. Bu değişen yüzey proteini ekspresyonunun, bakterinin lizozomal yoldan kaçarken konak hücrelere bağlanmasına ve hücre içine nüfuz etmesine olanak tanıdığı düşünülmektedir. Lipopolisakkarid (LPS) yapısı; sadece O-zinciri sayesinde değil, aynı zamanda çekirdeği ve lipid A'nın yapısı aracılığıyla da antimikrobiyal saldırılardan koruyucu bir kalkan görevi görür. Bakterinin patojen ilişkili molekuler paternleri (PAMP), immün reseptörlerin tanınmasını engelleyerek, konak hücreyi bir patojenin varlığına karşı uyarıcı tehlike sinyallerini bozar. LPS'nin neden olduğu düşük endotoksik aktivitelerinin, brusellanın hücre içi hayatta kalmasında rol oynayan bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Brusellozun kronikleşmesi ve konak hücrede kalıcılığı bu şekilde açıklanabilir. Bu nedenle, LPS yapıları gelecekteki aşılarda için hedef seçilebilecek virülans faktörleri olarak değerlendirilmektedir (41, 42).

Biyokimyasal ve genetik yaklaşımlar şimdiye kadar birkaç yeni virülans faktörünü belirlemiştir. Brusella'nın metabolik yeteneğinin tam bir resmi; yeni taramalardaki genlerin (örneğin, 16M genomunun 3,25 milyon baz çiftli DNA sekansı hipotezleri) virülans rolünü anlamamıza yardımcı olacak ve yeni antibiyotikler için yeni hedefler belirlememize olanak tanıyacaktır. Benzer şekilde, DNA aşılarda rasyonel aşı tasarımı için potansiyel yeni hedefler belirlenecektir (43).

2.6. İmmünite

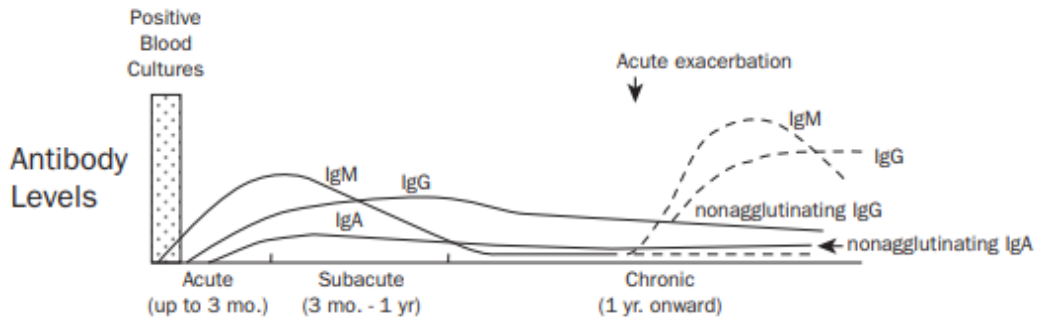
Brusella bakterisi, vücudumuza girdikten sonra makrofajlar ve nötrofiller tarafından hızla fagosite edilir. Ancak brusella daha önce anlatılan çeşitli mekanizmalar sayesinde hem nötrofillerin hem de makrofajların içinde hayatta kalmayı başarır. Bu sayede, bu hücreler aracılığıyla RES organlarına taşınır. Brusella bakterisi ile ilk temas gerçekleştiğinde, doğal bağışıklık yanıtı olarak yardımcı T hücreleri 1 (Th1) spesifik hücresel bağışıklık yanıtı gelişir. Bu yanıtın amacı, ilk aşamada bakteri sayısını mümkün olduğunca azaltmaktır (44, 45).

Brusella, henüz tam olarak tanımlanmamış bağlanma molekülleri aracılığıyla sialik asit ve sülfatlanmış kalıntılar içeren epitelyum hücre zarı reseptörlerine tutunur. Bu bağlanma, küçük GTPazların aktivasyonunu tetikler. Brusella, epitelden geçtikten sonra mukozal fagositik hücreler tarafından fagosite edilir. Bu süreçte, bazı toll like reseptörlerden (TLR) özellikle TLR-2, TLR-4 ve TLR-9, inflamatuvar sitokin genlerinin ekspresyonunu düzenlemek amacıyla nükleer faktör kappa B transkripsiyon faktörünü aktive eden hücre içi sinyalleri

başlatır. Otofaji, TLR sinyal yolu ve interferon (IFN) gama gibi Th1 sitokinlerinin salgılanmasıyla tetiklenir. TLR'leri LPS gibi patojenle ilişkili moleküler paternleri tanır ve majör histokompatibilite kompleksi (MHC) I ve II'nin yukarı regülasyonunu aktive ederek brucella enfeksiyonunun kontrolünde önemli bir rol oynar. TLR sinyal yolu, TNF- α , interlökin (IL) 12, IL-16, IL-1 β ve tip I IFN gibi proinflatuar sitokinlerin üretilmesini sağlar. TLR'ler, başkalaşım kümesi (cluster of differentiation, CD) 86 ve CD80 ekspresyonunu uyararak doğal ve adaptif bağışıklık yanıtları arasında bir bağlantı kurar (46).

Brucella enfeksiyonlarına karşı adaptif immün yanıt da önemli bir rol oynamaktadır. Bu yanıt üç ana grupta incelenebilir. İlk olarak, başta CD4 ve CD8 olmak üzere birçok hücre tarafından interferon gamma (IFN- γ) salınımı gerçekleşir. Bu mekanizma, makrofajların öldürme yeteneklerini harekete geçirerek Brucella bakterisini hücre içinde etkisiz hale getirir. İkinci olarak, enfekte olmuş makrofajların, sitotoksik CD8 ve gamma delta ($\gamma\delta$) T hücreleri tarafından öldürülmesi vardır. Bu yolla, işlevsiz hale gelmiş makrofajlar yok edilerek sitoplazmada bulunan bakterilerin çoğalma olasılığı ortadan kaldırılmaya çalışılır (47).

Hücrel immün yanıt iyileşme sürecinde etkili olurken, humoral immünglobulinler (Ig) brucelloza karşı koruyucu bir rol oynar. Enfeksiyonun ilk haftasında IgM antikorları, ikinci haftasında ise IgG antikorları yükselmeye başlar. Enfeksiyonun üçüncü ayında IgM, ikinci ayında ise IgG antikorları en yüksek seviyelerine ulaşır. IgG antikor düzeyleri, IgM antikor düzeylerine göre daha hızlı bir şekilde azalır. Başarılı bir tedavi ile birlikte, 4 haftalık bir artışın ardından antikor seviyeleri düşmeye başlar. Aktif enfeksiyon ortadan kalksa bile, IgM antikorları aylarca hatta yıllarca düşük titrede pozitif kalabilir (48) (şekil 2.3).



Şekil 2.3. Tedavi edilmemiş brucellozda antikor cevapları (18).

2.7. Klinik

Bruselloz genellikle yavaş başlayan ateş, halsizlik, gece terlemeleri ve eklem ağrılarıyla kendini gösterir (49).

Hastalık, akut, subakut, kronik ve subklinik formlar gibi klasik formlarda görülebilen, bazı araştırmalarda metabruselloz ve brusella alerjisi kavramları da tanımlanmıştır (9, 50). Bruselloz ateş, myalji, artralji, baş ağrısı, bel ağrısı, iştahsızlık, huzursuzluk, kilo kaybı, terleme gibi spesifik olmayan semptomlarla kendini gösterir. Hastalık ani bir başlangıç yapabileceği gibi, yavaş ilerleyen bir şekilde de başlayabilir ve belirtiler genellikle 2-4 hafta içinde ortaya çıkar. Tedavinin geciktiği hastalarda ondulan ateş paterni genellikle görülür. Semptomların şiddeti ne olursa olsun, depresyon ortaya çıkabilir; bazı hastalarda ağız kokusu değişikliği ve kötü kokulu terleme de gözlemlenebilir. Hastalarda genellikle splenomegali (%51), osteoartiküler tutulum (%42), servikal lenfadenit (%31), hepatomegali (%25) gibi bulgular saptanır ve bu bulgular, bölgelere göre farklılık gösterebilir (51).

Hastalık, semptomatik veya asemptomatik olarak ilerleyebilir. Semptomların süresine bağlı olarak bruselloz, akut (<2 ay), subakut (2-12 ay) ve kronik (>12 ay) olarak sınıflandırılır (24).

Akut bruselloz, brusellozun tipik formudur. Bu formda ateşe genellikle halsizlik, terleme, baş ağrısı, bel ağrısı, kilo kaybı, artralji veya miyalji eşlik edebilir. Hastaların yaklaşık %85'inde 38,5°C'nin üzerinde ateş görülür. Hepatomegali ve splenomegali %6-35 oranında ortaya çıkabilir. Fokal tutulum da görülebilir ve en sık artrit olarak kendini gösterir (24).

Subakut bruselloz, genellikle yanlış tanı nedeniyle uygunsuz antibiyotik tedavisi almış ya da bruselloz tedavisini eksik tamamlamış hastalarda görülen bir formdur. Semptomlar genellikle hafiftir ve fokal tutulum görülebilir. Bu durum, nedeni bilinmeyen ateşin önemli bir sebebi olarak karşımıza çıkar (24).

Kronik bruselloz, kronik yorgunluk sendromuna benzer bir klinik tablo sergiler. Psikonevroz, terleme ve kilo kaybı görülebilir, ancak ateş nadiren eşlik eder. Lokalize enfeksiyonlar ortaya çıkabilir ve üveit, episklerit gibi gözle ilgili semptomlar daha sık görülür. Semptomlar uzun bir süre sonra yeniden ortaya çıkabilir. Bu hastalarda önemli laboratuvar bulgusu, IgG antikorlarının yüksek seviyelerde kalmaya devam etmesidir (24, 52).

2.7.1. Relaps

Brusellozda relaps, tedavinin tamamlanmasından sonraki ilk bir yıl içinde hastalığın semptom ve bulgularının tekrar ortaya çıkması ya da yeni bir pozitif kan kültürü ile tanı konulması olarak tanımlanır. Yapılan çalışmalarda relaps oranlarının kullanılan tedavi rejimine bağlı olarak değiştiği ve yaklaşık %5 ila %15 arasında olduğu gösterilmiştir. Genellikle tedavinin tamamlanmasından sonraki ilk altı ay içinde görülür ve ilk ataktan daha hafif bir klinik seyrin yaşanması eğilimindedir. Kişinin tamamen iyileştikten sonra yeni bir suşla enfekte olması olarak tanımlanan reenfeksiyonla relapsın ayırımı yapmak zordur. Relaps vakalarında, klinik ve laboratuvar bulguları genellikle ilk hastalığa göre daha hafif seyreder. Relapslar çoğunlukla antibiyotiklere dirençli suşlardan kaynaklanmaz; çoğunlukla tedaviye uyumsuzluk sebebiyle ortaya çıkar. Lokalize enfeksiyonun yetersiz süre tedavi edilmesi, uygunsuz antibiyotik kullanımı ve mikrobiyal virulans faktörleri diğer relaps sebepleri arasında yer alır (38, 53).

2.7.2. Komplikasyonlar

Bruselloz, yüksek morbiditeye ancak düşük mortaliteye sahip bir zoonoz hastalıktır. Vücutta hemen her sistemi etkileyebilmesine rağmen, en sık etkilenen sistemler kas-iskelet ve gastrointestinal sistemlerdir. Merkezi sinir sistemi, ürogenital sistem, hematolojik sistem, kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, gözler ve deri daha az sıklıkla etkilenir. Bazı kaynaklar, komplikasyonları lokalize enfeksiyonlar olarak ayrı bir klinik formda değerlendirmektedir (54).

2.7.2.1. Osteoartiküler Sistem

Brusellozda osteoartiküler tutulum çeşitli şekillerde olabilir; bunlar arasında sakroileit, spondilit, periferik artrit, osteomiyelit, bursit ve tenosinovit bulunur (9). Bu tutulumlardan en yaygını %80 oranıyla sakroiliak eklem etkilenirken, spinal eklemler %54'e kadar varan oranlarda etkilenir. Spinal tutulumda en sık rastlanan komplikasyonlar spondilit ve spondilodiskittir. Spondilodiskit, brusellozun osteoartiküler tutulumunun en ağır formudur ve tek veya çok odaklı enfeksiyonlar görülebilir. Lomber vertebralar, torakal ve servikal vertebralardan daha sık etkilenir ve bu durum genellikle paravertebral, epidural ve psoas apseleriyle ilişkilidir. Spondilit çoğunlukla tedavi sonrası kalan kalıcı hasarla ilişkilidir.

Epidural apse, spinal brusellozun nadir bir komplikasyonu olup, tedavi edilmediğinde kalıcı nörolojik hasarlara ve hatta ölüme yol açabilir (5, 55).

2.7.2.2. Gastrointestinal Sistem

Bazı durumlarda, gastrointestinal sistemdeki tutulumlar brusellozun tek başvuru nedeni olabilir. Bu tutulumlar, hafif belirtilerden (ishal, kusma) ciddi komplikasyonlara (karaciğer, dalak ve safra kesesi tutulumu) ve nadiren hayatı tehdit eden durumlara (kolit, pankreatit, peritonit, intestinal obstrüksiyon) kadar geniş bir klinik tablo yelpazesi sunabilir. Hepatomegali, gastrointestinal sistemde en sık rastlanan klinik bulgudur. Bu klinik tabloların erken teşhis edilip bruselloz ile ilişkilendirilmesi önemlidir çünkü erken başlanan antibiyoterapi ile tam iyileşme sağlanabilir ve sekelsiz bir iyileşme sağlanabilir (56). Dalak ve karaciğerde büyüme gözlemlenebilir, bu genellikle apse nedeniyle olabilir. Karaciğer enzimlerinde yükselme birçok hastada görülür ve izlenmesi tavsiye edilir. Ayrıca, hastalarda kolesistit, ileit, kolit ve pankreatit de görülebilir; ancak assit nadirdir ve genellikle eksuda formunda olur (57).

2.7.2.3. Nörolojik Sistem

Brusellozda depresyon ve dikkat eksikliği sık görülen şikayetlerdir, ancak santral sinir sisteminin doğrudan etkilenmesi vakaların %5'inden daha azında görülür. Nörolojik komplikasyonlar hastalığın her aşamasında ortaya çıkabilir. Klinik tablolar genellikle akut veya kronik menenjit, ensefalit, meningovasküler sendromlar, beyin apsesi, epidural apse, periferik nöropati ve poliradikülonörit şeklindedir. Menenjit vakalarında BOS analizinde lenfositik pleositoz, protein artışı ve düşük ya da normal glukoz seviyeleri gözlemlenir. Tanı genellikle BOS'ta spesifik antikorların varlığı ile konur. Gram boyama genellikle negatif sonuç verir ve vakaların %25'inden daha azında kültür pozitifliği görülür (58)

2.7.2.4. Kardiyovasküler Sistem

Brusellozda endokardit, tüm vakaların yaklaşık %1-11'inde görülen ciddi bir komplikasyondur. Tanı koymak zordur çünkü endokardit şüphesinde bile rutin kan kültürlerinde patojen bulunamayabilir. Genellikle sol taraf tutulumu beklenir; aortik kapak en sık etkilenen kapaktır ve aortik apseye kadar ilerleyebilir. En sık gözlemlenen klinik belirtiler ateş, kalp üfürümü, karaciğer ve dalak büyümesidir. Brusella endokarditi, semptomların başlamasından 3 ay ila bir yıl sonra doğal kapak dejenerasyonuna yol açar ve kalp yetmezliği

ile sonuçlanabilir. Komplikasyonlar arasında anevrizmalar, aort diseksiyonu, ventriküler anevrizmalar ve miyokardiyal apseler bulunabilir. Brusellozun mortalitesi endokardial tutulum olduğunda görülür (59). Diğer endokardit etkenlerinin aksine, brusellozun teşhis ve tedavisinde zorluklar yaşanabilir. Aort kapağı dışında, mitral kapak da sıklıkla etkilenir. Başarılı bir tedavi için erken cerrahi ve medikal tedavinin birlikte uygulanması önerilmektedir (60).

2.7.2.5. Hematopoetik Sistem

Brusellozda hematolojik sistemle ilgili çeşitli laboratuvar anormallikleri gözlemlenmiştir. Anemi, lökopeni, lökositoz, trombositopeni, trombositoz ve pansitopeni oldukça yaygındır. Bu hematolojik değişikliklerin nedenleri arasında hemofagositoz, hipersplenizm, kemik iliği hipoplazisi, kemik iliğinde granülom oluşumu ve immün yıkım yer alır (38). Bruselloza bağlı hipersplenizm, hematolojik komplikasyonların şiddetini artırabilir. Nadir durumlarda, açıklanamayan kılcak geçirgenlik artışı olarak tanımlanan masif kanama veya kılcak sızıntı sendromu gelişebilir ve bu durum lenfomayı taklit edebilir (37, 38).

2.7.2.6. Genitoüriner Sistem

Genitoüriner tutulum, bruselloz vakalarının yaklaşık %10'unu oluşturur ve erkeklerde daha sık görülür. Erkeklerde en yaygın olarak epididimoorşit, kadınlarda ise piyelonefrit şeklinde kendini gösterir. Daha nadir durumlarda renal apse, testiküler/skrotal apse, prostatit, glomerulonefrit ve tuboovaryan apse gözlemlenebilir. Genitoüriner tutulum, brusellozun cinsel yolla bulaşma olasılığını artırabilir ve enfarktüs, apse, testis kaybı, infertilite, düşük ve fetal ölüm gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir (61).

2.7.2.7. Respiratuvar Sistem

Brusellozda pulmoner tutulum, enfekte aerosollerinin solunması veya hematojen yayılım sonucu ortaya çıkar. Hastalığın seyrinde pulmoner tutulum oldukça nadirdir. Bu durum; pnömoni, ampiyem, plevral efüzyon, soliter nodüller, pnömotoraks, pulmoner

emboli ve paratrakeal lenfadenopati gibi klinik bulgularla kendini gösterebilir. Ciddi komplikasyonlara nadiren neden olur ve sıklıkla standart bruselloz tedavisine yanıt verir (62).

2.7.2.8. Diğer Komplikasyonlar

Brusellozun klinik sürecinde cilt bulguları nadiren ortaya çıkar ve hastaların yaklaşık %6'sında görülür. Bu bulgular arasında yaygın makulopapüler döküntü, purpura, eritema nodozum ve kutanöz vaskülit bulunabilir. Özellikle alt ekstremitelerde görülen eritemli papulonodüler lezyonlar, brusellozun en sık ve tipik cilt bulgularıdır. Cilt bulguları genellikle tedaviye olumlu yanıt verir (63).

Brusellozda oküler tutulum ise nadir görülen bir komplikasyondur. Oftalmik sorunlar arasında en sık üveit görülür. Diğer oküler komplikasyonlar arasında keratit, iridosiklit, optik nörit, papil ödemi, kornea ülseri, endoftalmi, koroidit ve katarakt bulunmaktadır. Bu sorunlar sistemik semptomlarla birlikte ya da tek başına ortaya çıkabilir. En yaygın semptom bulanık görmedir. Tedavi sürecinde, bruselloz tedavisi ile birlikte yerel ve sistemik steroid tedavisinin de önemli bir rolü vardır (64).

Deri tutulumu bruselloz vakalarının %5'inde görülür. Başlıca cilt belirtileri arasında papül, eritem, peteşi, ürtiker, eritema nodozum, impetigo ve kutanöz vaskülit gibi nonspesifik bulgular yer alır. Bu komplikasyonlar, doğrudan inokülasyon, immün kompleksler, hematojen yayılım ve ciddi trombositopeni gibi nedenlerle oluşabilir. Genellikle hafif bir seyir izler ve ilaç reaksiyonlarıyla karıştırılabilir. Ayrıca, doğrudan temas eden mesleklerde kontakt dermatit de ortaya çıkabilir (65).

2.8. Tanı

T.C. Sağlık Bakanlığı'na göre vaka tanımı şu şekilde yapılmaktadır: Hayvancılıkla uğraşma, mesleki temas ya da enfekte hayvanlardan elde edilen ürünlerin (örneğin süt ve süt ürünleri) tüketilme öyküsü ile birlikte, ani ya da sinsi başlangıçlı, devam eden ya da değişken süreli, aralıklı veya düzensiz ateş, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı, baş ağrısı, özellikle geceleri yoğun terleme, yaygın kas ve eklem ağrıları gibi belirtilerle kendini gösteren bir hastalıktır (66). Vaka sınıflaması kesin ve olası vaka olarak ayrılmıştır (Tablo 2.2.)

Tablo 2.2. TC Sağlık Bakanlığı'na Göre Bruselloz Vaka Sınıflaması

Olası Vaka	Kesin Vaka
Klinik tanımlamaya uyan ve destekleyici laboratuvar kriteri pozitif bulunan vaka	Klinik tanımlamaya uyan ve doğrulayıcı laboratuvar kriterlerinden en az biri pozitif olan vaka
Destekleyici kriter	Doğrulayıcı kriterler
Serum örneklerinden Rose-Bengal testi ile antikor pozitifliği	- Klinik örneklerden <i>Brucella spp</i>'nin izolasyonu, - Daha önce tedavi almamış bir olguda tek serum örneğinde STA ile antikor titresinin $\geq 1:160$ olması, - En az iki hafta ara ile alınan çift serum örneğinde brucella STA titresinin ≥ 4 kat artışı

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerine (CDC) göre vaka sınıflaması ve laboratuvar kriterleri tablo 2.3 ve 2.4'te almaktadır (18).

Tablo 2.3. CDC'ye Göre Bruselloz Vaka Sınıflaması (18)

Olası Vaka	Kesin Vaka
Aşağıdakilerden en az biriyle beraber klinik olarak uyumlu hastalık	Bruselloza ait kesin laboratuvar kanıtı ile birlikte klinik olarak uyumlu hastalık
- Doğrulanmış bir insan veya hayvan brusellozu vakasıyla epidemiyolojik olarak bağlantı olması - Bruselloza ait varsayımsal bir laboratuvar kanıtı olması	

Tablo 2.4. CDC'ye Göre Bruselloz Laboratuvar Kriterleri (18)

Varsayımsal laboratuvar kriterleri	Kesin laboratuvar kriterleri
- Semptom başlangıcından sonra alınan STA veya <i>Brucella</i> mikroaglutinasyon testlerinde 1/160 ve üzeri titre saptanması - Herhangi bir klinik örnekte <i>Brucella</i> deoksiribonükleik asitinin (DNA) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile tespiti	<i>Brucella</i>'nın herhangi bir klinik numuneden izole edilmesi 2 hafta arayla alınan akut ve konvelesan dönem serum numuneleri antikor titrelerinde 4 kat veya daha fazla artış saptanması

Brusellozun laboratuvar tanısı, üç farklı mikrobiyolojik yöntem kullanılarak yapılabilir. Bunlar, doğrudan kültür yöntemiyle tanı, moleküler PCR tabanlı yöntemlerle hızlı tanı ve serolojik testlerle dolaylı teşhistir (67).

2.8.1. Direkt Tanı Yöntemleri

2.8.1.1. Kültür

Kültür pozitif olduğunda, brusellozun kesin tanısı konulabilir ve bu yöntem, laboratuvar tanısında altın standart olarak kabul edilir. Ayrıca, kültür yöntemi, antibiyotiklere karşı duyarlılığın belirlenmesine ve bakterinin tür tayinine olanak tanır. Kültür için alınan bakteriyolojik örnekler iki saat içinde ekilmelidir, eğer bu süre zarfında ekim yapılamayacaksa, 4-10°C arasında saklanmalıdır. En sık kullanılan örnekler kan ve kemik iliği kültürleridir; kemik iliği kültürü, periferik kan kültürlerine göre %15-20 oranında daha yüksek bir verim sunar (68). Ancak, kültür testlerinin yanlış negatifliği sık rastlanan bir durumdur, özellikle nörobrusellozda yanlış negatiflik oranı daha da yüksektir (69).

Brucella türlerinin tespitinde manuel monofazik ve bifazik (Ruiz-Castaneda) yöntemler ile lizis santrifüjasyon gibi farklı kan kültürü yöntemleri kullanılmıştır. Son yıllarda, daha etkili oldukları düşünüldüğü için Becton Dickinson'dan Bactec 9000 veya Bactec FX serisi ile bioMérieux'ten BacT/Alert kan kültürü sistemi gibi otomatik yeni nesil kan kültürü sistemleri daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu yeni sistemler, kan kültürlerinin duyarlılığını artırarak *Brucella* türlerinin izolasyon süresini kısaltmıştır. Otomatik kan kültürü sistemlerinde standart inkübasyon süresi 5 gün kadar kısa olabilirken bakterinin yavaş üremesi göz önüne alındığında bu sürenin 7 güne kadar uzatılması önerilmektedir (67).

Son yıllarda, mikrobiyoloji laboratuvarlarında matris destekli lazer desorpsiyon-uçuş süresi kütle spektrometresi (MALDI-TOF-MS) teknolojisi kullanılmaya başlanmıştır. Bu cihazlar sayesinde, bakteri türleri doğru, tekrarlanabilir, hızlı ve düşük maliyetle tanımlanabilmektedir. Ayrıca, deneyimli personel gerektirmemesi ve basit bir teknikle yapılabilmesi, yoğun laboratuvar ortamlarında tercih edilmesini sağlamaktadır. Bakteri tanımlamada maliyet avantajlı olmasına karşın, cihazların yüksek maliyeti nedeniyle brusellozun yaygın olduğu birçok bölge için bu teknolojiye ulaşmak zor olmaktadır (70).

Brucella bakterisi dalak, karaciğer biyopsisi, apseler, eklem sıvısı ve BOS örneklerinden izole edilebilir (71, 72).

Brucella bakterilerinin RES'te yerleşmeleri nedeniyle kemik iliği, karaciğer ve lenf bezlerinden izole edilmeleri daha kolaydır. Periferik kan kültürleri negatif sonuçlanan bruselloz vakalarının %20'sinde kemik iliği kültürlerinin pozitif olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, kemik iliği kültürleri antibiyotik kullanımından daha az etkilenir ve pozitif sonuç alma süresi kan kültürlerine göre daha kısadır (73).

2.8.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Sensitivitesi ve spesifitesi %90'ın üzerinde olan bu testler, hızlı sonuç vermesi, suş ve tür ayırımı yapabilmesi, her türlü dokuda ve beyin omurilik sıvısında uygulanabilmesi nedeniyle tanı koyulamamış hastalarda yararlı bir yöntemdir. Ayrıca, tedaviye yanıtın ve morbiditenin tespit edilmesinde, hastalığın aktif veya inaktif evrelerinin ayırt edilmesinde, suş, biyovar ve genotip farklarının saptanmasında, özellikle rifampisin direnci gösteren genlerin belirlenmesinde, nüks vakalarının tespitinde, aşıyla ilgili komplikasyonların ortaya çıkarılmasında ve etkenin tanımlanmasında kullanılır. Moleküler yöntemler, brusellozun tespiti için süt, yoğurt gibi gıda ürünleri ve çevresel numunelerde de kullanılabilir (74, 75).

2.8.1.2.1. PZR-Restriction Fragment Length Polimorfizm (PZR-RFLP)

Türe özgü RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), *Brucella* türlerini ve biyovarlarını ayırt etmek için yeterli polimorfizm sunar. Bu yöntem, çeşitli organizmaların DNA'larının restriksiyon enzimleri (DNA'ya bağlı endonükleazlar) kullanılarak kesilmesiyle tür ve suşlara özgü uzunluklarda DNA parçalarının oluşmasını sağlar. Restriksiyon enzimleri, dört ile sekiz nükleotid uzunluğundaki belirli palindromik dizileri tanır ve bu bölgelerde her iki DNA zincirinin fosfodiester bağını hidrolize eder. Elde edilen DNA parçaları daha sonra jel elektroforezi ile boyutlarına göre ayrılır (76).

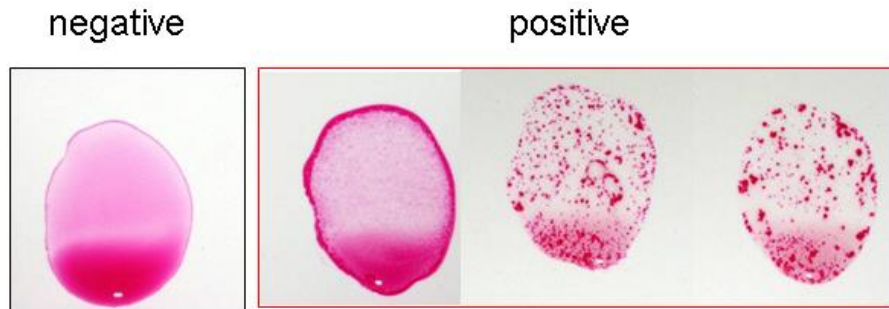
PCR-RFLP testinin birkaç avantajı ve dezavantajı vardır. Avantajları arasında hızlı, kolay uygulanabilir, maliyet açısından uygun olması ve deneyimli laboratuvar personeline ihtiyaç duyulmaması yer alır. Dezavantajları ise spesifik restriksiyon enzimlerine ihtiyaç duyulması ve testin DNA dizilimindeki varyasyonları tam olarak tanımlayamamasıdır (77).

2.8.2. İndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler)

Hastaların serumunda spesifik antikorları tespit etmeye yönelik serolojik testler, dolaylı yoldan tanı koymayı sağlar ancak bu testlerin en büyük dezavantajı, spesifitelerinin düşük olmasıdır. Özellikle Brusella'ya tekrar maruz kalan hastalarda, aktif bir enfeksiyon ile geçmişteki enfeksiyonları ayırt etmek zor olabilir. Serolojik testler, hastalığın erken dönemlerinde düşük sensitivite gösterir ve diğer bakterilerle çapraz reaksiyonlar nedeniyle yeterince spesifik olmayabilir. Yanlış negatif sonuçların başlıca sebepleri arasında prozon etkisi, düşük afiniteli antikorlar ve *B. canis* kaynaklı enfeksiyonlar bulunur. Bu sınırlamalara rağmen, serolojik testler, endemik bölgeler ve düşük-orta gelirli ülkelerde bruselloz tanısında temel yöntemlerden biridir çünkü yüksek negatif prediktif değeri sunar ve maliyeti düşüktür (67, 70).

2.8.2.1. Rose Bengal Testi (RBT)

RBT (Rose Bengal Testi), pH'ı 3,65 olacak şekilde tamponlanmış, Rose Bengal boyasıyla renklendirilmiş inaktif *B. abortus* 1119-3 suşunun %8'lik süspansiyonunun kullanıldığı bir aglütinasyon testidir (78). Genellikle tarama testi olarak uygulanır. Çoğu çalışmada, bu testin duyarlılığı %90'ın üzerinde bildirilmiştir, ancak özgüllüğü düşüktür. Antikoru olan hasta serumunda aglütinasyon ile çökelek oluşması prensibine dayanır (şekil 2.4) (79).



Şekil 2.4. Rose Bengal testi sonuçları (80)

Akut brusellozlu hastaların tanısında genellikle nispeten iyi sonuçlar verirken, kronik ve komplikasyonlu vakalarda yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir (72).

2.8.2.2. Mikroaglutinasyon

Bu yöntem, mikrotitre plakalarda uygulanan minyatürleştirilmiş bir STA formatıdır. Daha küçük hacimlerde serum ve reaktif kullanılması sayesinde, STA'ya kıyasla aynı anda daha fazla numunenin test edilmesi avantajını sunar. Akut brucelloz vakalarında tanı koymak için iyi bir seçenek olsa da, kronik ve komplike olgularda yanlış negatif sonuçlara yol açabilir (72).

2.8.2.3. Spot Test

Spot test, esas olarak toplu taramalar için kullanılan ve tam kan örneği ile gerçekleştirilen bir lam aglütinasyon testidir. Rose Bengal testi gibi hızlı aglütinasyon testleri grubuna girer ve pozitif sonuç elde edildiğinde, doğrulama amacıyla serum tüp aglütinasyon testi yapılması önerilir (81).

2.8.2.4. Brucellergen Deri Testi

Bu tarama testi, saflaştırılmış *Brucella* bakterilerinden elde edilen bir solüsyonun deri altına enjekte edilmesiyle uygulanır. Enjekte edilen madde bir nükleoprotein kompleksidir ve enjeksiyondan 1 gün sonra uygulama bölgesinde kızarıklık, sertlik ve ödem olursa test sonucu pozitif kabul edilir (82).

2.8.2.5. Serum Tüp Aglutinasyonu (STA)

Serum tüpaglutinasyonu (STA), 1897 yılında Wright ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir ve serum aglütinasyon testi, tüp aglütinasyon testi veya Wright testi gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Brusellozun serolojik tanısında dünya genelinde en sık kullanılan yöntem olup, yaklaşık bir asırdır referans test olarak kabul edilmektedir. Test, *B. abortus* S99 kolonilerinden elde edilen ve ısı ile öldürülmüş fenol çözeltilisinden türetilmiştir. Hastanın serumu ile ardışık dilüsyonlar yapılarak test edilir. Serumda *Brucella* antikorları (IgG, IgA ve IgM) varsa testteki *B. abortus*'un LPS'lerine karşı tepki verecektir. *B. abortus*, *B. suis* ve *B. melitensis*'in LPS yapılarındaki benzerlik nedeniyle, bu testte kullanılan antijen, bu bakterilere karşı üretilen antikorlarla aglutine olur ancak *B. canis* bu reaksiyonu göstermez. *B. canis* enfeksiyonlarının serolojik tanısında, özel tür antijenlerinin kullanılması gerekir. Ayrıca, testin negatif çıkması durumunda klinik şüphe devam ediyorsa Coombs testi yapılması önerilir (6, 71).

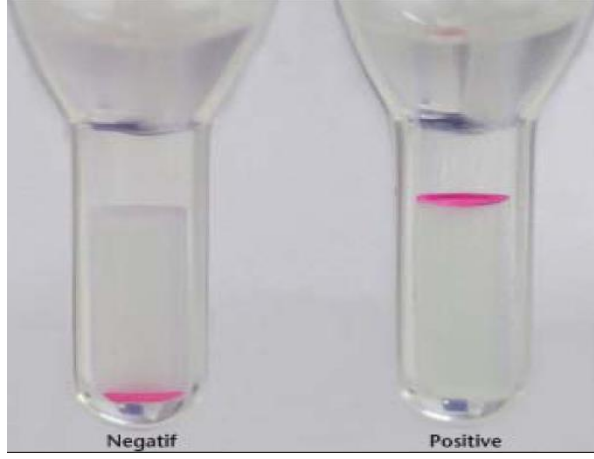
2.8.2.6. Coombs Testi (CT)

Diğer serolojik testlerin negatif sonuçlandığı ve klinik olarak brücelloz şüphesinin devam ettiği durumlarda, Coombs testi yapılması yalancı negatiflik ihtimalini azaltır. Bu test, genellikle blokan veya aglütinasyon yapmayan antikorları tespit etmek amacıyla, SAT'ın bir uzantısı niteliğindedir. "Bloke edici" veya "blokan" antikorlar olarak adlandırılan bu durum, antikorların antijenlere bağlandığı halde aglütinasyon reaksiyonunu engelleyen bir mekanizma nedeniyle ortaya çıkar. Bu antikorların varlığında antijen-antikor birleşmesi gerçekleşir fakat aglütinasyon oluşmaz. Bu tür durumlarda, Coombs serumu (antihuman globulin) kullanılarak gerçek seropozitiflik ortaya çıkarılabilir. Coombs reaktifi, antikorlar arasında köprüler kurarak yanlış negatif sonuçların önüne geçilmesini sağlar. Hem hastalığın erken hem de geç dönemlerinde, özellikle yüksek antikor titreli serumlarda, prozon olayı ve diğer bloke edici fenomenler nedeniyle yanlış negatif sonuçlar görülebilir. Prozon olayı, blokan antikorlardan kaynaklanabileceği gibi ortamda antijen ve antikorların eşit miktarda olmamasından da kaynaklanabilir. Özellikle serum yüksek antikor titresi içerdiğinde aglütinasyon düşük serum dilüsyonlarında gizlenebilir. Bu duruma "antikor fazlalığı zone" veya "prozon" denir ve serum örneklerinin daha yüksek dilüsyonları ile çalışılarak prozon olayı engellenebilir. Nüks eden ve kronik brücelloz vakalarında, antikor titrelerindeki küçük değişiklikleri en iyi tespit eden serolojik yöntemdir ancak uygulaması yoğun emek gerektirir (19, 83).

2.8.2.7. Bruselloz Coombs Jel Testi (BCGT) (Odak Testi)

BCGT, aglütinasyona dayanan yeni ve hızlı bir testtir. Testin işleyişi, anti-human globulin (Coombs antikor) içeren kuyucuklara jel matriksi eklenerek yüksek devirde santrifüj yapılması prensibine dayanır. Bu işlem sayesinde blokan antikorlar bağlanır ve sonuçlar çıplak gözle değerlendirilebilir. Antikorların bulunmadığı durumlarda pembe renkteki antijenler jel kart sisteminin tabanında çökelir. Pembe renkli *Brucella* antijen-antikor kompleksinin jelin üst kısmında görülmesi pozitif, alt kısmında ise negatif sonuç olarak kabul edilir (Şekil 2.5.) (84).

BCGT, *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis* türleriyle reaksiyon göstermektedir ve Coombs testi ile %99 oranında uyumluluk sağlar. Hem tarama hem de titrasyon amacıyla kullanılabilir. Uygulaması kolay olup, yaklaşık 120 dakika gibi kısa bir sürede sonuç vermesi ve ekonomik olması testin avantajlarından (84). Testin duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %82,2 olarak tespit edilmiştir (85). Bu umut vaat eden testin rutin kullanıma girebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (84, 85).



Şekil 2.5. *Brucella commbs* jel testinin değerlendirilmesi (84).

2.8.2.8. Kompleman Fiksasyon (KF) Testi

KFT, bruselloz tanısında en hassas ve en özgül konvansiyonel serolojik yöntem olduğundan doğrulama testi olarak kabul edilmektedir. STA testinin yetersiz kaldığı ya da negatif sonuç verdiği inkübasyon dönemi, ileri kronik aşamalar veya aşılama durumlarında KFT önemli bir tanı aracıdır (86). Özellikle hastalığın ileri evrelerinde veya kronik seyirli vakalarda baskın olan IgG antikorlarını tespit etmek için kullanılır (87)

2.8.2.9. Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) ve 2-Merkaptoetanol'lü (2-ME) Aglütinasyon Testi

Klasik STA testinde hangi sınıfa ait immünoglobulinlerin saptandığı belirlenemez. Asıl önemli olan, hastalığın aktif olarak devam ettiğini gösteren IgG antikorlarının varlığını tespit edebilmektir. Sadece IgG antikorlarının seviyesini ölçebilmek amacıyla, IgM'nin 2-merkaptetanol (2-ME) ve rivanol hassasiyetinden yararlanır. Bu testler, IgM pentamer yapısındaki disülfid bağlarının indirgenmesine dayanır; serum bu maddelerle işleme tabi tutulduğunda IgM aglütinasyon yeteneğini kaybederken, IgG bu durumdan etkilenmez. STA, aglütinasyon yapan tüm antikorların (IgG ve IgM) toplamını ölçerken, bu testler yalnızca IgG miktarını tespit etmek için kullanılır (71). Bu maddelerle işlenmiş serumlarla yapılan aglütinasyon testlerinde pozitif sonuç alınması, IgG antikorlarının varlığına işaret eder ve hastalığın kronikleştiği anlamına gelir. STA ve bu testlerin birlikte kullanılması, akut vakaların tanımlanmasında ve hastalığın izlenmesinde önemli rol oynar (88).

2.8.2.10. Immunocapture Aglutinasyon Testi (ICA, Brucellacapt Testi)

Standart aglutinasyon testlerinin en büyük dezavantajlarından biri, uzun zaman alması ve yoğun iş gücü gerektirmesidir. ICA ise bu süreçte avantaj sağlar; özel cihazlar ya da eğitilmiş laboratuvar personeli gerektirmez ve sonuçlar 24 saat içinde alınabilir. Testin uygulanışı, human antiglobulin ile kaplanmış U tabanlı mikrotitre plakalarına 0,050 ml serum dilüsyonu ve 0,050 ml *Brucella melitensis* antijeni eklenerek, 37°C’de karanlık ve nemli ortamda 24 saat boyunca inkübe edilmesi şeklindedir. Plaka dibinde görülen aglutinasyonlar pozitif olarak değerlendirilirken, merkezde topaklaşma varsa test sonucu negatif kabul edilir (89).

ICA, Coombs testi ile karşılaştırıldığında daha duyarlı olup, daha yüksek antikor titresi seviyelerinde pozitif sonuçlar verir. Tanısal etkinliği açısından ise Coombs testi ile benzer sonuçlar sunmaktadır (89).

Başarılı bir tedavi sonrasında Brucellacapt testi titrelerinde belirgin bir azalma görülürken, yeniden enfeksiyon (reenfeksiyon) ya da hastalığın nüks etmesi (relaps) durumlarında ise test titrelerinde 2 ila 5 kat arasında bir artış meydana gelmektedir (70).

2.8.2.11. Floresan Polarizasyon Testi (FPA)

Bu testin yapılış prensibi, antijen-antikor kompleksinin florokrom ile tespit edilmesine dayanır. Florokromla işaretlenmiş çözeltideki çözünür antijen-antikor kompleksi, antijen bileşiği ile arasındaki dönüşümsel değişikliklere göre çalışır. Antijen-antikor kompleksi düşük hızda döner, bu da ışığın daha yavaş bir şekilde depolarize olmasına neden olur. Test, taşınabilir ekipmanlarla gerçekleştirildiği için hem laboratuvar ortamında hem de sahada kolaylıkla kullanılabilir (90).

2.8.2.12. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA, ELIZA)

Bu test, diğer tanısal yöntemlerin negatif sonuç verdiği ancak klinik olarak bruselloz şüphesi devam eden özellikle kronik ve bölgesel vakalarda kullanılır. Yaklaşık 5 saat içinde total ve spesifik immünglobulinleri (IgG, IgM, IgA) yüksek hassasiyet ve özgüllükle tespit edebilir. Romatoid faktör varlığında yanlış pozitif sonuç riski olduğundan, bu durumu engellemek için absorpsiyon işlemi yapılabilir. Brusella antijeni ile kaplanmış 96 kuyucuklu mikropleytler kullanılır, serum örnekleri eklenip yıkandıktan sonra alkalın fosfataz, horseradish peroksidaz ve anti-insan immünglobülin alt grupları eklenir. Substrat eklendikten

ve inkübasyon tamamlandıktan sonra optik yoğunluk belirlenen dalga boyunda ölçülür. Kullanılan antijen, kitin tipine göre farklılık gösterebilir. ELISA testlerinde LPS gibi çözünür antijenler veya hücre ekstraktları antijen olarak kullanılır. Sadece IgM ölçümü yapılıyorsa, yüksek miktarda IgG'nin varlığı yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. IgM ve IgG sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi testin duyarlılığını artırır ve hastalığın klinik evresinin daha net bir şekilde tespit edilmesini sağlar (72, 91).

2.8.2.13. Hızlı Testler

2.8.2.13. 1. Lateral Flow Assay (LFA)

LFA, ELISA'nın daha sadeleştirilmiş bir versiyonudur ve hasta başında kolayca uygulanabilir. Parmak ucundan alınan bir damla kan ile test yapılabilir. Testin uygulanması için özel ekipman ya da laboratuvar uzmanlığı gerektirmez ve sonuçların değerlendirilmesi oldukça basittir. Yapılan çalışmalarda, LFA'nın duyarlılığının klasik STA ve 2-ME testlerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, özellikle brusellozun yaygın olduğu endemik bölgelerde hızlı ve kolay bir doğrulama testi olarak kullanılmaya uygundur (70, 92).

2.8.2.13. 2. Dipstick Testi

Dipstick testi, akut ve kronik bruselloz vakalarında IgM antikorlarının tespiti için kullanılan basit ve hızlı bir kolorimetrik yöntemdir. Bu test, kısa sürede sonuç vermesi ve kolay uygulanabilirliği ile brusellozun erken ve geç evrelerinde tanı koymak için pratik bir seçenektir (93). Dipstick testi, sadece IgM tipi antikorları tespit ettiği için özellikle akut bruselloz vakalarında daha faydalı olduğu kanıtlanmıştır. Ancak, kronik bruselloz vakalarında bu testin etkinliği sınırlıdır ve yetersiz kalabilmektedir (70).

2.9. Tedavi

İnsan brusellozunun tedavisindeki ana hedef, semptomların süresini azaltmak, ortaya çıkabilecek komplikasyonları, nöksleri, kronikleşme riskini ve ölüm oranını en aza indirmek ya da tamamen önlemektir (94).

Bruselloz tedavisinde kullanılacak antimikrobiyal ilaçların, makrofajlara nüfuz etmesi ve hücre içi asidik ortamda etkinliklerini sürdürebilmesi önemlidir. Ayrıca, tek ilaç tedavisi

(monoterapi) ile nüks oranı yüksek olduğundan, kombine tedavi tercih edilmeli ve tedavi yeterli süre boyunca uygulanmalıdır (95).

Bruselloza karşı etkili antimikrobiyal ilaçlar arasında doksisisiklin, rifampisin, aminoglikozitler (streptomisin, gentamisin ve nadiren amikasin), trimetoprim/sulfametoksazol (TMP/SMX), seftriakson ve kinolonlar (siprofloksasin, ofloksasin) bulunur. Doksisisiklin, bruselloz tedavisinde en etkili ilaç olarak kabul edilir ve kontrendikasyon olmadıkça kombinasyon tedavisinde mutlaka yer almalıdır. Hücre içi asidik fagolizozomal ortamda mükemmel etkinlik gösterir ve maliyet açısından da uygundur. Rifampisin ise fagositer hücrelerde düşük pH ortamında antibrusellar aktivitesini iki ila sekiz kat artıran bakterisidal birinci basamak ilaçlardan biridir.

Aminoglikozitler (streptomisin ve gentamisin) önemli bir antibiyotik grubudur, ancak hücre içi penetrasyonları yeterli değildir. TMP/SMX iyi bir doku ve hücre içi penetrasyona sahip olmakla birlikte, gebelerde ve 8 yaş altındaki çocuklarda birinci tercih olarak kullanılmamalıdır; daha çok alternatif tedavi ve üçlü kombinasyonlarda önerilir. Kinolonlar ise yüksek hücre içi penetrasyon ve doku konsantrasyonuna sahip olmakla birlikte, asidik hücre içi ortamlarda bakterisidal etkinlikleri zayıftır, bu nedenle alternatif ajanlar olarak kullanımları daha uygundur (94). Seftriakson, sefalosporin grubundaki en sık tercih edilen antibiyotik olmasına rağmen, monoterapi olarak kullanılması yüksek nüks oranlarına yol açtığı için önerilmez. Seftriakson fagositlere penetre olabilse de, bu hücrelerde birikme yeteneği yoktur, bu da etkinliğini sınırlayabilir (96).

Kardiyak, osteoartiküler ve merkezi sinir sistemi tutulumları olmayan, 8 yaşından büyük çocuklar ve hamile olmayan yetişkinlerde tercih edilen tedavi rejimleri şu şekildedir:

- Doksisisiklin: 2x100 mg oral, 6 hafta boyunca + Streptomisin: 1 gr/gün, intramusküler/intravenöz (IM/IV), 14-21 gün.
- Doksisisiklin: 2x100 mg oral, 6 hafta boyunca + Gentamisin: 3-5 mg/kg/gün, IM/IV, 7-14 gün.
- Doksisisiklin: 2x100 mg oral 6 hafta + Rifampisin: 1x600-900 mg/gün, oral, 6 hafta.

Bu rejimler, hastanın yaşına, sağlık durumuna, ek aldığı ilaçlara, komorbiditelerine göre uygulanır (97, 98).

Aminoglikozit ve doksisisiklin kombinasyonu, bruselloz tedavisinde "altın standart" kabul edilir ve diğer kombinasyonlara kıyasla daha yüksek iyileşme oranları sağlar (99). Gentamisin, streptomisine kıyasla geri dönüşümlü renal toksisiteye neden olduğu için, özellikle streptomisinin geri dönüşsüz ototoksikite riski nedeniyle tercih edilmektedir. Ayrıca, tüberkülozun yaygın olduğu bölgelerde streptomisin kullanımının direnç sorunlarına yol açabileceği belirtilmiştir (94).

Yapılan araştırmalar, doksisisiklin ile gentamisin veya streptomisin kombinasyonlarının etkinlik açısından benzer olduğunu göstermiştir (99). Tahmini nüks oranları aminoglikozit ve doksisisiklin kombinasyonunda %1-5, rifampisin ve doksisisiklin kombinasyonunda ise %5-10 arasında değişmektedir (94). Nüks oranı rifampisin ve doksisisiklin kombinasyonunda biraz daha yüksek olsa da, aminoglikozit+doksisisiklin kombinasyonuna göre bu tedavi rejimi daha iyi hasta uyumu, maliyet etkinliği, daha iyi tolere edilmesi ve daha az yan etki göstermesi nedeniyle yaygın olarak tercih edilmeye devam etmektedir (97).

Alternatif ajanlar arasında TMP/SMX ve kinolonlar (örneğin siprofloksasin), doksisisiklin ve rifampisin ile kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar, kinolonların doksisisiklin veya rifampisinle kombine kullanımının, rifampisin+doksisisiklin ve doksisisiklin+streptomisin kombinasyonlarıyla benzer etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır (100, 101). Ancak, kinolonlar maliyet etkinliği düşüklüğü ve hücre içindeki asidik ortamlarda azalmış bakterisidal aktivite nedeniyle birinci basamak tedavi olarak tercih edilmemektedir. Buna rağmen, ilaç direncinin olduğu durumlar, antimikrobiyal toksisite riski veya bazı nüks vakalarında alternatif tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (102).

Gebelikte brusellozun riskleri arasında spontan düşük, erken doğum, fetal mortalite ve intrauterin enfeksiyon artışı yer almaktadır. Ancak doğru kombine tedavi ve erken tanı ile hem anne hem de bebekte başarılı tedavi sonuçları elde edilebilir. Tetrasiklinler ve aminoglikozidler gebelik döneminde kullanılmamalıdır. Gebelikte, yaklaşık 6 hafta boyunca tek doz rifampisin (900 mg) uygulaması yaygın olarak tercih edilmektedir. Bu tedaviye, belirli durumlarda TMP-SMX eklenebilir. Ancak, teratojenik etkisi nedeniyle bu ilacın ilk trimesterde ve kernikterus riski nedeniyle 36. haftadan sonra kullanılması önerilmez (103).

Komplike bruselloz vakalarında, özellikle paravertebral alanlara ve dura dışındaki boşluklara yayılan enfeksiyonlar genellikle vertebral osteomyelitin ilerlemiş hali olarak kabul edilmektedir. Lomber vertebra tutulumu daha yaygın olmakla birlikte, ciddi komplikasyon

gösteren olgularda torasik vertebra tutulumu da sıkça görülmektedir. Bu vakaların tedavisinin klinik ve radyolojik yanıtlarına göre daha uzun süreli yapılması önerilmektedir. Tedavi olarak, doksisisiklin ve rifampisin kombinasyonuna ek olarak aminoglikozitler (streptomisin veya gentamisin) içeren üçlü rejimler özellikle komplike vakalarda önerilir. Son çalışmalar, etkili bir tedavi süresinin minimum 24 hafta olması gerektiğini vurgulamaktadır. Cerrahi müdahale genellikle gerekli olmamakla birlikte, ağır komplikasyonlu durumlarda apsenin aspirasyonu hem ağrıyı hafifletmek hem de tanı amaçlı örnek almak için faydalı olabilir (104).

DSÖ, doksisisiklin ve streptomisin tedavi rejimine rifampin veya ko-trimoksazol eklenmesini nörobruselloz tedavisinde uygun bir seçenek olarak önermektedir. Rifampisin, iyi BOS penetrasyonu, iyi gastrointestinal emilim ve iyi tolere edilebilirliği nedeniyle, nörobruselloz tedavisinde doksisisiklin ile birlikte sıklıkla kullanılır. Kombinasyonda ko-trimoksazol, siprofloksasin veya seftriakson önerilir. Tedavi süresi, hastanın klinik yanıtına bağlı olarak 3-6 ay önerilir. Nörobrusellozda ölüm oranları düşük olmakla birlikte, kalıcı hasar ve morbidite oranları yüksek seviyelerde rapor edilmiştir(105).

Nörobruselloz gibi ciddi komplikasyonlar genellikle yüksek mortalite oranlarına sahiptir, bu nedenle erken tanı büyük önem taşır. Sıklıkla sadece antibiyotik tedavisi yeterli olmaz ve cerrahi müdahaleyle desteklenmesi gerekir. Ancak bu şekilde başarılı sonuçlar elde edilebilir (106).

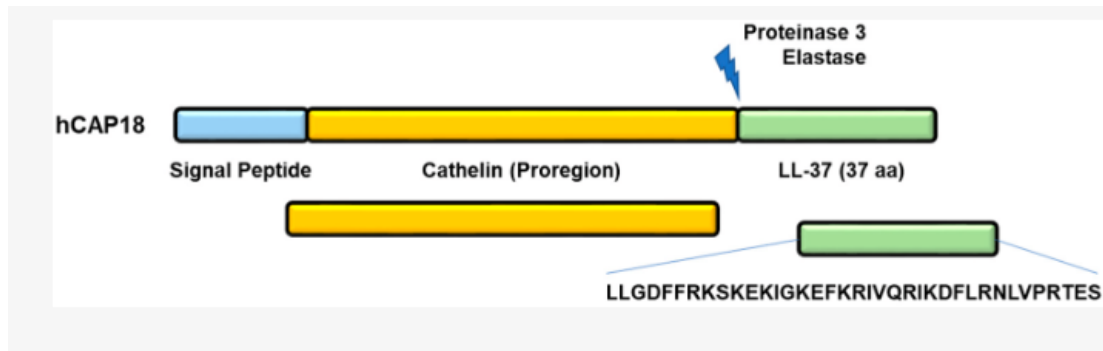
Renal yetmezliği olan hastalarda, doksisisiklin ve rifampisin kombinasyonu uygun bir tedavi rejimi olarak kabul edilir. Eğer hastada ciddi karaciğer yetmezliği varsa, aminoglikozit ile doksisisiklin veya kinolon kombinasyonu önerilir. Aminoglikozitlerin karaciğerde metabolize edilmemesi ve doksisisiklinin hücre içi etkinliği, bu kombinasyonu karaciğer fonksiyonları bozulmuş hastalar için uygun hale getirir (94).

Bruselloz tedavisi sonrasında semptomları 1 yıldan uzun süren hastalar "kronik bruselloz" olarak tanımlanır. Kronik brusellozda, uzatılmış ve tekrarlayan antimikrobiyal tedavi genellikle çok az etki gösterir. Bu nedenle, bu hastalarda esas olarak semptomatik tedavi uygulanmalıdır (94). Kronik bruselloz, büyük olasılıkla bozulmuş bir bağışıklık yanıtıyla ilişkilidir. Bu tür vakalarda, bağışıklık sistemini düzenlemeye yönelik tedaviler (örneğin, levamizol gibi immünomodülatör ilaçlar) de kullanılabilecek seçenekler arasında yer alır (41, 94). Kronik bruselloz tedavisinde, klasik antibiyotik tedavi rejimlerine gün aşırı 80 mg levamizol eklenmesiyle artralji, terleme ve halsizlik gibi semptomların daha hızlı iyileştiği

gözlemlenmiştir. Ayrıca, bu tedavi yaklaşımı ile C-reaktif protein (CRP), sedimentasyon ve lenfomonositoz gibi enflamatuvar belirteçlerin de anlamlı şekilde daha hızlı düzeldiği rapor edilmiştir (107).

2.10. LL-37 molekülü

LL-37, insan vücudunda bulunan katyonik, amfipatik, alfa helikal, antimikrobiyal peptiddir (AMP). İmmünomodülatör, anti-biyofilm ve antimikrobiyal özellikler de dahil olmak üzere geniş bir biyolojik fonksiyon yelpazesine sahip olan insan konak savunma peptidlerinden biridir (108). Antimikrobiyal peptitler, doğal antibiyotik olarak hizmet eden geniş bir bileşik ailedir. 100'den fazla AMP molekülü bilinmektedir, bunlardan ikisi özellikle dikkat çeker: defensinler ve katelesidinler. İnsanlarda, katelesidinlerin bilinen tek örneği hCAP-18 proteindir ve bu proteinin C terminalinden serbest bırakılan 37 aminoasitlik küçük bir peptit olan aktif parça LL-37 olarak adlandırılmaktadır, ismi buradan gelmektedir (şekil 2.6.)(109). LL-37 son zamanlarda antimikrobiyal etkisine ek olarak kemotaktik ve kemoatraktan özelliği, endotoksin nötrleştirici, dendritik hücre farklılaştırıcı, anjiyogenez artırıcı, yara iyileştirici özellikleri, kanser hücrelerinde apoptozu uyarma gibi çok çeşitli fonksiyonları nedeniyle artan ilgi görmektedir (110-112). LL-37 molekülünün keşfinden sonra gelinen noktada son 30 yıla bakıldığında, zamanla LL-37'nin sadece bir AMP olarak kabul edilmesi fikri geride bırakılarak çok işlevli bir immünomodülatör olduğu fikrinin benimsendiği söylenebilir. Fakat 30 yılda yapılan bu kadar detaylı çalışmaya rağmen tek bir molekülün birden fazla yapısal olarak ilgisiz reseptörü nasıl aktive edebildiğini hala anlayamamıştır (113).



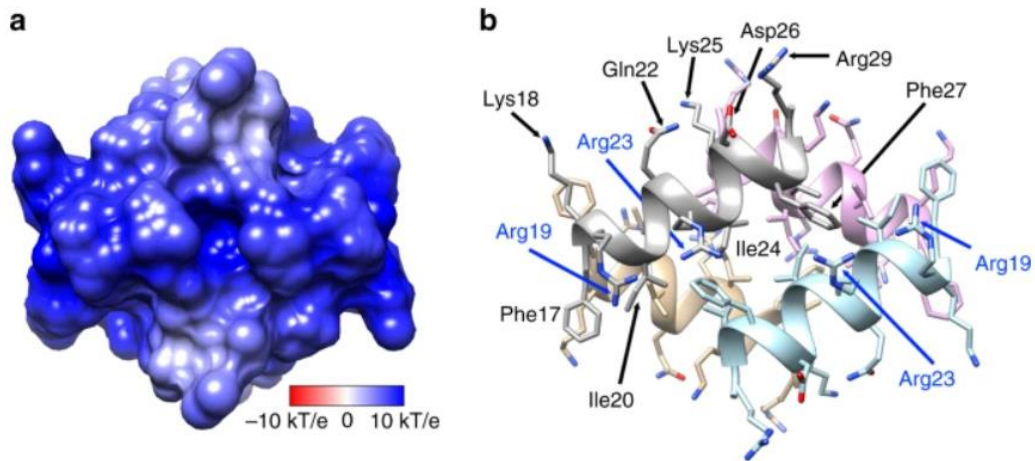
Şekil 2.6. hCAP-18 ve ondan ayrılan 37 aminoasitlik LL-37 molekülü (114)

AMP'ler, doğal antibiyotikler olarak hizmet eden geniş bir bileşik ailesidir. En çok epitel hücrelerinden üretilerek organizmanın mukus tabakalarında bolca bulunurlar ve

patojenlerin yerleşmesini engellerler (109). AMP'ler, bakteri, mantar, virüs ve parazit gibi istilacı patojenlere karşı koruyucu olan doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel bileşenleridir (115).

LL-37, patojenlerle karşılaşması muhtemel olan hücre tipleri tarafından ifade edilir; bu hücre tipleri cilt, bağırsak, solunum yolu, göz yüzeyi veya genital mukozanın epitelyal hücrelerdir; ancak aynı zamanda nötrofiller, dendritik hücreler (DC), mast hücreleri, B-hücreleri, doğal öldürücü (natural killer, NK) hücreler, T ve B lenfositler, monositler ve makrofajlar gibi doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinde de bulunur(116). Solunum sisteminden örnek verecek olursak, AMP'ler solunum yollarının epitelyal hücrelerinden alveoldeki yüzey sıvısına ekstrakte edilirler. Katelisinler mukozal makrofajlarda ve sitotoksik T lenfositlerde, diğer immun hücrelere göre daha yüksek konsantrasyonlarda ölçülmüştür (109). Bir çalışmada bahsi geçen alveolar epitelyal hücrelerdeki LL-37'nin kortikal aktinin polimerizasyonunu indüklediği ve hücre sertliğinde artışa ve epitel geçirgenliğinde azalmaya yol açtığı saptanmış, bu sayede *P. aeruginosa*'nın hücre içine girişinin azaldığı gösterilmiştir (117).

LL-37'nin antimikrobiyal aktivitesi doğal katyonik ve amfipatik yapısı sayesinde mikrobiyal membranların bütünlüğünün bozmasıyla sağlanır (118). Molekülün fibrilin yüzeyi, muhtemelen bakteri membranları gibi negatif yüklü lipid çift tabakalarıyla etkileşimleri ve sonrasında bu tabakaların bozulmasını sağlayan hidrofobik ve pozitif yüklü zigzag desenlerle çevrilidir (şekil 2.7.).



Şekil 2.7. a. LL-37'nin dört alfa heliks demetinin moleküler düzeyde elektrostatik potansiyelinin gösterimi. b. LL-37'nin temsili görüntüsü (119).

Konakçı hücrelerde, LL-37'nin neden olduğu etkilerin çoğuna, çeşitli varsayılan hücre yüzeyi reseptörlerinin, membran kanallarının veya hücre içi hedeflerin spesifik aktivasyonu yoluyla aracılık edilir. LL-37, dört G proteinine bağlı reseptör, üç reseptör tirozin kinaz, bir ligand kapılı iyon kanalı ve Toll benzeri reseptörler dahil olmak üzere farklı reseptör sınıflarına ait en az dokuz reseptör ile ilişkilendirilmiştir (120).

Birçok hücre tipi; A vitamini, D vitamini veya interferon (IFN) γ gibi belirli bir uyarıcıya maruz kaldıktan sonra veya sürekli bir şekilde AMP üretir (113).

Neisseria tipleriyle yapılan bir çalışmada *N. gonorrhoeae* üzerine LL-37'nin invitro aktivitesi gösterilmiş, fakat aynı zamanda *N. gonorrhoeae*'nin LL-37 seviyesini düşürdüğü, patojenik olmayan Neisseria tipleri için bunun geçerli olmadığı belirtilmiştir. Patojenler tarafından LL-37'nin azaltılması virulans faktörü olarak değerlendirilmiştir (121). Üst solunum yolu bakterileri, membranlarındaki fosfatidilkolin lipidlerinin miktarını artırarak LL-37'nin antibakteriyel etkisinden kaçmayı başarmıştır (122) α 2-makroglobulin-proteinaz kompleksleri *Streptococcus pyogenes*'i LL-37 tarafından öldürülmekten korur (123) Shafer ve ark. bir akış pompasının *Neisseria gonorrhoeae*'yi LL-37'nin öldürücü etkisinden etkili bir şekilde koruduğunu bildirmiştir (124). Enteritlerde LL-37'nin seviyesinin azaldığı, bunun da muhtemelen istilacı patojenlerin neden olduğu ekspresyonda bir azalmaya işaret ettiği bulunmuştur (125). *Staphylococcus epidermidis*'i biyofilm oluşturan bir yapıya bağlayan polisakkarit interselüler adezin molekülünün, bakteriyi LL-37'nin etkilerinden koruduğu gösterilmiştir (126).

LL-37'nin mikroorganizmalara spesifik olmadığı, insan hücrelerine karşı sitotoksik etkisi sebebiyle bir toksin olarak adlandırılabilceği söylenmiştir. Bu durum LL-37'nin potansiyel medikal kullanımını sınırlandırmaktadır (127)

Fukumoto ve arkadaşlarının yaptığı in vivo çalışma, peritondan verilen, Gram negatif mikroorganizmaların yüzeyinde bolca bulunan madde olan lipopolisakkarite maruz bırakılan sıçanlarda oluşturulan sepsiste LL-37'nin uygulanmasıyla sepsis seyrinin iyileştiğini gösterdi. Bu durum uzun yıllardır bilinen, LL-37'nin lipopolisakkarite olan yüksek afinitesiyle açıklanmıştır. Ancak, aynı çalışma, LL-37'nin daha yüksek dozlarının test hayvanlarının sağkalım oranları üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu buldu, bunun muhtemelen LL-37'nin sitotoksik özellikleriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Planı

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınan onay (tarih: 21.02.2024; karar no: 52, sayı: :B.30.2,ATA.0.01.00/36) ile 21.02.2024 ile 21.10.2024 tarihleri arasında Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.2. Hastaların Seçimi

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran hastalar arasından, klinik, bakteriyolojik ve serolojik bulgular ışığında bruselloz tanısı konulmuş 18 yaş ve üzeri toplam 120 hasta çalışmaya dahil edildi. Bruselloz vakaları, semptom sürelerine göre akut (0-2 ay), subakut (2-12 ay), kronik (>12 ay) ve hastalığı tekrarlayanlardan oluşan relaps grubu olmak üzere 4 sınıfa ayrıldı.

Bruselloz tanısı, bruselloz açısından uyumlu klinik semptom ve bulguları olan hastalardan alınan kan tetkiklerinden; kan kültüründe *Brucella spp.* üremesi veya serumda pozitif standart tüp aglütinasyon testi ve Coombs testinin titresinin $\geq 1/160$ ve üzerinde olması veya semptom başlangıcından sonraki titrede dört kat artış olması durumunda konuldu. Relaps hasta grubu ise son 1 yılda bruselloz sebebiyle tedavi almış, buna rağmen bruselloz uyumlu şikâyetleri tekrar gelişen ve STA titresinde önceki titrelerine göre artış olan ve/veya kan kültüründe *Brucella spp.* üremesi olanlardan oluşturuldu.

3.3. Kontrol Grubunun Seçimi

Kontrol grubu, daha önce *Brucella* ile enfekte olmamış, son 6 ay içerisinde ateşli enfeksiyon hastalığı veya bulaşıcı hastalık öyküsü bulunmayan, ek hastalığı olmayan ve hastalarla benzer demografik özelliklere sahip, fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri normal olan toplam 60 sağlıklı bireyden oluşturuldu.

Çalışma kapsamındaki tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirildi ve imzalanmış onay formları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi. Çalışma grubu ve kontrol grubunun demografik bilgilerine ilişkin (yaş, cinsiyet, eğitim durumu, medeni durum, gelir düzeyi, aile hikâyesi, kronik hastalık durumu, vücut kitle indeksi, sigara ve alkol kullanım durumu)

bilgileri elde etmek için araştırmacı tarafından gerekli literatür taranarak oluşturulan “Kişisel Bilgi Formu” kullanıldı.

Olguların yaş ve cinsiyet gibi demografik verileri, meslekleri, çiğ süt ve/veya süt ürünleri (bilhassa çiğ süttten yapılan peynir) tüketim durumu, başvuru yakınmaları ve süreleri ile fizik muayene ve laboratuvar bulguları kaydedildi.

Hastaların beyaz küre sayısı (WBC), nötrofil sayısı, lenfosit sayısı, trombosit sayısı, alanin aminotransferaz (ALT), asparat aminotransferaz (AST), C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) rutin testleri Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi’ne ait tıbbi biyokimya laboratuvarında mevcut olan otoanalizörlerde çalışıldı ve kaydedildi.

3.4. Analitlerin Tayin Yöntemleri

Çalışma grubundan ve kontrol grubundan venöz kandan serum örnekleri alındı. Serum elde etmek için pıhtı aktivatörü içeren jel seperatörlü kuru tüpler (GreinerBiooneGmbH, Vacuette, Kremsmünster, Avusturya) kullanıldı. Jelli tüplerdeki numunelerin serumları 4000 rpm’de 10 dakikalık soğutmalı (+4°C) santrifüj işlemi sonrasında ayrıldı. Elde edilen serumlar etiketlendi, kilitli kapaklı mikro santrifüj tüplerine alınarak alikotlandı ve çalışma gününe dek -80°C’de derin dondurucuda (Nüve DF 290, Türkiye) saklandı. Analizlerin yapılacağı günün bir önceki gününden itibaren dondurulmuş örnekler sırayla -20°C, +4°C ve oda sıcaklığına alınarak aşamalı olarak çözündürüldü. LL-37 ölçümleri ELISA metoduyla ve ticari kitlerde yer alan direktiflere göre serum numunesinde gerçekleştirildi (Reed Biotech Human LL-37(Antibacterial Protein) ELISA kit Katalog No:RE2459H).

Tablo 3.1. Kullanılan Malzeme, Kit ve Cihazlar

CİHAZ/MALZEME/KİT	MARKA
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (100-1000 µL)	Axygen, ABD
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (20-200 µL)	Axygen, ABD
Ayarlanabilir Hacimli 8 Kanallı Otomatik Pipet (10-100 µL)	Eppendorf Research Plus, Almanya
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (200 µL)	ISOLAB, Almanya
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (1000 µL)	ISOLAB, Almanya
Kilitli Kapaklı Mikro Santrifüj Tüpü (1,5 mL)	ISOLAB, Almanya
İnsan LL-37 ELISA Kiti	Reed Biotech Company, China
Mikroplate Okuyucu	BIO-TEK PowerWave XS, ABD
Vorteks	Velp Scientifica ZX3, İtalya
İnkübatör	Inovia Technology SC-200-1001, Türkiye
Santrifüj	Beckman Coulter, Allegra X-30R, ABD
Derin Dondurucu (-80°C)	Nüve DF 290, Türkiye
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik 5231 NFY, Türkiye
Saf Su Cihazı	Mes mp MINIpure, Türkiye
Klinik Kimya Otoanalizörü	Beckman Coulter AU 5800, ABD
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Tirinity Biotech Premier Hb9210, İrlanda

Enzim immünölçüm, enzimlerin katalitik özelliklerinin kullanıldığı immunokimyasal bir ölçüm yöntemidir. En yaygın kullanılan yöntem ise ELISA tekniğidir. Reaksiyon bileşenlerinden birinin katı faz yüzeye bağlanması sebebi ile bu yöntem heterojen özellik gösterir. Kimyasal, immunokimyasal veya nonspesifik adsorbsiyon şeklinde olabilen bu

bağlanma ile serbest işaretli reaktifin bağlı olandan ayrılması kolaylaşır. ELISA yöntemi ile ölçülecek antijeni içeren bir kalibratör veya numune, katı fazdaki antikor ile bağlanabilmesi için bir süre inkübe edilir. İnkübasyondan sonra yıkama işlemi yapılır ve ilk aşamada bağlanmış olan antikordan farklı bir antikor ortama eklenir. Böylece, katı faz antikoru-antijen-enzim bağlı antikor sandviç kompleksi oluşur. Bağlı halde olmayan antikor yıkama işlemi ile reaksiyon ortamından uzaklaştırılır ve enzimin substratı eklenir. Numunedeki veya kalibratördeki antijen miktarınca oluşan sandviç kompleksin içerdiği enzim, ortama eklenen substratı ürüne dönüştürür. Sonuç olarak reaksiyon ortamında elde edilen ürün miktarı, ölçülmek istenen antijen ile doğru orantılı olur.

Serum munelerinde LL-37 düzeyi ölçümü için ticari ELISA kiti (Reed Biotech Human LL-37 (Antibacterial Protein) ELISA kit Katalog No:RE2459H) kullanıldı. Serum, plazma ve diğer ilgili vücut sıvılarındaki LL-37 ölçümü amacıyla üretilen kitin standart eğri aralığı 1,56-100 ng/mL, duyarlılığı 0,94 ng/mL, tekrarlanabilirliği CV <%10' dur.

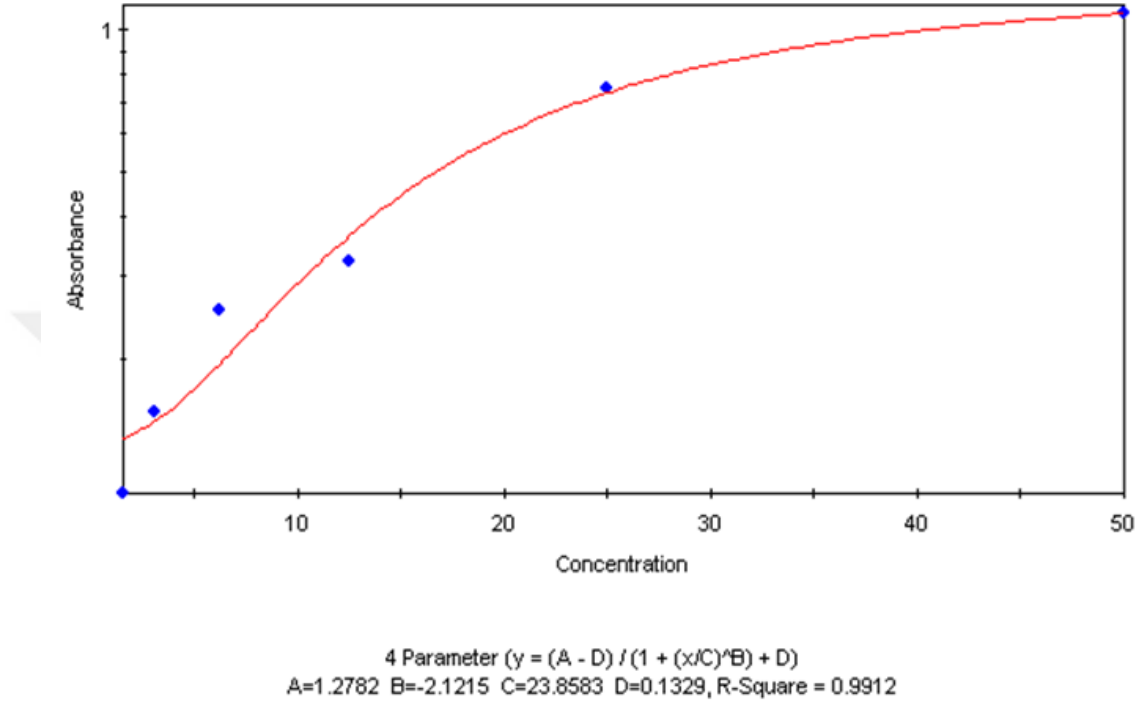
Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek serum numunesinde LL-37 analiz edildi:

- 1) Oda sıcaklığına getirilen standartlar, numuneler ve tüm reaktifler hazırlandı.
- 2) Kuyucuklara 100 µL standart veya numune eklendi. 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Daha sonra 3 defa yıkama yapıldı.
- 3) Her bir kuyucuga 100 µL biyotinlenmiş antikor eklendi ve 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon ardından 3 defa yıkama yapıldı.
- 4) Kör haricindeki tüm standart ve numune kuyucuklarına 100 µL streptavidin-HRP eklendi, kuyucukların üzeri kapatılarak 30 dakika 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon ardından 3 defa yıkama yapıldı
- 5) 100 µL substrat reaktifi eklendi ve 15 dakika 37°C'de inkübe edildi.
- 6) Her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü.

BIO-TEK PowerWave XS mikropate okuyucu cihazında 450 nm'de absorbens değerleri ölçüldü.

Standartların absorbens değerleri kullanılarak elde edilen ve R^2 değeri 0,9912 olan absorbens-konsantrasyon grafiği Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Standart eğrisinden yola çıkılarak

numunelerin LL-37 konsantrasyonları ng/mL birimine göre belirlendi. Kit çalışması Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi'ne ait tıbbi biyokimya laboratuvarında mevcut olan otoanalizörlerde çalışıldı.



Şekil 3.1 Absorbans-konsantrasyon grafiği

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin kaydedilmesi ve istatistiksel değerlendirmeler için “SPSS 20.0 for Windows” (SPSS Inc., IL, ABD) programından yararlanıldı. Elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler kategorik değişkenler için sayı ve %, numerik değişkenler için medyan (minumum, maksimum) veya ortalama±standart sapma olarak verildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilerin gruplar arasındaki karşılaştırması one-way ANOVA testi ile yapıldı, gruplar arasındaki farklılığın önemlilik derecesi ise post hoc Tukey testi ile belirlendi. Grupların ikili karşılaştırması ise Student's t testi ile yapıldı. Normal dağılım göstermeyen verilerin gruplar arasındaki karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ve ikili karşılaştırmaları ise Mann Whitney-U testi ile yapıldı. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı bakımından farkın

istatistiksel analizi Ki-kare (X^2) testi ile yapıldı. Serum LL-37 ile diğer değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman/Pearson korelasyon testleri ile incelendi. Serum LL-37'nin duyarlılık özgüllük ve 'cutoff' değerini hesaplamak için belli bir yöntemin öngörü gücünün ifadesi olan alıcı işletim karakteristiği (orijinal adıyla; Receiver Operating Characteristic - ROC) eğrisi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

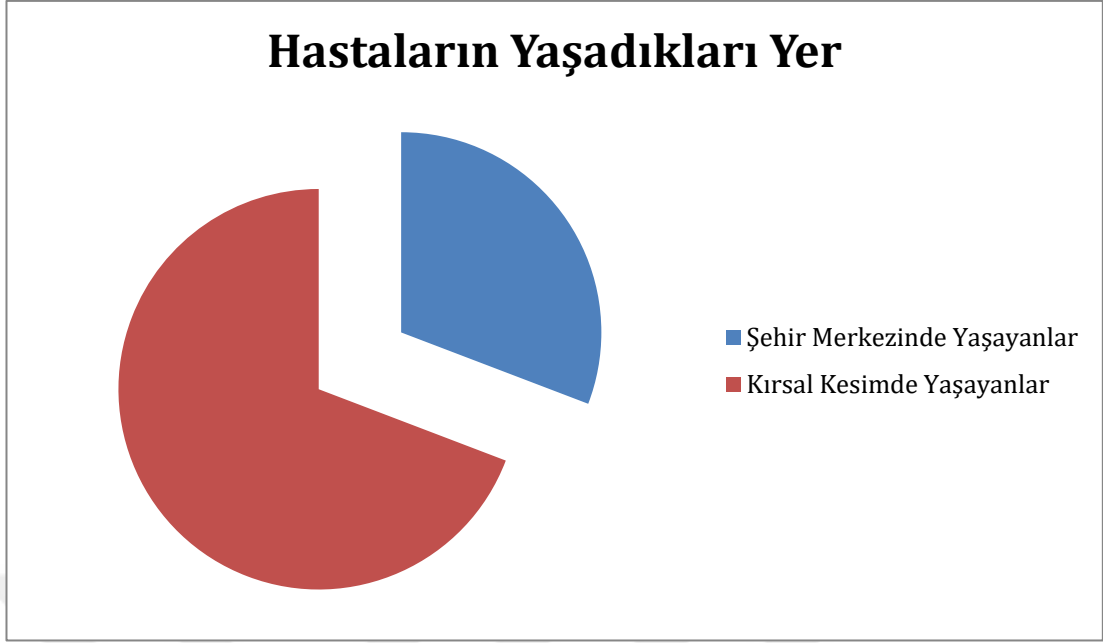
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nde yapılan bu çalışma için 180 kişinin serum LL-37 seviyeleri incelendi. 120 brusella enfeksiyonu tanısı alan hastanın 45'i (%37,5) akut, 30'u (%25) subakut, 26'sı (%21,6) kronik, 19'u (%15,8) relaps hastasıydı. Hasta gruba ek olarak 60 tane sağlıklı gönüllü alındı.

Çalışmaya katılan 180 kişiden 80'i (%44,4) kadın, 100'ü (%55,6) erkekti. 120 hastanın 53'ü (%44,2) kadın, 67'si (%55,8) erkekti.

Kontrol grubun yaş ortalaması $44,45 \pm 14,45$ iken hasta grubun yaş ortalaması $43,73 \pm 16,28$ olarak hesaplandı. Kontrol grubunun kadın/erkek oranı 0,81; hasta grubun kadın/erkek oranı 0,79'du. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel anlamlı fark olmadığı gibi hasta gruplar arasında da anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,77$, $p=0,513$ ve $p=0,674$, $p=0,593$).

Olgular olası risk faktörlerine göre incelendiğinde %97'sinde ($n=117$) şüpheli süt ve süt ürünleri tüketimi öyküsü, %74'ün de ($n=89$) hayvancılık öyküsü, %70'inde ($n=83$) ise kırsal kesimde yaşama öyküsü mevcuttu. 1 hasta veteriner hekimdi. 2 hastanın (%1,6) herhangi bir risk faktörü yoktu.

Olgular yaşadıkları yere göre sınıflandırıldığında hastaların 83'ü (%70) kırsal bölgede 37'si (%30) ise kentte yaşıyordu (şekil 4.1.). Hastaların yaşadıkları yere ve klinik sınıflandırmasına göre yüzde ve sayıları Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

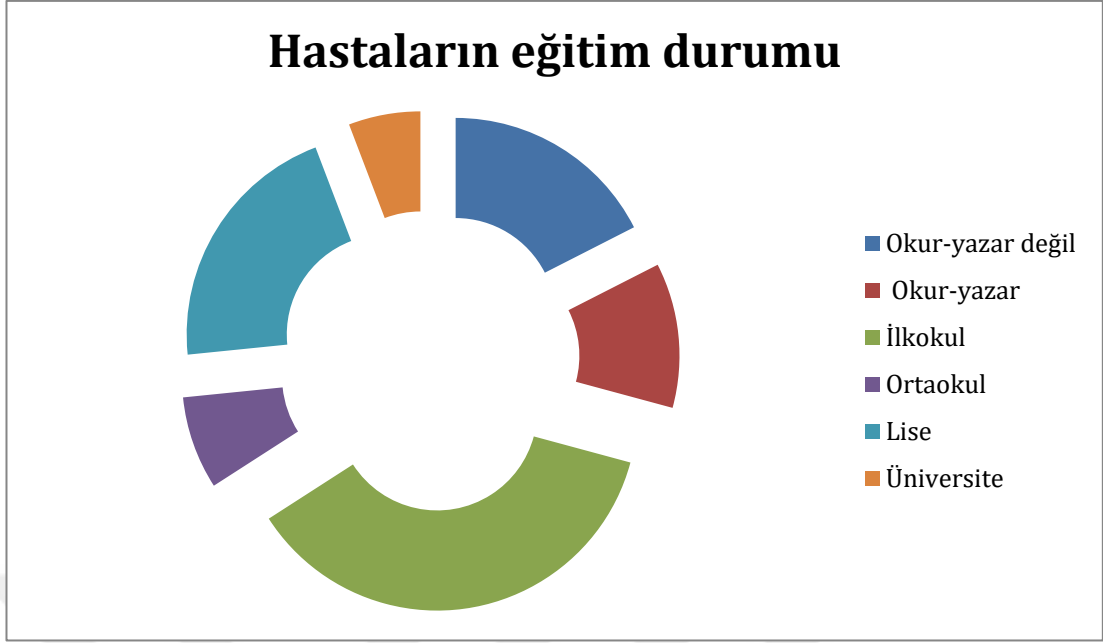


Şekil 4.1. Hastaların yaşadıkları yere göre dağılımı

Tablo 4.1. Hastaların Yaşadıkları Yere ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı

Yaşadığı yer	Klinik sınıfı % (n)				Toplam (n=120)
	Akut	Subakut	Kronik	Relaps	
Kırsal kesim	%71 (32)	%63 (19)	%65 (17)	%79 (15)	%69 (83)
Şehir merkezi	%29 (13)	%37 (11)	%35 (9)	%21 (4)	%31 (37)

Hastaların eğitim durumuna bakıldığında (şekil 4.2.) ilkokul mezunu 44 hasta (%37) varken bunu 25 hasta (%21) ile ortaokul mezunu hasta takip ediyordu. 21'i (%18) okuryazar değilken 14'ü (%12) okuryazar olmasına rağmen ilkokulu bitirmemişti. 9'u (%8) ortaokul mezunuydu. 7 (%6) hasta ile en küçük grubu üniversite ya da daha üzeri eğitim alanlar oluşturuyordu. Hastalar klinik sınıflarına göre eğitim seviyeleri (Tablo 4.2.) açısından kıyaslandığında aralarındaki fark anlamlı değildi ($p=0,548$). En düşük eğitim seviyesi relaps hastalarında olmasına rağmen diğer gruplarla relaps hastalarının eğitim durumu kıyaslandığında aralarındaki fark anlamlı değildi ($p=0,324$).

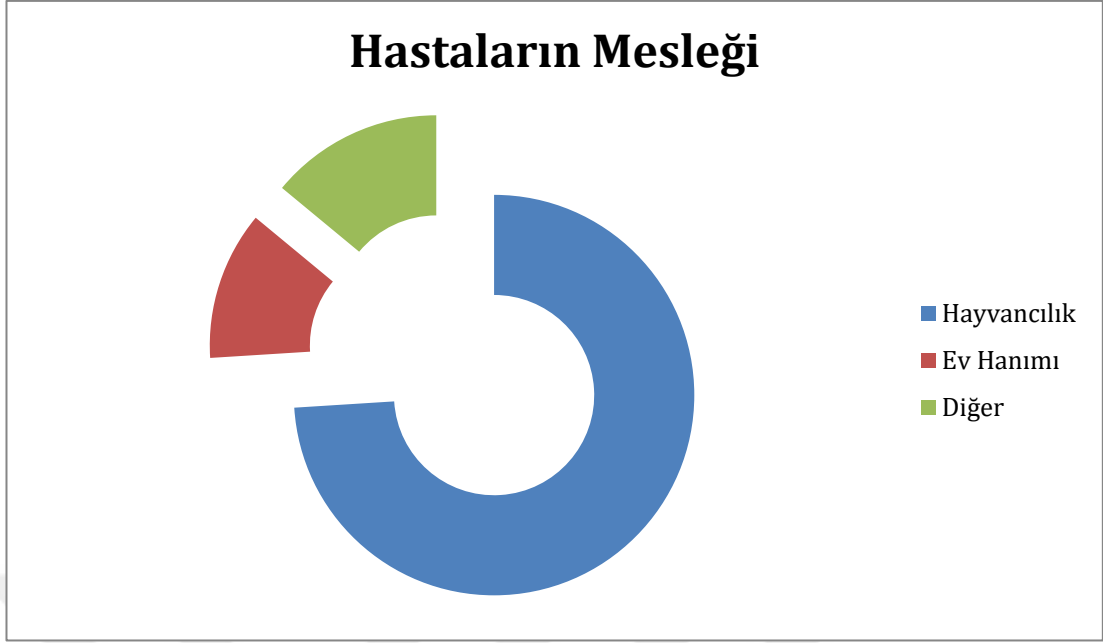


Şekil 4.2. Hastaların eğitim durumuna göre dağılımı

Tablo 4.2. Hastaların Eğitim Düzeylerine Ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı

Eğitim durumu	Klinik sınıfı % (n)				Toplam (n=120)
	Akut	Subakut	Kronik	Relaps	
Okur-yazar değil	%24 (11)	%17 (5)	%8 (2)	%16 (3)	%18 (21)
Okur-yazar	%4 (2)	%13(4)	%12 (3)	%26 (5)	%12 (14)
İlkokul	%36 (16)	%33 (10)	%46 (12)	%32 (6)	%37 (44)
Ortaokul	%7 (3)	%10 (3)	%8 (2)	%5 (1)	%8 (9)
Lise	%18 (8)	%23 (7)	%23 (6)	%21 (4)	%21 (25)
Üniversite ve üstü	%11 (5)	%3 (1)	%4 (1)	%0 (0)	%6 (7)

Hastalar, meslekleri açısından değerlendirildiğinde (Şekil 4.3.) olguların 89'u (%74) hayvancılık ile uğraşıyordu. Hastaların 14'ü (%12) ev hanımı, 16'sı (%13) diğer mesleklerde çalışırken biri veteriner hekimdi ve akut hasta grubundaydı. Hastalar klinik sınıflarına göre meslekleri (Tablo 4.3.) açısından kıyaslandığında aralarındaki fark anlamlı değildi ($p=0,068$).



Şekil 4.3. Hastaların mesleklerine göre dağılımları

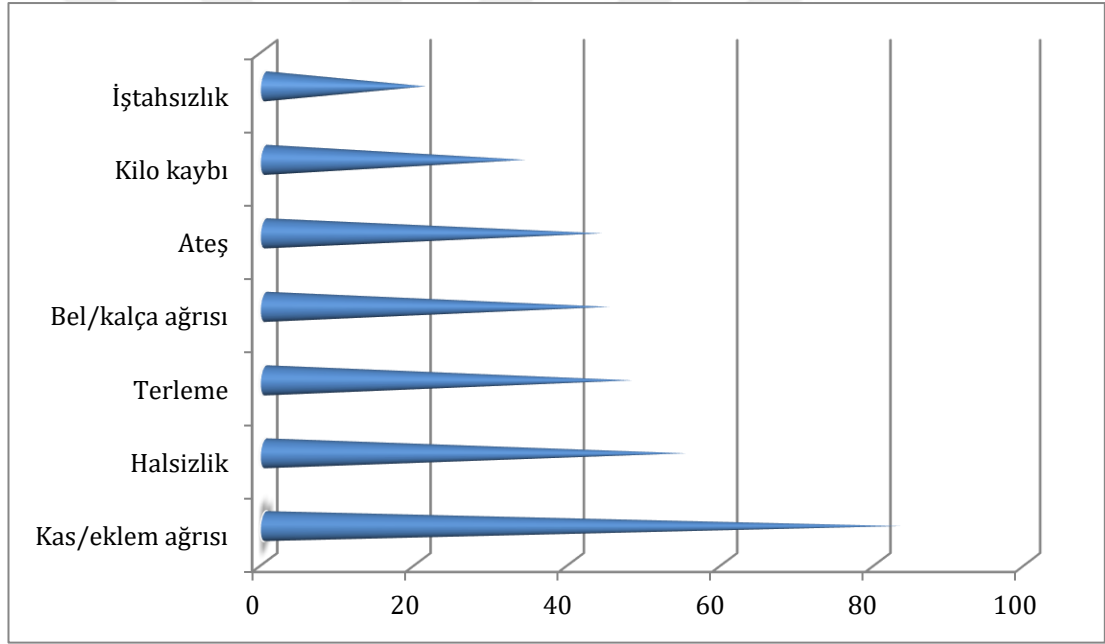
Tablo 4.3. Hastaların Mesleklerine Ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı

Mesleği	Klinik sınıfı % (n)				Toplam (n=120)
	Akut	Subakut	Kronik	Relaps	
Hayvancılık	%80 (36)	%77 (23)	%50 (13)	%90 (17)	%74 (89)
Ev hanımı	%4 (2)	%13 (4)	%23 (6)	%10 (2)	%12 (14)
Diğer	%16 (7)	%10 (3)	%27 (7)	%0 (0)	%14 (17)

Hastaların hastaneye başvuru şikayetleri değerlendirildiğinde (Tablo 4.4.) en sık semptom 120 hastanın 100'ünde (%83) görülen kas-eklem ağrısıydı. Bu şikâyeti 67'sinde (%55) görülen halsizlik takip ediyordu. En sık görülen üçüncü semptom 58 (%48) hastada görülen terleme şikayeti idi. 54 (%45) hastada bel ya da kalça eklemi ağrısı vardı. Ateş tarifleyen hasta sayısı 53 (%44), kilo kaybı tarifleyen hasta sayısı 41 (%34), iştahsızlık tarifleyen hasta sayısı 26 idi (%21) (Şekil 4.4.).

Tablo 4.4. Hastaların Semptomlarının Dağılımı

Başvuru Şikâyetleri	Hasta sayısı ve yüzdesi (n=120)	
	n=120	%
Kas/eklem ağrısı	100	83
Halsizlik	67	55
Terleme	58	48
Bel/kalça ağrısı	54	45
Ateş	53	44
Kilo kaybı	41	34
İştahsızlık	26	21



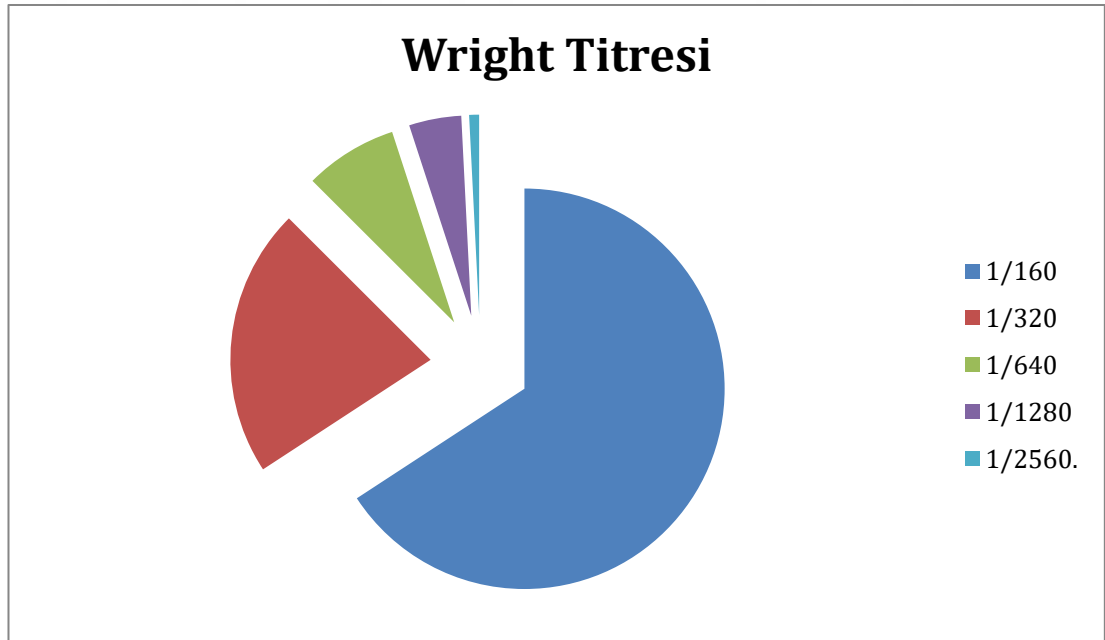
Şekil 4.4. Hastaların semptomlarının çubuk grafiği

Hastaların semptomlarının klinik gruplarına göre dağılımı incelendiğinde (Tablo 4.5.) gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$)

Tablo 4.5. Hastaların Semptomlarının Klinik Gruplarına Göre Dağılımı

Başvuru şikâyetleri/ Klinik grubu	Akut % (n)	Subakut % (n)	Kronik % (n)	Relaps % (n)	Gruplar arası p değeri
Kas/eklem ağrısı	%76 (34)	%87 (26)	%88,5 (23)	%90 (17)	0,361
Halsizlik	%53 (24)	%53 (16)	58 (15)	%63 (12)	0,887
Terleme	%38 (17)	%47 (14)	%54 (14)	%63 (12)	0,316
Bel/kalça ağrısı	%40 (18)	%47 (14)	%46 (12)	%52 (10)	0,814
Ateş	%38 (17)	%50 (15)	%50 (13)	%42 (8)	0,671
Kilo kaybı	%29 (13)	%40 (12)	%35 (9)	%37 (7)	0,783
İştahsızlık	%20 (9)	%30 (9)	%15 (4)	%21 (4)	0,591

Hastaların STA testi titre sonuçlarına göre dağılımı Şekil 4.5’de gösterildiği üzere değerlendirildiğinde 1/160 pozitifliği olan hastalar çoğunlukta idi ve %66’sını (n=79) oluşturuyordu. 1/320 pozitifliği olanlar %22 (n=29) iken, 1/640 pozitif sonuçlanan hastalar %7,5’ti (n=9). 1/1280 pozitiflik %4 (n=5) hastada sonuçlandı. 1/2560 titre sonucu olan sadece 1 hasta vardı (%0,8).



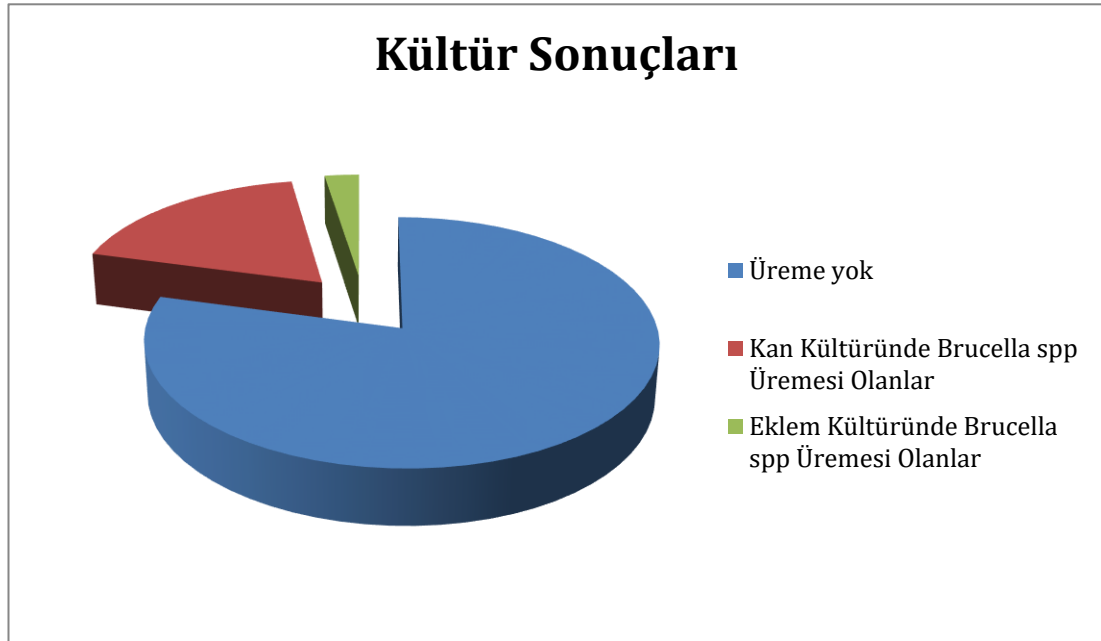
Şekil 4.5. Hastaların STA test sonuçlarına göre dağılımı

Hastaların ELIZA Immunglobulin M ve G sonuçlarına bakıldığında (Tablo 4.6.) gruplar arasındaki fark anlamlı sonuçlanmadı ($p=0,056$). Tüm bruselloz hastalarının en sık görülen ELIZA sonucu %44 oranıyla Ig M negatif Ig G pozitifliği idi. En yüksek ELIZA negatifliği akut grupta görülürken, en yüksek ELIZA pozitifliği subakut grupta görüldü (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. Hastaların ELIZA Ig G Ve Ig M Test Sonuçlarına Ve Klinik Sınıflarına Göre Dağılımı

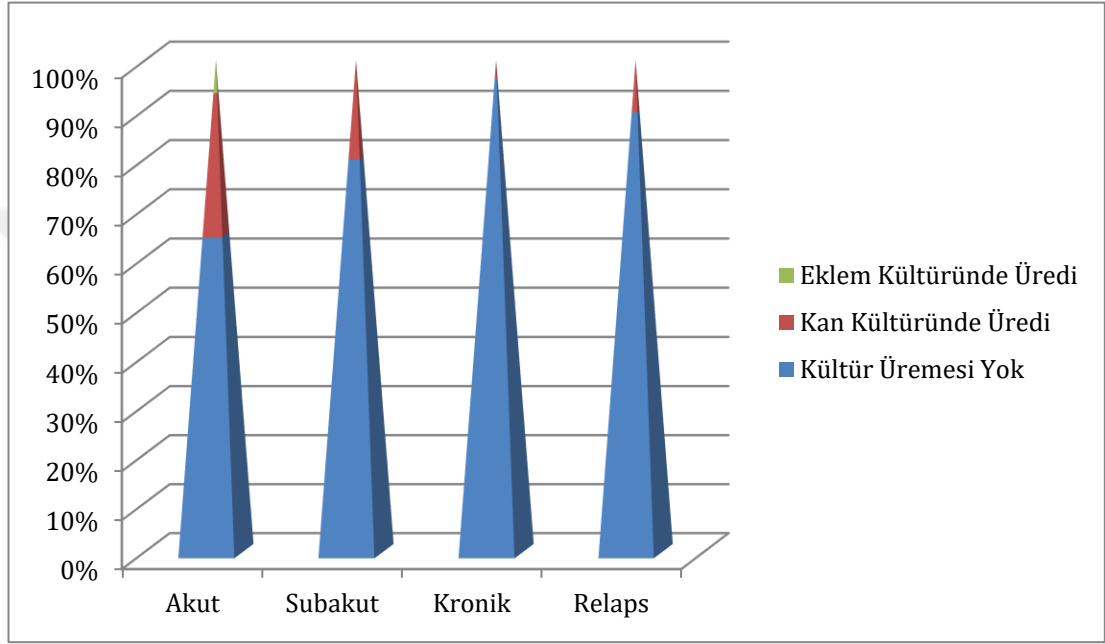
ELIZA sonucu	Klinik sınıfı % (n)				Toplam (n=120)
	Akut	Subakut	Kronik	Relaps	
Ig M ve Ig G negatif	%29 (13)	%3 (1)	%15 (4)	%10 (2)	%17 (20)
Ig M pozitif, Ig G negatif	%13 (6)	%23 (7)	%31 (8)	%26 (5)	%22 (26)
Ig M negatif, Ig G pozitif	%33 (15)	%63 (19)	%39 (10)	%47 (9)	%44 (53)
Ig M ve Ig G pozitif	%24 (11)	%10 (3)	%15 (4)	%16 (3)	%17 (21)

Hastaların hepsinden kan kültürü alındı. Şekil 4.6.'da gösterildiği üzere tüm bruselloz hastalarının %18,3'ünde (n=22) kan kültüründe üreme saptanırken %79,2'sinde üreme olmadı. Diz eklemünde artriti ve eklem sıvı artışı olan 3 hastadan eklem sıvı kültürü gönderildi. Bu 3 hasta da akut klinik grubundaydı ve eklem sıvısında *Brusella spp.* üremesi oldu.



Şekil 4.6. Hastaların kan kültürü sonuçlarına göre dağılımı

Kültür üremeleri gruplara göre değerlendirildiğinde akut hasta grubu diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı seviyede daha yüksek oranda kültür üremesi olduğu görüldü ($p=0,003$). Akut hastaların %29'unda kan kültürü üremesi saptanırken %7'sinde de eklem kültüründe üreme oldu. Subakut hasta grubunun %20'sinde, relaps hastalarının %10,5'inde kan kültüründe üreme oldu. Kronik hasta sınıfında olan 26 hastadan sadece 1 hastada kan kültüründe üreme saptandı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Hastaların kan kültürü sonuçlarına ve klinik sınıflarına göre dağılımının sütun grafikte gösterimi

Hastalar brücellozun komplikasyonları ya da organ tutulumu açısından tetkik edildiğinde (Tablo 4.7.) 14'ünde (%11,7) sakroileit; 6'sında (%5) spondilodiskit, 4'ünde (%3,3) testis tutulumu, 3'ünde (%2,5) artrit ve 3'ünde (%2,5) lenfadenit olduğu saptandı. Gruplara göre kıyaslama yapıldığında (Tablo 4.7.) komplikasyonlar açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,119$). Sakroileit, spondilodiskit ve periferik artriti bulunan 24 hastanın yaş ortalaması ($44,8 \pm 16,7$) ile kemik eklem tutulumu olmayan 96 hastanın yaş ortalaması ($43,4 \pm 16,2$) karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,703$). Spondilodiskiti olan 6 hastanın yaş ortalaması $52,17 \pm 12,87$ olarak bulunurken, spondilodiskiti bulunmayan hastaların yaş ortalaması $43,29 \pm 16,36$ olarak hesaplandı. Aralarında 10 yaşa yakın fark görünmesine rağmen az sayıda vaka olması nedeniyle bu fark istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmadığı görüldü ($p=0,194$).

Tablo 4.7. Brusellozda Görülen Organ Tutulumlarının Hastaların Klinik Sınıfına Göre Dağılımı

Organ Tutulumu	Klinik sınıfı % (n)				Toplam (n=120)
	Akut (n=45)	Subakut (n=30)	Kronik (n=26)	Relaps (n=19)	
Saptanmadı	%76 (34)	%73 (22)	%85 (22)	%63 (12)	%75 (90)
Sakroileit	%9 (4)	%10 (3)	%8 (2)	%26 (5)	%12 (14)
Spondilodiskit	%2 (1)	%10 (3)	%0 (0)	%11 (2)	%5 (6)
Orşit	%7 (3)	%0 (0)	%4 (1)	%0 (0)	%3 (4)
Artrit	%7 (3)	%0 (0)	%0 (0)	%0 (0)	%2,5 (3)
Lenfadenit	%0 (0)	%7 (2)	%4 (1)	%0 (0)	%2,5 (3)

Hastaların alınan laboratuvar parametrelerinin gruplara göre dağılımı tablo 4.8.'de gösterilmiştir. Yapılan analiz sonrasında AST, ALT, CRP sedimentasyon değerlerinin gruplar arasında normal dağılmadığı görüldüğü için en düşük ve en yüksek değerleri verilmiştir. Gruplar arası laboratuvar değerlerinin istatistiksel anlamlılık düzeyine bakıldığında sadece akut hasta grubunda CRP'nin anlamlı seviyede yüksek olduğu görüldü ($p=0,013$). Akut hastalardaki CRP'nin ortalama değeri 73,83'ken, diğerlerinin ortalaması 52,5 ölçüldü. En yüksek CRP seviyeleri akut gruba ait iken bunu relaps grubu takip ediyordu. Gruplar arasında diğer laboratuvar değerler arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.8. Hastaların Alınan Laboratuvar Parametrelerinin Gruplara Göre Dağılımı

Laboratuvar parametresi	Akut Ort±SD		Subakut Ort±SD		Kronik Ort±SD		Relaps Ort±SD	
WBC (µL)	7162,44 ± 2660		7865 ± 3046		7466,54 ± 1662		7428,42 ± 1692	
Lenfosit sayısı (µL)	2375,56 ± 753		2408,67 ± 762		2433,85 ± 783		2583,16 ± 939	
Nötrofil sayısı (µL)	4008,67 ± 2390		4237,67 ± 1634		4254,62 ± 1237		4012,11 ± 1884	
Platelet sayısı (µL)	282088,89 ± 97966		266833,33 ± 72232		284192,31 ± 73114		275894,74 ± 92913	
LL-37 (ng/ml)	36,67 ± 7,34		26,59 ± 5,82		20,33 ± 5,58		35,14 ± 5,14	
Normal dağılım göstermeyen parametreler	Minimum değer	Maksimum değer	Minimum değer	Maksimum değer	Minimum değer	Maksimum değer	Minimum değer	Maksimum değer
AST* (U/L)	10	281	10	44	11	57	5	63
ALT* (U/L)	8	422	7	75	10	71	6	110
CRP* (mg/L)	1	170	1	68	1	53	1	209
ESR* (mm/h)	2	86	1	51	3	84	2	85

Ort±SD: Ortalama± standart deviasyon. WBC: Beyaz küre sayısı, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, CRP: C-reaktif protein, ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı

*: Normal dağılım göstermeyen parametreler minimum maksimum değerleriyle verilmiştir.

Hastaların laboratuvar değerleri anormal olanların gruplara göre kıyaslandığı veriler Tablo 4.9’da gösterilmiştir. Hastalarda en sık görülen laboratuvar bulgusu CRP yüksekliği (%57,5), sonra ESR yüksekliği (%37) olarak saptandı. ALT yüksekliği (%29), AST yüksekliğinden (%15) ön plandaydı ve AST’si yüksek olan 2 hasta hariç hepsinin ALT’si de yüksekti. Bu 2 hastanın da ALT’si 30 IU/L üzerindeydi. WBC düşüklüğü olan 3 hasta da akut sınıfındaydı. Platelet sayısı 150000/mm³ altında olan 4 hasta vardı; 3’ü akut, 1’i subakut bruselloz grubundaydı.

Tablo 4.9. Hasta Bulgularının Sayı, Yüzde ve Klinik Gruplara Göre Sınıflandırılması

Laboratuvar parametreleri		Akut	Subakut	Kronik	Relaps	Toplam	
		(%)	(%)	(%)	(%)	Sayı (n)	%
WBC (µL)	<4000/mm ³	4	0	0	0	3	2,5
	>10000/mm ³	13	7	8	5	11	9
Platelet sayısı (µL)	<150000/mm ³	7	3	0	0	4	3
AST (U/L)	>40 IU/L	31	3	4	10	15	12,5
ALT (U/L)	>40 IU/L	36	20	12	21	29	24
CRP (mg/L)	>5 mg/dL	64	53	42	53	69	57,5
ESR (mm/h)	>20 mm/s	44	30	23	42	44	37

WBC: Beyaz küre sayısı, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, CRP: C-reaktif protein, ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı

AST’si ve ALT’si 40 IU/L’nin üzerinde olan hastalarla 40 IU/L’nin altında olan hastalar kan kültürü üremesi olup olmamaları açısından kıyaslandığında aralarındaki fark anlamlı olarak hesaplandı (her ikisi için de $p=0,001$) (Tablo 4.10. ve Tablo 4.11.). Böylece AST ya da ALT yüksekliği olan hastaların kan kültüründe üreme olma ihtimalinin daha yüksek olduğu görüldü.

Tablo 4.10. AST Değeri ile Kan Kültürü Üremesinin Karşılaştırılması

	AST’si normal olanlar	AST’si 40 IU/L’nin üzerinde olanlar
Kan kültüründe üreme olmayanların sayısı (yüzdesi)	86 (%72)	9 (%7,5)
Kan kültüründe <i>Brucella spp</i> üremesi olanların sayısı (yüzdesi)	14 (%12)	8 (%7)

AST: Aspartat aminotransferaz

Tablo 4.11. ALT Değeri ile Kan Kültürü Üremesinin Karşılaştırılması

	ALT'si normal olanlar	ALT'si 40 IU/L'nin üzerinde olanlar
Kan kültüründe üreme olmayanların sayısı (yüzdesi)	78 (%65)	17 (%14)
Kan kültüründe <i>Brucella spp</i> üremesi olanların sayısı (yüzdesi)	11 (%9)	11 (%9)

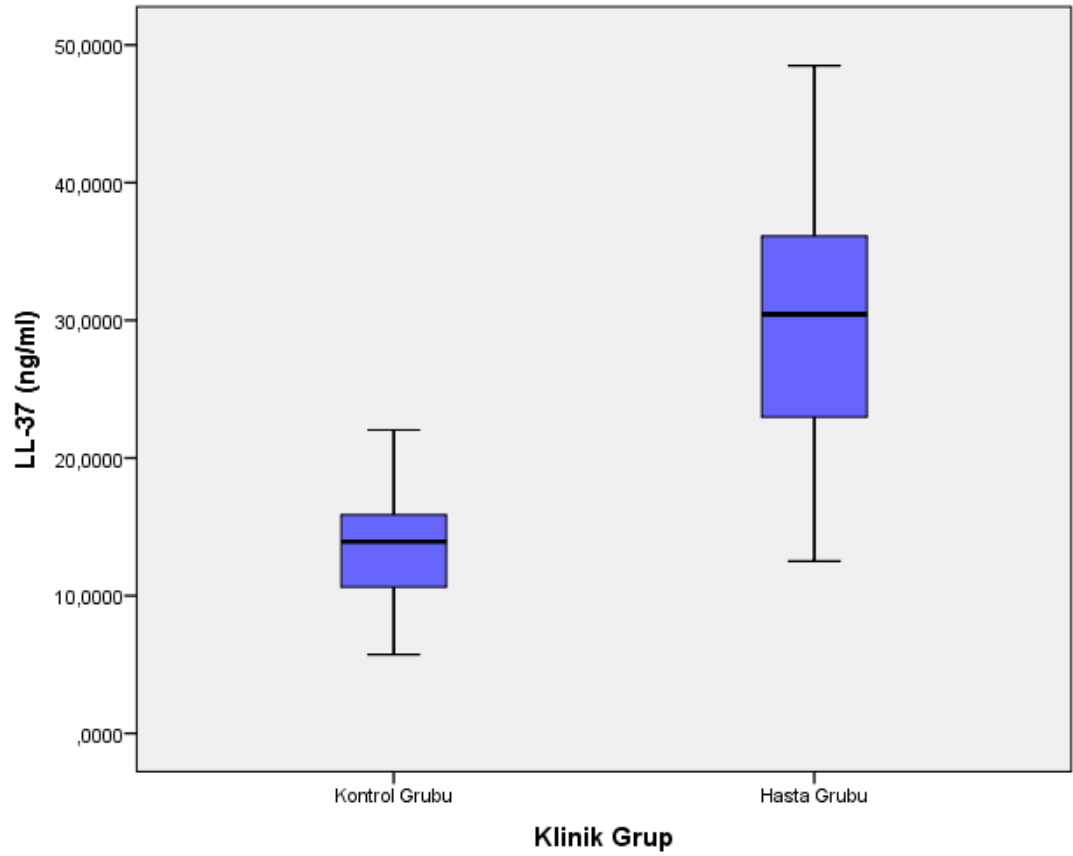
ALT: Alanin aminotransferaz

AST'si ve ALT'si 40 IU/L'nin üzerinde olan hastalarla 40 IU/L'nin altında olan hastalar, Wright titre sonuçları açısından kıyaslandığında aralarındaki fark anlamlı olarak hesaplandı (AST için $p=0,002$, ALT için $p=0,041$). Böylece AST ya da ALT yüksekliği olan hastaların Wright pozitiflik seviyesinin daha yüksek olduğu görüldü.

Kadınlarla ($29,26\pm9,7$) erkeklerin ($31,24\pm8,5$) serum LL-37 seviyeleri kıyaslandığında aralarında anlamlı seviyede farkı saptanmadı ($p= 0,238$).

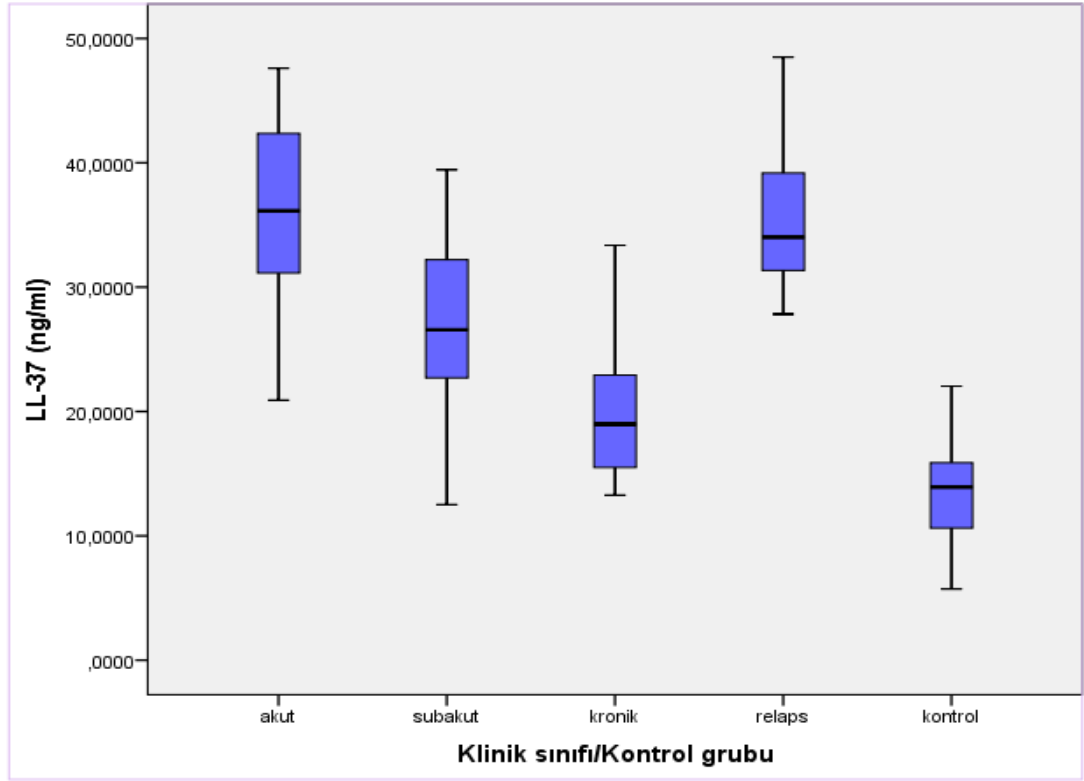
Hasta ve kontrol grubunda LL-37 seviyesinin yaşla ilişkisi değerlendirildiğinde $r=-0,025$, $p=0,784$ değerleriyle anlamlı korelasyon olmadığı görüldü.

Kontrol grubunun serum LL-37 seviyelerinin ortalaması $13,68\pm 3,79$ ng/ml iken hasta grubunki $30,36\pm9,11$ ng/ml olarak ölçüldü ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$) (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Hasta ve kontrol grubunun LL-37 değerinin karşılaştırılması

Hastaların serum LL-37 seviyelerinin, klinik gruplarına göre tek tek incelendiği değerler Şekil 4.9'da gösterilmiştir. LL-37 seviyesi ortalama±standart sapma olarak bakıldığında akut grupta $36,67 \pm 7,34$; subakutta $26,59 \pm 5,82$; kronikte $20,33 \pm 5,58$ iken relaps hastalarında $35,14 \pm 5,14$ olarak ölçüldü. LL-37 seviyesi en yüksek akut brüceloz hastalarında görülürken, en düşük kronik brüceloz hastalarında görüldü.



Şekil 4.9. Hastaların serum LL-37 seviyelerinin gruplarına göre kıyaslanması

Akut, subakut, kronik ve relaps olmak üzere dört klinik form ile kontrol grubu arasındaki LL-37 seviyeleri karşılaştırıldığında, akut ve relaps grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış ($p=0,898$), ancak diğer tüm gruplar arasında anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Bu farklara ait p değerleri Tablo 4.12.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.12. Gruplar Arası Serum LL-37 Seviyesi Kıyaslaması

Klinik sınıfı	Klinik sınıfı	İki sınıf arası ortalama LL-37 farkı (ng/ml)	p değeri
akut	subakut	10,0787778*	,000
	kronik	16,3402393*	,000
	relaps	1,5296725	,898
	kontrol	22,9842778*	,000
subakut	kronik	6,2614615*	,002
	relaps	-8,5491053*	,000
	kontrol	12,9055000*	,000
kronik	relaps	-14,8105668*	,000
	kontrol	6,6440385*	,000
relaps	kontrol	21,4546053*	,000

Hastaların laboratuvar değerlerinin LL-37 ile korelasyonunun kıyaslandığı veriler Tablo 4.13’de gösterilmiştir. LL-37 seviyesiyle ALT, CRP VE ESR arasında istatistiksel anlamlı, zayıf pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla p değeri 0,021, 0,004, 0,009).

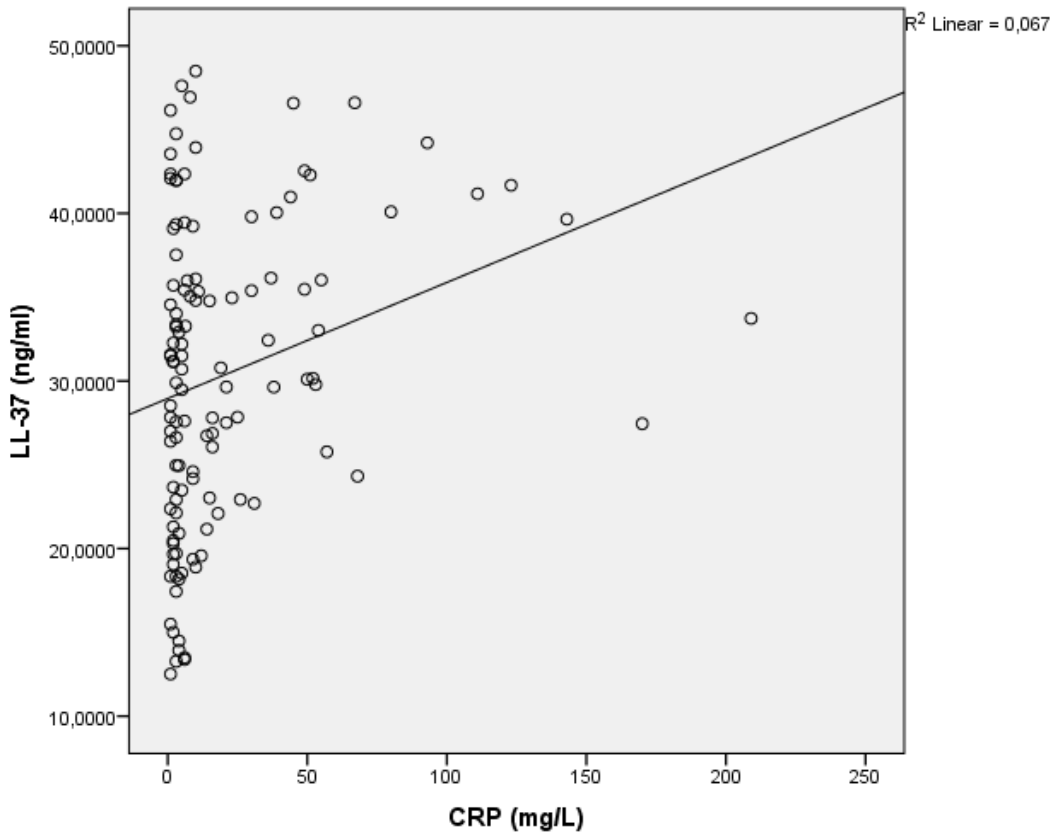
Tablo 4.13. Brusellozlu Hastalarda LL-37 Düzeyleri İle Hemogram Ve Biyokimya Değerleri Arasındaki İlişki

		WBC (μ L)	Nötrof il sayısı (μ L)	Lenfos it sayısı (μ L)	Trombos it ($10^3/\mu$ L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	CRP (mg/L)	ESR (mm/h)
LL-37 (ng/ml)	r	-0,161	-0,095	-0,03	0,017	0,146	0,210	0,261	0,238
	p	0,078	0,301	0,742	0,853	0,112	0,021	0,004	0,009

r: Spearman’s rho korelasyon katsayısı

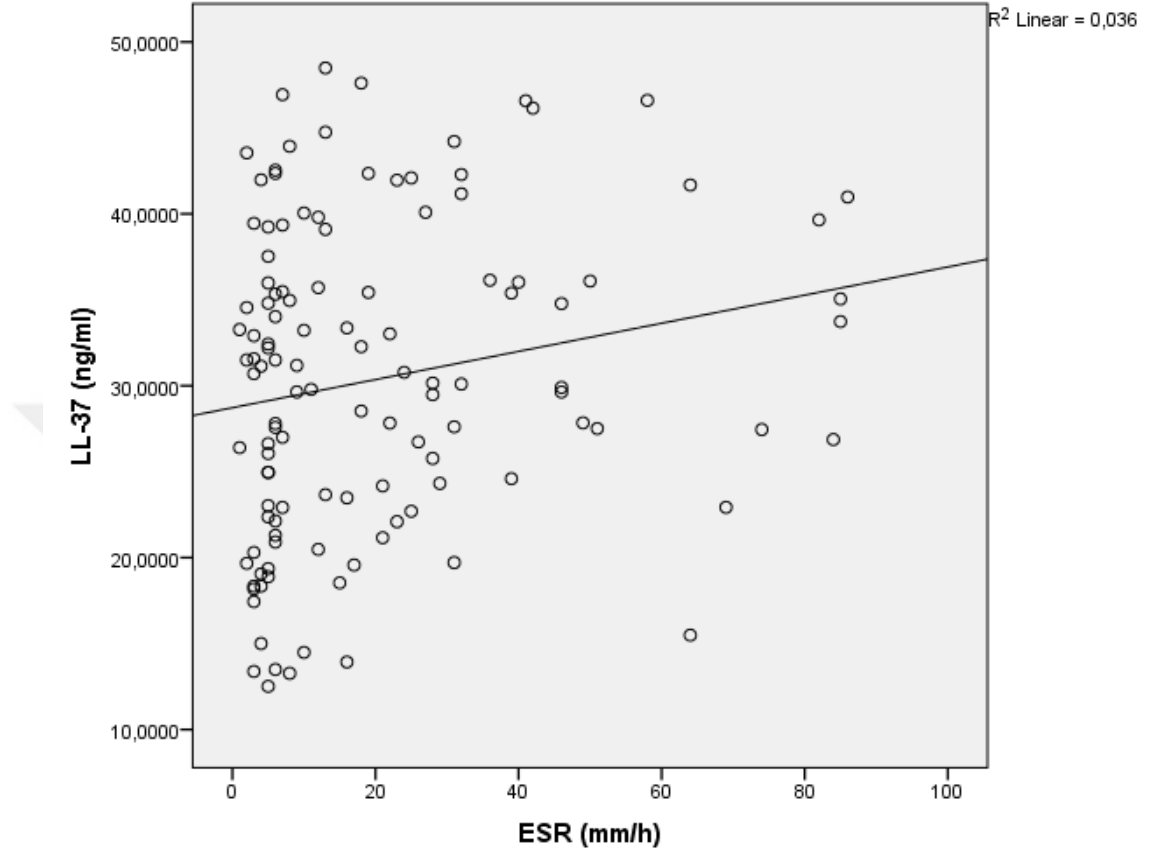
WBC: Beyaz küre sayısı, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, CRP: C-reaktif protein, ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı

Hastaların CRP değerleriyle LL-37 sonuçları karşılaştırıldığında $p=0,004$; $r=0,261$ olan, istatistiksel anlamlı, zayıf pozitif korelasyon saptandı (Şekil 4.10.).



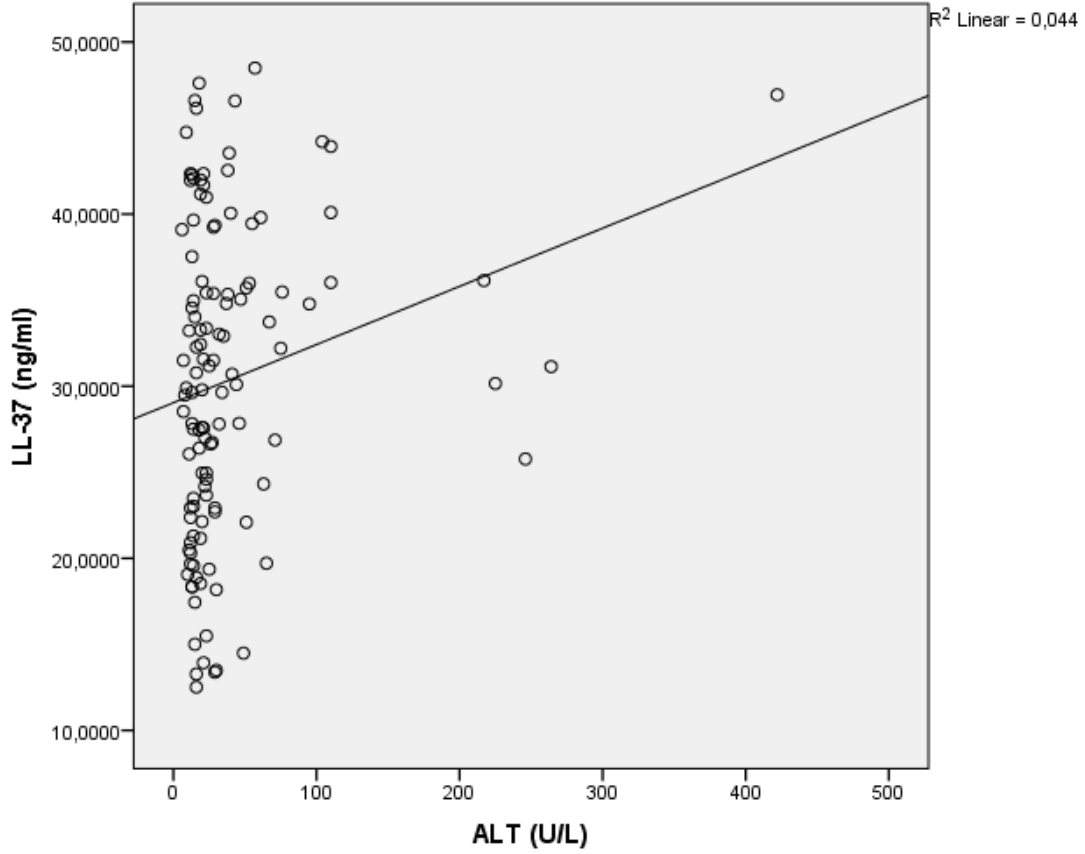
Şekil 4.10. Hastaların CRP değerleriyle LL-37 değerleri arası korelasyon grafiği

Hastaların sedimentasyon seviyeleriyle LL-37 seviyeleri karşılaştırıldığında $p=0,009$; $r=0,238$ olan, istatistiksel anlamlı, zayıf pozitif korelasyon saptandı (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Hastaların sedimentasyon değerleriyle LL-37 değerleri arası korelasyon grafiği

Hastaların ALT sonuçları serum LL-37 sonuçlarıyla karşılaştırıldığında $p=0,02$; $r=0,21$ olan, istatistiksel anlamlı, zayıf pozitif korelasyon saptandı (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. Hastaların ALT değerleriyle LL-37 değerleri arası korelasyon grafiği

Hem CRP, hem sedimentasyon hem de ALT değerleriyle saptanan korelasyonla LL-37 artışında bu 3 parametrenin de arttığı gösterildi. Diğer laboratuvar parametreleriyle LL-37 arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).

Hastalardan kan kültüründe *Brucella spp.* üremesi olanlarla olmayanların LL-37 seviyeleri karşılaştırıldığında, üreme olanların ortalama serum LL-37 seviyeleri $35,37 \pm 7,74$ ng/ml iken, üreme olmayanlarınki $28,85 \pm 8,88$ ng/ml olarak hesaplandı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,002$). Artrit saptanarak eklem sıvısı kültürü gönderilen ve eklem kültüründe *Brucella spp.* üremesi olan 3 hasta vardı ve tümü akut bruselloz sınıfındaydı. Bu 3 hastanın LL-37 seviyesi ortalaması $41,62 \pm 5,34$ ng/ml değeriyle her iki gruptan daha yüksek ölçüldü fakat sayı yetersizliği sebebiyle istatistiksel analiz yapılamadı.

Hastaların LL-37 seviyeleriyle ELIZA sonuçları karşılaştırıldığında en yüksek LL-37 seviyesi aynı anda hem Ig M hem Ig G pozitif hastalarda görülürken ($32,94 \pm 7,4$ ng/ml), en düşük LL-37 seviyesi sadece IgM pozitif hastalarda ölçüldü ($27,5 \pm 10,5$ ng/ml) fakat gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,092$).

Hastaların LL-37 seviyeleriyle serum tüp aglutinasyon sonuçları karşılaştırıldığında daha yüksek Wright titresi olan hastalarda daha yüksek LL-37 sonuçları görülmesine rağmen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,401$).

Hastalar brusellozun lokal tutulumlarına göre LL-37 seviyeleri açısından değerlendirildiğinde; kemik eklem lokal tutulumu olmayan bruselloz hastalarıyla sakroilet, spondilodiskit ya da artriti olanlar LL-37 seviyeleri açısından kıyaslandığında kemik eklem tutulumu olanların ortamala LL-37 seviyeleri $39,01 \pm 11,82$ ng/ml iken olmayanların LL-37 seviyeleri $29,83 \pm 18,27$ ng/ml olarak ölçüldü. Aralarındaki p değeri 0,032 ile anlamlıydı. Orşit ve lenfadeniti olan hastalarda anlamlı LL-37 yüksekliği saptanmadı ($p=0,46$).

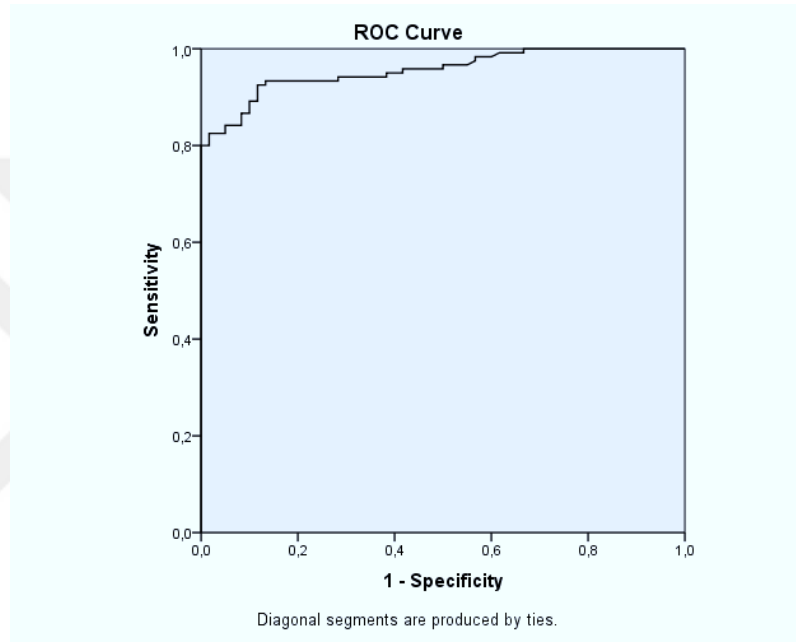
Serum LL-37 düzeylerinin lökosit sayısı ile ilişkisi incelendi. Lökosit başına ne kadar LL-37 üretildiğini gösteren LL-37(ng/ml)/lökosit sayısı (μ L) olarak hesaplanan bu değer, kontrol grubunun lökosit sayısı verisinin elimizde olmaması sebebiyle kontrol grubunda ölçülemedi ve hasta grupla kıyaslanamadı. Bahsi geçen değer kan kültürü üremesi olan grupta anlamlı seviyede daha yüksek olduğu görüldü ($p=0,003$) (Tablo 4.14.).

Tablo 4.14. Lökosit Başına Düşen LL-37 Miktarı İle Kan Kültürü Sonuçlarının Kıyası

Kültür sonuçları		Minimum Lökosit başına düşen LL-37 miktarı	Maksimum Lökosit başına düşen LL-37 miktarı	Mean Rank
Üreme olmayanlar	Lökosit başına düşen LL-37 miktarı	0,001403	0,065000	54,49
Kan kültüründe <i>Brucella</i> <i>spp</i> üremesi olanlar	Lökosit başına düşen LL-37 miktarı	0,002944	0,014704	78,45

Çalışmamızda lökosit başına düşen LL-37 seviyesi ile komplikasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p=0,075$).

Belirli bir yöntemin öngörü gücünün bir ifadesi olan ROC eğrisi; serum LL-37 seviyesinin duyarlılık, özgüllük, eğri altındaki alan (AUC) ve kesim noktası değerini hesaplamak için kullanılmıştır. LL-37 için ROC analizi yapıldığında (Şekil 4.13.) cut-off değeri 18,26 ng/mL olan serum LL-37 seviyeleri, bruselloz vakalarını sağlıklı bireylerden ayırt etmede %92 sensitivite ve %88 spesivite gösterdi; pozitif prediktif değeri %82 ve negatif prediktif değeri %91 idi (AUC = 0,956, $P < 0,001$, %95 güven aralığı 0,93–0,98, negatif sonuç için olasılık oranı = 0,09, pozitif sonuç için olasılık oranı = 7,66).



Şekil 4.13. LL-37 değerinin tanısal değerini gösteren ROC eğrisi

5. TARTIŞMA

Bruselloz, *Brucella* türlerinin sebep olduğu bir hastalıktır. İnsanlara küçük ve büyük baş hayvanlar, domuz ve nadiren diğer hayvan türlerinden bulaşan bir zoonozdur (129). “Dalgali ateş”, “Akdeniz ateşi” veya “Malta humması” olarak da isimlendirilir. *Brusella spp*; gram negatif, hareketsiz, fakültatif aerobik, intraselüler bir kokobasildir (22). Bugüne kadar 11 *Brucella* türü tanımlanmıştır. *Brucella* türleri arasında insanlarda en şiddetli enfeksiyona *B. melitensis* neden olur, bunu *B. suis* ve *B. abortus* izler. Bruselloz, Türkiye’nin de içinde bulunduğu Latin Amerika, Orta Doğu, Afrika ve Asya’ya endemik olarak görülmektedir (130). İnkübasyon süresi yaklaşık 2-3 hafta kadardır. Vücuda giriş yolu sıklıkla gastrointestinal sistemden, nadiren konjonktiva, cilt veya solunum yolundan olmaktadır (131).

Bruselloz sıklıkla 4 farklı klinik formda gruplandırılır, bunlar; akut, subakut, kronik ve relapstır. Semptom ve bulguların 2 aydan kısa süredir olması durumunda akut, 2 ay ile 1 yıl arasında olması durumunda subakut, 1 yıldan uzun süredir olması durumunda kronik brusellozdan bahsedilir. Bruselloz tedavisini takip eden 1 yıl içerisinde, fizik muayene ve laboratuvar bulgularıyla tekrar eden olgular relaps olarak isimlendirilir (132). Bruselloz hastalarının incelendiği çalışmaların çoğunda relaps hastalarına yönelik bir gruplandırmanın genellikle yer almadığı göz önüne alındığında, çalışmamızın bu açıdan özgün bir katkı sağladığı düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki hastaların %44,2’si kadın, %55,8’i erkekti. Düşük insidans oranına sahip ülkelerde bruselloz, mesleki risk faktörleri nedeniyle erkeklerde daha yaygın görülmektedir; ancak, hastalığın endemik olduğu ülkelerde cinsiyet farkının bulunmadığı bilinmektedir (133). 57 çalışmanın derlendiği bir metaanalizde yetişkin grupta bruselloz hastalarının %56’sının erkek, %44’ünün kadın olduğu bulunmuştur (134). 2022 yılında yayınlanan farklı bir meta analizde de kadınlarda erkekler arasında anlamlı fark olmadığı belirtilmiştir (135). 7 yıl boyunca başvuran 447 bruselloz hastasının dâhil edildiği bir çalışmada %58’i kadinken, aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır (136). Türkiye’de yapılan bir çalışmada da %51 erkek oranıyla fark oldukça az görülmüştür (57). Endemik bölgede olduğumuzu destekler şekilde çalışmamızda vaka sayısı açısından cinsiyetler arası anlamlı fark görülmemiştir.

DSÖ’ye göre hastalık tüm yaş gruplarını etkileyebilmesine rağmen en çok 20-45 yaş arası genç erişkinleri etkiler (9). Çin’de yapılan bir meta analizde çok sayıda bruselloz hastasının yaşlarına bakıldığı ama herhangi bir yaş aralığında anlamlı birikme olmadığı

gösterilmiştir (137). Kenya'daki bir çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur (138). 4 yılda bruselloz tanısı girilen 244 bin hastanın ele alındığı bir çalışmada en yüksek insidans 40-65 yaş grubunda kümелendiği görülmüştür (139). Alonso ve arkadaşlarının yaptığı 5600'e yakın hastayı içeren çalışmada vakaların %39'u 15-45 yaş arasındadır ve yaş ortalaması $45,8 \pm 21,1$ 'dir (140). Türkiye'de yapılan bir çalışmada yaş ortalaması $32,7 \pm 14,4$ olarak saptanmıştır (57). Çalışmamızda hastaların yaş gruplarının istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta olmadığı ve hasta grubun yaş ortalamasının $43,73 \pm 16,28$ olduğu hesaplanmıştır.

Bruselloz koyun, keçi ve sığır gibi hayvanlarla temas sonucu veya bu hayvanların süt ürünlerinin tüketilmesi ile insanlara bulaşır. Bu sebeple bruselloz için risk grupları; hayvan yetiştiricileri, veteriner hekimler, çiftçiler, mezbaha çalışanları, kasaplar, çobanlar, et sanayisinde çalışanlar ve taze süt ve süt ürünü tüketenler ile kırsal kesimde yaşayanlardır. Ülkemizdeki en sık bulaş yolunun çiğ süttten yapılan peynir tüketimi olduğu bilinmektedir (130, 141). Türkiye gibi endemik ülkelerde başlıca bulaş kaynağının pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketimi olduğu, gelişmiş ülkelerde ise daha çok solunum yoluyla gerçekleştiği belirtilmiştir (142). Ülkemizde farklı seri çalışmalar, hayvancılık ve mesleki temasın %25-90 arasında, çiğ süt ürünleri kullanımının ise %30-75 arasında değiştiğini göstermektedir (57, 141, 143-145). Çalışmamızda hastaların %97'sinde şüpheli süt veya süt ürünleri tüketimi öyküsü mevcutken %74'ün de hayvancılık öyküsü vardı. Anamnez alınırken kapsayıcılığı artırmak adına "pastörize edilmiş, market zincirlerinde satılan peynir veya süt dışında kalan peynir/süt tüketimi öyküsü" şeklinde sorgulandığı için bu oranın yüksek çıktığını tahmin ediyoruz.

Ülkemizde, Isparta bölgesinde yapılan ve 280 bruselloz olgusunun araştırıldığı çalışmada, olguların %90'ının köy ve kasabalarda ikamet ettiği belirtilmiştir (145). Ankara ve çevre iller üzerinde yürütülen bir çalışmada ise 202 olgunun %76,2'sinin kırsal bölgelerde yaşadığı vurgulanmıştır (146). Tansel ve arkadaşlarının çalışmasında ise olguların %65'inin, Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında ise %54,5'inin kırsal bölgede yaşadığı rapor edilmiştir (144, 147). Çalışmamızda olgular yaşadıkları yere göre sınıflandırıldığında hastaların %70'i kırsal bölgede yaşarken %30'u ise kentte yaşıyordu.

Bruselloz hastalığında klinik seyir hastaya göre değişkenlik gösterir ve birçok sistemi etkileyen komplikasyonlara yol açabilir. Hastaların en sık başvuru semptomları; artralji, terleme, myalji, sırt ağrısı, ateştir. En sık tuttuğu sistem ise osteo-artiküler sistem ve hematopoetik sistemdir (132). Türkiye'de yapılan geniş vaka serili çalışmada en sık bildirilen

semptomlar olan artralji ve ateş sırasıyla %73,7 ve %72,2 oranında bulunmuştur, halsizlikse %71 ile üçüncü sıradadır (148). Farklı bir çalışmada %90 hastada halsizlik, %84'ünde terleme, %82'sinde eklem ağrısı, %80'inde ise ateş görülmüştür (54). Ülkemizden yapılan bazı çalışma sonuçlarına bakılırsa ateş %60-95, titreme %59-78, halsizlik %51-92, eklem ağrısı %38-90 oranında bildirilmiştir (149-153). Yurtdışı araştırmalara bakılırsa eklem ağrısı %65-80, ateş %68-82, halsizlik %38-87 aralığında görülmüştür (134, 154-156). Bizim çalışmamızda en sık semptom %83 oranında görülen kas eklem ağrısıydı. Bu şikâyeti %55'inde görülen halsizlik takip ediyordu. En sık görülen üçüncü semptom ise %48 oranıyla görülen terleme şikayeti idi.

Bruselloz tanısında kan kültürü, hastalığın doğrulanması için önemli bir yöntemdir ve genellikle "altın standart" olarak kabul edilir. Bununla birlikte, kan kültürünün pozitiflik oranı çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir. Akut bruselloz vakalarında kan kültürü pozitiflik oranları genellikle %80 ila %90 arasında olabilirken, bu oran kronik vakalarda %30 ila %70'e düşebilir. Pozitiflik oranları üzerinde, hastanın antibiyotik kullanımı, kültür yöntemi, alınan kan örneğinin hacmi ve hastalığın evresi gibi değişkenler etkilidir (157, 158). Katar'da yapılan bir çalışmada hastaların %64'ünde, Çin'de yapılan bir çalışmada hastaların %48'inde, Türkiye'de yapılan bir çalışmada hastaların %51,2'sinde, Gürcistan'da yapılan bir çalışmada hastaların %12,2'sinde kan kültürü pozitifliği bildirilmiştir (159-162). Çalışmamızda hastaların hepsinden kan kültürü alındı ve tüm bruselloz hastalarının %18,3'ünde kan kültüründe üreme saptanırken 3 hastanın eklem sıvı kültüründe üreme oldu. Kan kültürü pozitiflik oranlarındaki bu değişkenlik, enfekte olunan *Brucella* türü, hastanın yaşı, semptomların süresi, odak tutulumunun varlığı, antibiyotik kullanımı, kültüre alınan kan örneğinin hacmi, kültür sayısı, inkübasyon süresi ve kan kültürü sisteminin hassasiyeti gibi birçok faktöre bağlanabilir. Akut bruselloz vakalarında kan kültürünün pozitiflik oranı bazı kaynaklarda %80–90'a kadar çıkabilirken, kronik vakalarda bu oran %0'a kadar düşebilir (72, 163) Bizim çalışma grubumuzdaki kronik ve relaps hasta sayısının yüksek olması ve bu hasta grubunda kan kültüründe üreme ihtimalinin düşük olması sebebiyle diğer çalışmalara kıyasla kan kültüründe üreme saptanan hasta yüzdesinin literatürden düşük olması beklenen bir bulgudur.

Literatürde akut bruselloz hastalarında kan kültürü pozitifliğinin, subakut ve kronik hastalardan daha fazla olduğu geçmektedir (51, 164). Bizim çalışmamızda da kan kültürü üremeleri gruplara göre değerlendirildiğinde akut hastaların %29'unda kan kültürü üremesi saptandı ve bu oran diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksekti. İkinci

sırada subakut hasta grubunda kan kültür pozitifliği görülürken üçüncü sırada relaps hastaları vardı. Kronik hasta sınıfında sadece 1 hastada kan kültüründe üreme saptandı.

Çalışmamızda hastaların ELISA Immunglobulin M ve G sonuçlarına bakıldığında gruplar arasındaki fark anlamlı sonuçlanmadı. Tüm bruselloz hastalarının en sık görülen sonucu %44 oranıyla Ig M negatifliğine eşlik eden Ig G pozitifliği idi. En yüksek ELISA negatifliği akut grupta görülürken, en yüksek ELISA pozitifliği subakut grupta görüldü. ELISA IgG, akut ve subakut dönemlerde tanı koymada tek başına yeterli değildir. Bununla birlikte, diğer testlerle birlikte değerlendirilmesi gerekir ve özellikle akut dönemde IgM'nin negatif olduğu durumlarda mutlaka uygulanmalıdır. IgM genellikle ilk haftadan sonra saptanabilirken, IgG ise birkaç hafta sonra ortaya çıkmaktadır. Ancak, bu spesifik immünoglobülinlerin farklı dönemlerde kesin sınırlarla ayrılması mümkün değildir. Ayrıca, bruselloz gibi kronikleşme eğilimindeki bir hastalık için bu ayrımın tanısal değeri de tartışmalı bir konudur (165, 166).

Brusellozda en yaygın rastlanan komplikasyon, %10 ila %85 arasında değişen bir sıklıkla osteoartiküler tutulumudur. Periferik artrit, osteomyelit, diskrit, bursit ve tenosinovit, diğer osteoartiküler bulgular arasında yer almaktadır (55, 167, 168). Bir çalışmada sakroiliak eklemler (%53) ve omurga (%19) en sık tutulum gösteren bölgeler olarak belirlenmiş, omuzlar ise %16 oranıyla bu bölgeleri takip etmiştir (169). Yaptığımız çalışmada hastaların %11,7'sinde sakroileit; %5'inde spondilodiskit, %3,3'ünde testis tutulumu, %2,5'inde artrit ve %2,5'inde lenfadenit olduğu saptandı.

Literature bakıldığında osteoartiküler semptomların yaşla arttığı görüşü olan yazılar mevcuttur (170). Brusella spondiliti çoğunlukla 40-60 yaş aralığındaki bireylerde görülmektedir (171-174). İleri yaşın, hem spondilit hem de artrit gelişimi ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterdiği Kurtaran ve arkadaşlarının 14 yıllık çalışmasında gösterilmiştir (175). Bir çalışmada sakroileti tutulumunun daha genç yaşlarda görüldüğü gösterilmiştir (176). 447 hastayı içeren bir çalışmada spondilodiskitin yaşlı popülasyonda sıklığının arttığı ve sakroileitinse genç bruselloz hastalarında daha sık görüldüğü gösterilmiştir (136). Brusellozun kas iskelet sistemindeki tutulumunun incelendiği bir çalışmada sakroileit diğer yaş gruplarıyla kıyaslandığında en sık 15-45 yaş grubunda görülmüştür. Aynı çalışmada 45 yaş üzeri grupta spondilit tanısı alan hasta oranının %68 olduğu ve tüm spondilit tanılı hastaların ortalama yaşının $44,56 \pm 15,32$ yıl olarak hesaplandığı belirtilmiştir (177). Yaptığımız çalışmada hastalardan sakroileit, spondilodiskit ve periferik artriti olan ve

olmayanlar arasında yaş açısından istatistiksel anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,703$). Spondilodiskiti olan 6 kişinin yaş ortalaması, olmayanlarınkinden 10 yaş büyük sonuçlandı fakat sayı azlığı sebebiyle istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Hastaların laboratuvar bulguları incelendiğinde çalışmalar arasında belirgin farklılık olduğu görüldü. Sadece yatırılarak tedavi edilen bruselloz hastalarında yapılan bir çalışmada en sık görülen laboratuvar bulgusu WBC yüksekliği olmuştur ve %94 oranında görülmüştür. Bunu %75,3 ortak oranıyla anemi ve sedimentasyon hızı yüksekliği takip etmiştir (178). 2014'te Türkiye'den yayınlanan bir çalışmada en sık görülen bulgu %70 ortak oranıyla CRP yüksekliği ve anemi olmuştur. Aynı çalışmada AST yüksekliği %28, ALT yüksekliği %22, lökopeni 21%, trombositopeni %23 oranında görülmüştür (170). Namiduru ve ark. yaptığı çalışmada hastaların %71,6'sında relatif lenfomonositoz, %6,6'sında lökositoz ve %8,3'ünde lökopeni tespit edilmiştir. Anemi %36,6, pansitopeni %6,6, trombositopeni %3,3 oranında görülmüştür. Hastaların %55'inde ESR 20 mm/saat'in üzerinde bulunmuştur. Serum ALT yüksekliği %23,3, AST yüksekliği ise %17,5 oranında tespit edilmiştir (179). 418 bruselloz tanıli hastada yapılan bir çalışmada en sık görülen laboratuvar bulguları, C-reaktif protein seviyelerinin yükselmesi (%78,9) ve eritrosit sedimentasyon hızının artması (%62,4) olarak saptanmıştır (156). Bizim çalışmamızda hastalardaki en yaygın laboratuvar bulgusu CRP yüksekliği (%57,5) olarak belirlenirken, bunu ESR yüksekliği (%37) izledi. Lökopeni %2,5, lökositoz %9 oranında görüldü.

Brusellozda karaciğer tutulumu, transaminaz seviyelerindeki hafif yükselmeden karaciğer apsesi oluşumuna kadar değişkenlik gösterebilir. Bruselloz, endemik bölgelerde granümatöz hepatitin önemli nedenlerinden biridir. Retiküloendotelial sistemi öncelikli olarak etkileyen bir enfeksiyon olduğundan, transaminaz seviyelerinde hafif yükselmeler yaygın olarak gözlenir (180). Çalışmamızda ALT yüksekliği olan hasta oranı (%29), AST yüksekliği olan hasta oranına (%15) göre daha fazlaydı ve AST yüksekliği bulunan 2 hasta hariç, diğer tüm hastalarda ALT seviyeleri de artmıştı. Bu iki hastanın ALT seviyeleri de 30 IU/L'nin üzerindeydi. Karaciğer enzim oranları ve AST/ALT değerlerinin karaciğer hastalıklarının ayırımında nasıl kullanıldığının vurgulandığı bir çalışmada özellikle inflamatuvar karaciğer hastalıklarında, ALT seviyelerinin AST'ye göre daha fazla yükseldiği belirtilmiştir. Bu durum, granümatöz hepatit gibi inflamatuvar durumları içerebilir (181). Bruselloz hastalarımızda gelişen ALT ön planda AST yüksekliği granümatöz hepatit tablosuyla açıklanabilir.

Çalışmamızda AST ve ALT'si yüksek olan hastaların kan kültüründe *Brucella spp.* üreme ihtimalinin anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Konya ve ark. yaptığı çalışmada karaciğer enzim yükselmeleri ile kan kültürü pozitifliği arasında anlamlı bir bağ olduğunu göstermiş ve AST-ALT seviyeleri yüksek olan hastaların daha sık bakteremi geçirdiğini ortaya koymuştur (182).

Antimikrobiyal peptit LL-37, katelisidin ailesine mensup olup, insandan izole edilen ilk amfipatik alfa-helikal peptit olarak tanımlanmıştır. İn vitro çalışmalar LL-37'nin, diğer adıyla hCAP18'in hem bakteriyel hücreler hem de normal ökaryotik hücreler üzerinde sitotoksik etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (12). İnsan kaynaklı antimikrobiyal bir peptit olan LL-37, geniş spektrumlu antibakteriyel ve anti-biyofilm etkilerinin yanı sıra immünmodülatör özellikler sergilediğinden, geleneksel antibiyotiklere alternatif bir ajan olarak değerlendirilmektedir. Güçlü antimikrobiyal etkilerine rağmen, yüksek maliyet, fizyolojik koşullarda etkinliğin azalması, proteolitik yıkıma karşı duyarlılık ve insan hücrelerine toksisite gibi çeşitli dezavantajlar nedeniyle henüz peptit antibiyotik olarak onaylanmamıştır (13).

Bruselloz, bağışıklık sistemi üzerinde çeşitli etkiler yaratabilen, bakteriyel bir enfeksiyondur ve bu hastalığın kontrolü, vücutta bulunan antimikrobiyal peptitlerin etkinliğine bağlıdır. LL-37, birçok patojene karşı güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olup, yaptığımız çalışmada serum seviyelerinin ölçülmesi, LL-37'nin enfeksiyonla mücadeledeki rolünü daha iyi anlamamıza olanak tanımaktadır. Serum LL-37 seviyelerindeki değişimler, hastalığın seyrine göre farklılık gösterebilir ve bu peptidin potansiyel olarak bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bruselloz hastalarında serum LL-37 seviyelerinin, enfeksiyonun erken tespiti ve tedavi stratejilerinin iyileştirilmesi açısından önemli bir gösterge olabileceği öngörülebilir. Bu bulgular, daha fazla araştırma ve klinik çalışmalarla desteklenmelidir.

2005'te yapılan bir çalışmada V γ 9V δ 2 T hücreleri tarafından salgılanan çözünür faktörlerin, güçlü bakterisidal etkileri aracılığıyla *B. suis*'in hayatta kalmasını azalttığı gösterilmiştir (183). Aynı ekip bu çalışmadan hareketle 2006 yılında bir çalışma daha yapmıştır ve *Brucella*'nın çoğalmasını durdurarak veya öldürerek bakteri sayısını azaltabilen V γ 9V δ 2 T hücreleri tarafından salgılanan çözünür faktörün tanımlanmasına odaklanmıştır. V γ 9V δ 2 T hücrelerinin hem α -defensinleri hem de daha yüksek seviyelerde insan katelisidininin prekürsörü olan hCAP18'i ürettiğini tespit ettikten sonra olgun insan

katelisisidini olan LL-37'nin, aktive edilmiş Vγ9Vδ2 T hücrelerinden salındığını ve *Brucella suis* üzerinde antimikrobiyal bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir (14).

İn vitro yapılan bir çalışmada, LL-37'nin gram negatif bakterilerden *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve gram pozitiflerden *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı güçlü antimikrobiyal etkiler gösterdiği ortaya konmuştur. LL-37 molekülünün gram negatif bakterilerde lipopolisakkarit (LPS) ile etkileşim yoluyla zar geçirgenliğini bozarak etkili olduğu, ancak *Candida albicans* gibi fungal mikroorganizmalarda etkili olmadığı belirtilmiştir (184). Bu bulgular, LL-37'nin terapötik potansiyelini desteklemektedir. *Brucella* suşları hem gram negatif olmasıyla hem hücre içi patojen olmasıyla *Salmonella*yla benzer bir mekanizmayla LL-37'den etkileniyor olabilir fakat *Brucella*'nın LPS yapısı diğer gram negatiflerden daha düşük immünojeniktir ve bu, bağışıklık yanıtında farklılıklara neden olabilir.

İn vivo koşullarda yürütülen başka bir çalışmada LL-37'nin *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, vankomisin dirençli *Enterococci*, metisilin dirençli *S. aureus*, *Proteus mirabilis*, ve *Candida albicans* patojenlerine karşı etkili olduğu gösterilmiştir (185). LL-37'nin LPS'ye bağlanma ve mikroorganizmalara karşı korunma mekanizmalarındaki rolü, bruselloz gibi bakteriyel enfeksiyonlarda bağışıklık sisteminin nasıl işlediğini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir. Bu bağlamda, LL-37 seviyelerinin bruselloz hastalarında nasıl değiştiğini incelemek, tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli bir yol haritası sunabilir.

Çalışmamızda kontrol grubunun serum LL-37 seviyelerinin ortalaması $13,68 \pm 3,79$ ng/ml ölçülmüştür. Bu değer bruselloz hastalarında $30,36 \pm 9,11$ ng/ml olarak ölçülmüştür ve hastaların LL-37 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksektir. Literatürde LL-37 seviyesinin bruselloz hastalarında ölçüldüğü başka bir çalışma bulunamamıştır. Bu bağlamda, çalışmamızın LL-37 düzeylerinin bruselloz hastalığındaki rolüne yönelik gerçekleştirilen ilk çalışma olduğunu düşünmekteyiz.

Yenidoğanlarda yapılan bir çalışmada trakeal sıvıda LL-37 molekül seviyesinin, pnömonisi olan ve/veya sistemik enfeksiyonu olan bebeklerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (186). Iacob ve ark. hepatit hastaları üzerine yaptığı çalışmada hem hepatit B hastalarında hem de hepatit C hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek LL-37 seviyesi ölçülmüştür (187).

Tüberküloz hastalarındaki ortalama serum LL-37 seviyeleri, gram pozitif ve gram negatif bakterilerin neden olduğu pnömoni hastalarına ve sağlıklı bireylere kıyasla belirgin şekilde yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada diğer tüberküloz dışı bakteriyel pnömonisi olan bireylerle sağlıklı bireyler arasındaki LL-37 seviye farkı istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ve bu bulgular, LL-37'nin özellikle intraselüler patojenlerin neden olduğu solunum yolu enfeksiyonlarında önemli bir savunma unsuru olduğunu düşündürmüştür (188). Bu sonucun çıkarılabileceği farklı bir çalışma Visser ve ark. tarafından yürütülmüştür ve BOS'ta LL-37 seviyesinin ölçülmesini içermektedir. Bakteriyel, viral menenjit ve tüberküloz menenjitin kıyaslandığı bu çalışmada tüberküloz menenjitli olan hastaların BOS LL-37 seviyesi istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek çıkmıştır (189). Bizim çalışmamızda da intraselüler bir etken olan *Brucella* türleriyle enfekte olan hastaların serum LL-37 seviyelerinin anlamlı seviyede yüksek olması intraselüler patojenlerle LL-37 arasındaki ilişkiye dikkat çekmiştir.

Hepatit C üzerinde invitro yapılan bir çalışmada LL-37 ile ön işleme tabi tutulan hücrelerde, hepatit C'nin core antijeninin hücre içi ve hücre dışı düzeylerinde azalma gösterilmiştir, bu durum HCV yayılmasının inhibisyonunu düşündürmüştür (190). Kistik fibrozis hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada serum LL-37 seviyesi yüksek olan hasta grubunda bronkoalveolar lavaj sıvısında rinovirus viral yükü daha düşük bulunmuştur (191). Bronşiolit nedeniyle hastaneye yatırılan bebeklerle ilgili geniş kapsamlı, çok merkezli bir çalışmada serum LL-37 seviyeleri ile bronşiolite en sık neden olan virüs olan Respiratuvar Sinsityal Virus (RSV) arasında ters bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (192). Konjonktiva ve kornea epiteli tarafından LL-37'nin bolca eksprese edilebildiği ve LL-37'nin göz patojenlerinden olan *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Herpes simplex* virüsü tip 1 ve adenovirüse karşı in vitro aktivitesi gösterilmiştir. Aynı çalışmada antiviral etki gösterdiği konsantrasyonlarda hücre sağkalım deneyi gerçekleştirilmiştir ve A549 hücrelerine karşı herhangi bir toksisite göstermediği ispatlanmıştır (111). *Poxviridae* ailesinin bir üyesi olan *Vaccinia* virus üzerinde yapılan deneyde invitro hücre kültürü ortamında LL-37 eklenmesi durumunda *Vaccinia* virusunun yaşayamadığı görülmüştür. Aynı çalışmada hücre kültürü ortamında LL-37 ile ek işleme tabii tutulan HSV-1 ile enfekte keratinositlerde, beş kritik interferon (IFN) ile uyarılmış genin (ISGs) (IFIT1, OAS1, ISG20, IRF7 ve viperin) ekspresyon seviyelerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Bu durumun sonucu olarak hücrelerde *Herpes simplex tip 1* virusunun azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca *Deng Humması virusu* ile enfekte nötrofillerde LL-37'ye ait mRNA üretiminin arttığı görülmüştür (193). Bu örnekler LL-37 molekülünün patojenlerden koruyucu

özelliğini ve enfeksiyon durumunda LL-37 üretim mekanizmalarının devreye girdiğini özetlemektedir. Çalışmamızda LL-37'nin brusellozdan koruyucu özelliğiyle ilgili bir veri olmamakla birlikte enfeksiyon durumunda tetiklendiğini gösteren veriler paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda bruselloz hastalarının CRP, sedimentasyon ve ALT değerleriyle LL-37 sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı, pozitif korelasyon saptandı. Diğer laboratuvar parametreleriyle LL-37 arasında korelasyon saptanmadı. Akciğer tüberkülozu, gram pozitif ve gram negatif pnömonili hastaların serum LL-37 seviyelerinin ELIZA yöntemiyle ölçüldüğü bahsi geçen çalışmada LL-37 ile CRP seviyesi veya WBC sayısı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (188). Romatoid artriti ve gingiviti olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada serum LL-37 ile ESR düzeyi arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir. Bu durum ortak inflamatuvar süreçlerle ilişkilendirilmiştir (194). Bizim çalışmamızda da bruselloz hastalarının serum LL-37 seviyeleriyle sedimentasyon seviyeleri arasında pozitif korelasyon vardı. Bakteriyel pnömonisi olan yenidoğanların serum LL-37 seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmada, hastaların CRP veya WBC sayısı ile LL-37 seviyesi korele bulunmamıştır (195). Kistik fibrozis hastalarından bronkoalveolar lavaj örneği alınarak bu örnekte LL-37 seviyesinin ölçüldüğü bir çalışmada inflamasyon belirteçleriyle LL-37 seviyesinin ilişkili olduğu, nötrofil sayısı ve WBC sayısı ile LL-37 seviyesinin korele olduğu bulunmuştur (196). Bizim çalışmamızda hücre sayılarıyla LL-37 arasında korelasyon saptanmamıştır.

Serum LL-37 seviyelerinin diğer laboratuvar parametreleriyle kıyaslandığı çalışma literatürde nadir olup çalışmamız tanı değeri açısından LL-37'nin biyobelirteç olarak kullanılmasıyla ilgili ışık tutmaktadır. LL-37'nin laboratuvar parametreleriyle karmaşık ilişkisi, enfeksiyonlar sırasında bağışıklık yanıtındaki rolünü vurgulamaktadır. LL-37, antimikrobiyal savunmada ve inflamasyonu düzenlemede önemli bir rol oynasa da, geleneksel inflamatuvar belirteçlerle doğrudan bir ilişki göstermeyebilir. Bu nedenle LL-37, bazı enfeksiyonlar veya inflamatuvar durumlar için bağımsız bir biyobelirteç olarak kullanılabilir, ancak bunun için daha fazla araştırma gereklidir.

Bir çalışmada RSV pnömonisi olan çocukların LL-37 seviyesi, sağlıklı gruptan yüksek sonuçlanmıştır. Ayrıca RSV pnömonisi olanlar hastalık şiddetine göre iki gruba ayrıldığında, şiddetli pnömonisi olanlarda LL-37 seviyesi anlamlı şekilde yüksek sonuçlanmıştır (197). Bizim çalışmamızda klinik sınıflarına göre bakıldığında hastalığın daha şiddetli olduğu akut bruselloz hastalarında LL-37 seviyesi diğer gruplara göre anlamlı seviyede yüksek

saptanmıştır. Üriner sistem enfeksiyonu olan hastaların idrar ve plazmasındaki LL-37 seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmada hastalığın şiddetiyle LL-37 seviyesi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu ilişki hem idrar hem plazma LL-37 miktarına yansımıştır (198). Bizim çalışmamızda kemik eklem tutulumu olan komplike vakaların serum LL-37 seviyeleri, olmayanlara kıyasla anlamlı seviyede yüksekti. Bu durum hastalığın şiddeti ve komplikasyonları açısından LL-37 seviyesinin yol gösterici olabileceği düşündürmüştür.

Hastalık şiddetiyle LL-37 seviyesinin zıt olduğunu gösteren çalışmaları da literatürde görmek mümkündür. Örneğin bronşiolit nedeniyle hastaneye yatırılan bebeklerle ilgili çok merkezli çalışmada, düşük serum LL-37 seviyelerinin hastalık şiddetinde artışla ilişkili olduğu bulunmuştur (192). Hastaların hem LL-37 gen ekspresyonunu hem LL-37 serum seviyesini ölçen bir çalışmada sepsis ve septik şok hasta grupları arasında septik şoktakilerin sağlıklı bireylerden bile az miktarda LL-37 gen ekspresyonu yaptığı gösterilmiş. Ayrıca iyileşme aşamasındaki hastalar sağlıklı bireylere kıyasla iki kat daha yüksek LL-37 mRNA seviyeleri sergilediği bulunmuştur. Ancak LL-37 plazma seviyelerinde anlamlı bir fark tespit edilememiş, böylece nötrofillerdeki CAMP gen ekspresyonu ile dolaşımdaki LL-37 seviyeleri arasında bir korelasyon olmadığı sonucuna varılmıştır (199). COVID-19 hastalarında yapılan bir çalışmada hastalık şiddetiyle LL-37 arasında ilişki saptanmamasına rağmen lökosit sayısı ile serum LL-37 seviyesinin oranının, COVID-19 pnömonisi şiddeti ile ters korele olduğu gösterilmiştir. Kısaca lökosit başına düşen LL-37 üretimi azaldıkça COVID-19 şiddeti artmıştır (13). Çalışmamızda lökosit başına düşen LL-37 seviyesi ile komplikasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Kontrol grubunun lökosit sayısı verisinin elimizde olmaması sebebiyle hastalarla kontrol grubunun lökosit başına düşen LL-37 seviyesi kıyaslanamamıştır.

Patojenler, LL-37'nin antibakteriyel etkisinden çeşitli mekanizmalarla korunmaktadır ve bu onların virulans faktörü olmaktadır. *Neisseria gonorrhoeae* LL-37 seviyesini düşürürken (121), üst solunum yolu bakterileri membranlarındaki fosfatidilkolin lipidlerinin miktarını artırarak LL-37'nin antibakteriyel etkisinden kaçmayı başarmıştır (122). *Streptococcus pyogenes* ve *Staphylococcus epidermidis* ise sırasıyla α 2-makroglobulin-proteinaz kompleksleri ve interselüler adezin molekülü sayesinde LL-37'den korunmaktadır (123, 126). LL-37 molekülünün patojenleri öldürmek için kullandığı proteinazların *Pseudomonas aeruginosa* tarafından inhibe edildiği göstermiştir (200). Bir çalışmada enteritlerde LL-37 seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (125). LL-37 seviyesinin düştüğü hastalıklarda bu durumun patojene ait bir virulans faktörü olabileceği akılda tutulmalıdır.

Tüberküloz hastaların üzerinde yapılan bir çalışmada LL-37 üretimini sağlayan gen olan CAMP geninin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu artışın progresif tüberküloz hastalarında, latent tüberküloz hastalarıyla ve sağlıklı deneklerle kıyaslandığında anlamlı seviyede yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca hem tüberküloz hem tip 2 diyabetes mellitus hastalarında antimikrobiyal peptit gen ekspresyonu daha düşük seviyelerdedir ve bunun sonucu olan yetersiz LL-37 üretimi, bu hastalarda tüberküloz reaktivasyonu riskini artıran bir faktör olarak düşünülebileceği yazılmıştır (201). Diyabetik hastalarda gelişen ayak ülseri tabanından alınan biyopsilerde, dermis ve epidermiste bulunan LL-37 seviyesinin sağlıklı bireylerin deri biyopsilerine göre daha düşük olduğu, bu durumun yara iyileşmesindeki bozuklukla ilişkili olduğu bulunmuştur (202). Diyabetik bireylerin enfeksiyöz süreçlere daha yatkın olması, LL-37 antimikrobiyal peptidiyle ilişkilendirilebilir. Gelecekte, diyabetik bruselloz hastalarında LL-37 seviyelerinin ve bu hastaların bruselloz komplikasyonlarına veya organ tutulumlarına yatkınlıklarının incelendiği çalışmalar planlanabilir.

Yenidoğanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, D vitamini yetersiz olan bebeklerde konjenital pnömoni riski belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, LL-37 seviyelerinin APGAR skoruyla ters korele olduğu, sepsis kliniği şiddetli olanların LL-37 seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. D vitamininin pnömoniye predispozan faktör olabileceği, pnömoninin de LL-37 sentezini tetiklediği söylenmiş, D vitamininin LL-37 üretiminde etkin rol oynadığı bilinmesine rağmen burada farklı değişkenler olduğu açıklanmıştır (203).

Çalışmamızda tanı testlerinden rose bengal, STA, kan kültürü, ELISA test sonuçlarıyla LL-37 düzeylerinin ilişkisi araştırıldı. Rose bengal, STA ve ELISA test sonuçlarıyla LL-37 arasında anlamlı bir ilişki saptanmazken kan kültürü pozitif olan bruselloz hastalarında serum LL-37 düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca lökosit başına ne kadar LL-37 üretildiğini gösteren lökosit sayısı/LL-37 değeri ile kan kültürü üremesi olması açısından kıyasladığımızda kan kültüründe üreme olan hastalarda anlamlı bir yükseklik saptandı. Kan kültürü alınamayan durum veya koşullarda LL-37 seviyesinin tanıda yardımcı bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca artrit saptanarak eklem sıvısı kültürü gönderilen ve eklem kültüründe *Brucella spp.* üremesi olan 3 hastanın serum LL-37 seviyesi ortalaması, kan kültüründe üreme olan ve olmayan iki gruptan daha yüksek ölçüldü fakat sayı yetersizliği sebebiyle istatistiksel analiz yapılamadı. Artrit saptanan hastalarda eklem sıvısı alınma işleminin zorluğu sebebiyle LL-37 seviyesinin tanı değerinin araştırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Literatürde kültür sonuçları ile LL-37

seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamış olup, elde edilen verilerimizin bu alandaki ilk bulgular arasında yer alabileceği düşünülmektedir.

ROC analizi sonuçlarına göre, cut-off değeri 18,26 ng/mL olan serum LL-37 seviyeleri, bruselloz vakalarını sağlıklı bireylerden ayırmada %92 duyarlılık ve %88 özgüllük göstermiştir (AUC = 0,956, $p < 0,001$). Elde edilen bu bulgular, serum LL-37 düzeylerinin brusellozlu hastaları sağlıklı bireylerden ayırt etmede yüksek performansa sahip bir biyomarker olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

LL-37'nin antimikrobiyal etkisinin teröpotik kullanımının ileriki yıllarda çok daha fazla araştırılmanın yapılacağı bir alan olacağı öngörülebilir. Bizim çalışmamızda teröpotik potansiyeliyle ilgili herhangi bir veri olmaması, çalışmanın kısıtlılıklarından biri olarak sayılabilir. Ayrıca hastaların prospektif kohort çalışması olarak hastalıktan önceki LL-37 seviyelerinin ölçüldüğü bir deney planlanarak LL-37 seviyelerinin komplikasyon gelişimi ya da hastalık şiddetiyle ilişkisi olup olmadığı değerlendirilebilir.

Çalışmamızda, bruselloz hastalarında LL-37 düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin şekilde yüksek olduğu ve klinik gruplar arasında anlamlı şekilde farklı LL-37 düzeylerinin tespit edildiği gözlemlendi. Ayrıca, bruselloz hastalarındaki serum LL-37 seviyesi ile ALT, CRP ve sedimentasyon değerleri arasında anlamlı bir pozitif korelasyon bulundu. Kan kültüründe *Brucella spp.* üremesi tespit edilen hastalarda serum LL-37 düzeyleri, üremeyen hastalara göre daha yüksek bulundu. Ayrıca, kemik-eklem tutulumu olan komplike bruselloz vakalarının serum LL-37 seviyeleri, bu durumu göstermeyenlere göre daha yüksek saptandı. Bu bulgular, LL-37'nin tanısal bir biyobelirteç olma potansiyeline işaret etmektedir. Çalışmamız; bruselloz hastalarında serum LL-37 düzeyinin incelendiği ilk çalışma olma niteliği taşımaktadır. LL-37, brusellozun tanı ve prognozunda kullanılacak biyobelirteç olma potansiyeline sahiptir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bruselloz hastalarında, sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı düzeyde yüksek serum LL-37 seviyesi saptanmıştır.
2. Hasta gruptaki yüksek seviyeler, hastalığın akut, subakut ve kronik klinik formları ile relaps vakalarında karşılaştırılmıştır ve akut-relaps grupları hariç tüm gruplar arasında da anlamlı fark olduğu görülmüştür.
3. Serum LL-37 düzeyleri brusellozlu hastaları sağlıklı bireylerden ayırmadaki duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olduğu saptanmıştır.
4. Brusella hastalığının seyri üzerindeki bu biyobelirteçlerin önemini daha iyi anlayabilmek için, tanı öncesi, tedavi süreci ve tedavi sonrasında serum düzeylerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca, daha geniş bir hasta ve kontrol grubu üzerinde, çok merkezli ve prospektif çalışmaların gerçekleştirilmesi büyük önem taşımaktadır.
5. Bruselloz hastalarının tanı ve tedavi sürecinde genellikle CRP ve sedimentasyon gibi akut faz reaktanlarından yararlanılmaktadır. Çalışmamızın sonuçları, bruselloz hastalarında serum LL-37 düzeyi ile ALT, CRP ve sedimentasyon değerleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu durum, LL-37'nin tanıda potansiyel bir parametre olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Ancak, çalışmamızda tedavi sonrası değerler incelenmediği için bu parametrelerin tedavi sonrası dönemde de değerlendirilmesi amacıyla ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
6. Hastalarda kan kültüründe üreme görülen grupta LL-37 düzeyleri, üreme olmayan gruba kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Benzer sonuç artriti olan ve eklem sıvı kültüründe üreme saptanan hastalarda da tespit edilmiştir. Kan kültürünün ya da eklem sıvı kültürünün uygulanamadığı, sonuçların geciktiği veya etkenin üretilmediği durumlarda, yüksek LL-37 düzeyleri bruselloz tanısında değerli bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.
7. Çalışmamızda kemik eklem tutulumu olan komplike vakaların serum LL-37 seviyeleri, olmayanlara kıyasla anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır. Bu durum hastalığın şiddeti ve komplikasyonları açısından LL-37 seviyesinin yol gösterici olabileceği düşündürmüştür.
8. Çalışmamızda da görüldüğü gibi, bruselloz farklı kliniklere başvurabilen ve çeşitli şikâyetlerle ortaya çıkabilen bir hastalıktır. Güçlü bir taklitçi olduğu için özellikle dâhiliye, üroloji, fizik tedavi, ortopedi gibi farklı uzmanlık alanlarını da ilgilendirmektedir. Bu nedenle, farklı dallardaki hekimlerin bruselloz kliniğini tanıması önem taşımaktadır.
9. Brusella, A grubu bildirimi zorunlu hastalıklar arasında yer almaktadır. Ülkemizde gerçek vaka verilerinin net bir şekilde ortaya konulabilmesi için ilgili hekimlerin bruselloz bildirimi konusunda gereken özeni göstermesi büyük önem taşımaktadır.
10. Özellikle sosyoekonomik durumu düşük olan ülkelerde çiğ süt ve süt ürünlerinin pastörize edilmesi büyük bir öneme sahiptir. Ayrıca, veterinerler ve laboratuvar çalışanlarının riskli temaslardan önce eldiven, gözlük ve önlük gibi koruyucu donanımın kullanması gerektiğine dikkat çekiyoruz.
11. Bruselloz komplikasyonlarının erken tedavi ile genellikle geri dönüşümlü olduğu ve sekelsiz iyileştiği göz önüne alındığında, erken tanı ve tedavinin hayati önemde olduğu bir kez daha vurgulanmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Ustaçelebi Ş. Temel ve klinik mikrobiyoloji: Güneş kitabevi; 1999.
2. Young EJ. Brucella species (brucellosis). Long SS, Pickering LK, Prober CG Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 2012;861-4.
3. Glynn MK, Lynn TV. Zoonosis update. AVMA. 2008;233:900-8.
4. Kokoglu OF, Hosoglu S, Geyik MF, Ayaz C, Akalın S, Buyukbese MA, et al. Clinical and laboratory features of brucellosis in two university hospitals in Southeast Turkey. Tropical doctor. 2006;36(1):49-51.
5. Bosilkovski M, Morven S. Edwards, and S. B. Calderwood. . "Brucellosis: epidemiology, microbiology, clinical manifestations, and diagnosis.". UpToDate. 2022.
6. Bakanlığı S. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Brusellozun Mikrobiyolojik Tanısı. 2015.
7. Bakici MZ, Kivanç Ö, Işık M. Bölgemizden İzole Edilen Brucella Cinsi Bakteriler ve Antibiyotik Duyarlılıkları.
8. Hull NC, Schumaker BA. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. Infection ecology & epidemiology. 2018;8(1):1500846.
9. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals: World Health Organization; 2006.
10. Bosilkovski M, Krteva L, Dimzova M, Vidinic I, Sopova Z, Spasovska K. Human brucellosis in Macedonia—10 years of clinical experience in endemic region. Croatian medical journal. 2010;51(4):327-36.
11. Oren Z, Lerman JC, Gudmundsson GH, Agerberth B, Shai Y. Structure and organization of the human antimicrobial peptide LL-37 in phospholipid membranes: relevance to the molecular basis for its non-cell-selective activity. Biochemical Journal. 1999;341(3):501-13.
12. Ridyard KE, Overhage J. The potential of human peptide LL-37 as an antimicrobial and anti-biofilm agent. Antibiotics. 2021;10(6):650.
13. Keutmann M, Hermes G, Meinberger D, Roth A, Stemler J, Cornely OA, et al. The ratio of serum LL-37 levels to blood leucocyte count correlates with COVID-19 severity. Scientific Reports. 2022;12(1):9447.
14. Dudal S, Turriere C, Bessoles S, Fontes P, Sanchez F, Liautard J, et al. Release of LL-37 by activated human Vγ9Vδ2 T cells: a microbicidal weapon against Brucella suis. The Journal of Immunology. 2006;177(8):5533-9.
15. Yumuk Z, O'Callaghan D. Brucellosis in Turkey—an overview. International Journal of Infectious Diseases. 2012;16(4):e228-e35.
16. Hayoun M, King K. StatPearls. 2022.
17. Pappas G, Akritidis N, Tsianos E. Effective treatments in the management of brucellosis. Expert opinion on pharmacotherapy. 2005;6(2):201-9.
18. CDC N. Brucellosis reference guide: Exposures, testing and prevention. US Department of Health and Human Services, CDC Atlanta (GA); 2017.
19. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. N Engl J Med. 2005;352(22):2325-36.
20. Gul HC, Erdem H. Brucellosis (brucella species). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases: Elsevier; 2015. p. 2584-9. e3.
21. Çakır Ş, Yıldırım M. Türkiye'de küçük ruminantlarda brusellozun kontrol ve eradikasyon stratejileri. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2018;11(2):98-104.
22. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. The Lancet infectious diseases. 2006;6(2):91-9.
23. Bakanlığı S. Bruselloz İnsidans Haritası Türkiye2017 [Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-vektorel-hastaliklar-db/zoonotik-hastaliklar/9-Bruselloz/3-istatistik/Web_Bruselloz_haritasi.pdf].
24. Doganay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. International journal of infectious diseases. 2003;7(3):173-82.
25. Türkiye2019 BSBİH. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-ve-vektorel-hastaliklar-db/Dokumanlar/Raporlar/Tr_Bruselloz_Mevcut_Durum.pdf 2019.
26. Türkiye2019 BSBİV. <https://hsgmsaglikgovtr/tr/zoonotikvektorel-bruselloz/istatistik>. 2019.

27. Bakanlığı S. Bruselloz İstatistik Verileri Türkiye2019 [Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-ve-vektorel-hastaliklar-db/Dokumanlar/Raporlar/Tr_Bruselloz_Mevcut_Durum.pdf]
28. Fallatah SM, Oduloju AJ, Al-Dusari SN, Fakunle YM. Human brucellosis in Northern Saudi Arabia. *Saudi medical journal*. 2005;26(10):1562-6.
29. Minas M, Minas A, Gourgulianis K, Stournara A. Epidemiological and clinical aspects of human brucellosis in Central Greece. *Japanese journal of infectious diseases*. 2007;60(6):362-6.
30. Alp E, Doganay M. Current therapeutic strategy in spinal brucellosis. *International journal of infectious diseases*. 2008;12(6):573-7.
31. Çelebi G, Külâh C, Kiliç S, Üstündağ G. Asymptomatic *Brucella* bacteraemia and isolation of *Brucella melitensis* biovar 3 from human breast milk. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 2007;39(3):205-8.
32. Rodrigues ALC, Silva SKLd, Pinto BLA, Silva JBd, Tupinambás U. Outbreak of laboratory-acquired *Brucella abortus* in Brazil: a case report. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2013;46(6):791-4.
33. Bouza E, Sanchez-Carrillo C, Hernangomez S, González MJ, Brucellosis SC-oGftSoL-a. Laboratory-acquired brucellosis: a Spanish national survey. *Journal of Hospital Infection*. 2005;61(1):80-3.
34. Ashford DA, di Pietra J, Lingappa J, Woods C, Noll H, Neville B, et al. Adverse events in humans associated with accidental exposure to the livestock brucellosis vaccine RB51. *Vaccine*. 2004;22(25-26):3435-9.
35. Karakaş A, Mert G, Çoşkun Ö, Alga ÖH, Beşirbellioğlu BA, Eyigün CP. S19 hayvan aşısının kazayla inokülasyonu sonucu gelişmiş bir bruselloz olgusu. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2012;69(1):37-40.
36. Tuon FF, Gondolfo RB, Cerchiari N. Human-to-human transmission of *Brucella*—a systematic review. *Tropical Medicine & International Health*. 2017;22(5):539-46.
37. Alp E. In Topçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M.(eds) *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevi. 2017:863-67.
38. Gül HC EHBBSIBJ, Dolin R, , Martin JB e. *Principles and Practice of Infectious Diseases* 9th ed Philadelphia: Elsevier; 2020 p 2753-8, 2020.
39. D'Anastasio R, Zipfel B, Moggi-Cecchi J, Stanyon R, Capasso L. Possible brucellosis in an early hominin skeleton from Sterkfontein, South Africa. *PloS one*. 2009;4(7):e6439.
40. Voltrová K. *Brucella abortus*. 2023.
41. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *The Lancet infectious diseases*. 2007;7(12):775-86.
42. Lapaque N, Moriyon I, Moreno E, Gorvel J-P. *Brucella* lipopolysaccharide acts as a virulence factor. *Current opinion in microbiology*. 2005;8(1):60-6.
43. Boschioli M-L, Foulongne V, O'Callaghan D. Brucellosis: a worldwide zoonosis. *Current opinion in microbiology*. 2001;4(1):58-64.
44. BODUR H. Patogenez. *Türkiye Klinikleri Infectious Diseases-Special Topics*. 2012;5(1):15-23.
45. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Veterinary microbiology*. 2010;140(3-4):392-8.
46. de Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, Rossetti CA, Adams LG. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*–Host Interactions. *The American journal of pathology*. 2015;185(6):1505-17.
47. Ko J, Splitter GA. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. *Clinical microbiology reviews*. 2003;16(1):65-78.
48. Us A. *Temel İmmünoloji ve Seroloji*. Birinci baskı, Hipokrat Kitabevi. 2016:161-7.
49. Bosilkovski M, Dimzova M, Grozdanovski K. Natural history of brucellosis in an endemic region in different time periods. *Acta clinica croatica*. 2009;48(1):41-6.
50. Galinska EM, Zagórski J. Brucellosis in humans-etiology, diagnostics, clinical forms. *Annals of agricultural and environmental medicine*. 2013;20(2).

51. Andriopoulos P, Tsironi M, Deftereos S, Aessopos A, Assimakopoulos G. Acute brucellosis: presentation, diagnosis, and treatment of 144 cases. *International journal of infectious diseases*. 2007;11(1):52-7.
52. Alavi S, Motlagh M. A review of epidemiology, diagnosis and management of brucellosis for general physicians working in the Iranian health network. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2012;5(2):384-7.
53. Roushan MRH, Moulana Z, Afshar ZM, Ebrahimpour S. Risk factors for relapse of human brucellosis. *Global journal of health science*. 2016;8(7):77.
54. Aygen B, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O, Kayabaş Ü. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: a retrospective evaluation of 480 patients. *Medecine et maladies infectieuses*. 2002;32(9):485-93.
55. Esmaeilnejad-Ganji SM, Esmaeilnejad-Ganji SMR. Osteoarticular manifestations of human brucellosis: a review. *World journal of orthopedics*. 2019;10(2):54.
56. Aziz S, Al-Anazi AR, Al-Aska AI. A review of gastrointestinal manifestations of Brucellosis. *Saudi Journal of Gastroenterology*. 2005;11(1):20-7.
57. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K, Çevik R, Saraç J, et al. Complications of brucellosis in different age groups: a study of 283 cases in southeastern Anatolia of Turkey. *Yonsei medical journal*. 2003;44(1):33-44.
58. Doğanay M, Meşe Alp E. *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi* 3rd ed, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2008:897-909.
59. Sasmazel A, Baysal A, Fedakar A, Buğra O, Özkokeli M, Büyükbayrak F, et al. Treatment of Brucella endocarditis: 15 years of clinical and surgical experience. *The Annals of thoracic surgery*. 2010;89(5):1432-6.
60. Hadjinikolaou L, Triposkiadis F, Zairis M, Chlapoutakis E, Spyrou P. Successful management of Brucella mellitensis endocarditis with combined medical and surgical approach. *European journal of cardio-thoracic surgery*. 2001;19(6):806-10.
61. Erdem H, Elaldi N, Ak O, Gulsun S, Tekin R, Ulug M, et al. Genitourinary brucellosis: results of a multicentric study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20(11):O847-O53.
62. Hatipoglu CA, Bilgin G, Tulek N, Kosar U. Pulmonary involvement in brucellosis. *Journal of Infection*. 2005;51(2):116-9.
63. Milionis H, Christou L, Elisaf M. Cutaneous manifestations in brucellosis: case report and review of the literature. *Infection*. 2000;28:124-6.
64. Rolando I, Olarte L, Vilchez G, Lluncor M, Otero L, Paris M, et al. Ocular manifestations associated with brucellosis: a 26-year experience in Peru. *Clinical infectious diseases*. 2008;46(9):1338-45.
65. Karahocagil MK. Klinik. *Türkiye Klinikleri Infectious Diseases-Special Topics*. 2012;5(1):24-33.
66. Bakanlıgı TS, Müdürlüğü TSHG. Bulaşıcı hastalıkların ihbarı ve bildirim sistemi standart tanı, sürveyans ve laboratuvar rehberi. Ankara: Aba Matbaacılık. 2004:49-50.
67. Di Bonaventura G, Angeletti S, Ianni A, Petitti T, Gherardi G. Microbiological laboratory diagnosis of human brucellosis: an overview. *Pathogens*. 2021;10(12):1623.
68. Gotuzzo Herencia JE, Carrillo CP, Guerra JG, Llosa Isenrich MPL. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis—the value of bone marrow culture.
69. Shakir R. Brucellosis. *J Neurol Sci*. 2021;420:117280.
70. Yagupsky P, Morata P, Colmenero JD. Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis. *Clin Microbiol Rev*. 2019;33(1).
71. Aktaş O. Brusellozda mikrobiyolojik tanı. *ANKEM Derg*. 2003;17(3):336-9.
72. Araj GF. Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *International journal of antimicrobial agents*. 2010;36:S12-S7.
73. Kızmaz MA. Potansiyel immünomodülatör özellikteki moleküllerin bruselloz enfeksiyonlarında değerlendirilmesi: Bursa Uludağ University (Turkey); 2021.
74. Öncel S. "Brusella enfeksiyonları: Değerlendirme ve yönetim.". *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 23. 2016;25-30.

75. Akalın Kuyumcu Ç, Erol S, Adaleti R, Şenbayrak S, Deniz S, Barkay O. Comparison of coombs gel test with ELISA and standard tube agglutination tests used in serological diagnosis of brucellosis. *Infectious diseases and clinical microbiology* (Online). 2020.
76. Awwad E, Awwad O, Băraîtăreanu S, Gurău MR, Farraj M, Essawi T, et al. The Prevalence and Molecular Distinguishing of *Brucella melitensis* Rev1 Strain among Field Isolates the *Brucella* from Sheep and Goat Milk through PCR-RFLP Analysis of *omp2* Gene Polymorphism. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca Veterinary Medicine*. 2023;80(1).
77. Whatmore AM, Murphy TJ, Shankster S, Young E, Cutler SJ, Macmillan AP. Use of amplified fragment length polymorphism to identify and type *Brucella* isolates of medical and veterinary interest. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005;43(2):761-9.
78. Yagupsky P. Detection of *Brucellae* in blood cultures. *J Clin Microbiol*. 1999;37(11):3437-42.
79. Rubach MP, Halliday JE, Cleaveland S, Crump JA. Brucellosis in low-income and middle-income countries. *Curr Opin Infect Dis*. 2013;26(5):404-12.
80. Díaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyon I. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLOS Neglected tropical diseases*. 2011;5(4):e950.
81. Uysal B, Mumcu N, Yıldız O, Aygen B. Bruselloz Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması. *Klimik Journal/Klimik Dergisi*. 2021;34(3).
82. O. A. Brusellozda Mikrobiyolojik Tani. *ANKEM Derg*. 2003;17(3):336-9.
83. Korle SL. The Design, Construction, and Testing of a Recombinant DNA Vaccine for *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*: Louisiana State University and Agricultural & Mechanical College; 2022.
84. Irm A YF, Aksaray S, Bor E. . [Comparison of a new and rapid method, *Brucella* Coombs gel test with the other methods in the serological diagnosis of brucellosis]. *Microbiol Bul*. 2015;49(2):181-7.
85. Hanci H, Igan H, Uyanik MH. Evaluation of a New and Rapid Serologic Test for Detecting Brucellosis: *Brucella* Coombs Gel Test. *Pak J Biol Sci*. 2017;20(2):108-12.
86. EJ. Y. *Brucella* species. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*. Sixth edition Pennsylvania: Churchill Livingstone. 2005;2: p. 2669-2673.
87. 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. *Clin Lab*. 2003;49(11-12):577-89.
88. Tümtürk A, M. Yetkin, and N. Tülek, Kılıç D. . Brusellozun tanı ve takibinde serum aglütinasyon testi ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay yönteminin yeri. *Klimik Derg.*, 2004;17(2): p. 107-12.
89. Orduña A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Dueñas A, et al. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (*Brucellacapt*) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol*. 2000;38(11):4000-5.
90. Nielsen K, Gall D. Fluorescence polarization assay for the diagnosis of brucellosis: a review. *J Immunoassay Immunochem*. 2001;22(3):183-201.
91. Al Dahouk S, Sprague LD, Neubauer H. New developments in the diagnostic procedures for zoonotic brucellosis in humans. *Rev Sci Tech*. 2013;32(1):177-88.
92. Christopher S, Umapathy BL, Ravikumar KL. Brucellosis: review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis. *J Lab Physicians*. 2010;2(2):55-60.
93. Altuglu I, Zeytinoğlu A, Bilgic A, Kamcioglu S, Karakartal G, Smits H. Evaluation of *Brucella* dipstick assay for the diagnosis of acute brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2002;44(3):241-3.
94. Bosilkovski M, Keramat F, Arapović J. The current therapeutical strategies in human brucellosis. *Infection*. 2021;49(5):823-32.
95. F. Y. Brusellozda tedavi. *Türkiye Klin J Inf Dis-Special Top*. 2012;5(1):77–82.
96. A Al-Tawfiq J, A Memish Z. Antibiotic susceptibility and treatment of brucellosis. *Recent patents on anti-infective drug discovery*. 2013;8(1):51-4.

97. Ariza J BM, Cascio A, Colmenero JD, Corbel MJ, Falagas ME, et al. . Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations. *PLoS Med.* 2007;4(12):e317.
98. WJ. F. WHO expert committee on brucellosis. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 1986;740:1-132
99. Solís García del Pozo J SJ. Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials in the treatment of human brucellosis. *PLoS One.* 2012;7(2):e32090.
100. Ersoy Y SE, Tevfik MR, But AD. . Comparison of three different combination therapies in the treatment of human brucellosis. *Trop Doct.* 2005;35(4):210-2
101. Akova M UO, Akalin HE, Hayran M, Unal S, Gür D. Quinolones in treatment of human brucellosis: comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(9):1831-4
102. Falagas ME BI. Quinolones for treatment of human brucellosis: critical review of the evidence from microbiological and clinical studies. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(1):22-33.
103. Solera J. Update on brucellosis: therapeutic challenges. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36 Suppl 1:S18-20.
104. Ulu-Kilic A, Karakas A, Erdem H, Turker T, Inal AS, Ak O, et al. Update on treatment options for spinal brucellosis. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(2):O75-82.
105. Erdem H, et al. "Nörobrusellozda antibiyotik kombinasyonlarının etkinliği ve tolere edilebilirliği: İstanbul çalışmasının sonuçları. *Antimikrobiyal ajanlar ve kemoterapi* 563. 2012;1523-1528.
106. Kulkarni SK, Bhairappa S, Rangan K, P B. A tale of four valves: outcome of Brucella endocarditis: a case series. *Eur Heart J Case Rep.* 2019;3(2).
107. Irmak H, Buzgan T, Karahocagil MK, Evirgen Ö, Akdeniz H, Demiröz AP. The effect of levamisole combined with the classical treatment in chronic brucellosis. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine.* 2003;201(4):221-8.
108. Burton MF, Steel PG. The chemistry and biology of LL-37. *Natural product reports.* 2009;26(12):1572-84.
109. Fabisiak A, Murawska N, Fichna J. LL-37: Cathelicidin-related antimicrobial peptide with pleiotropic activity. *Pharmacological Reports.* 2016;68(4):802-8.
110. Kai-Larsen Y, Agerberth B. The role of the multifunctional peptide LL-37 in host defense. *Front Biosci.* 2008;13(10):3760-7.
111. Gordon YJ, Huang LC, Romanowski EG, Yates KA, Proske RJ, McDermott AM. Human cathelicidin (LL-37), a multifunctional peptide, is expressed by ocular surface epithelia and has potent antibacterial and antiviral activity. *Current eye research.* 2005;30(5):385-94.
112. Beisswenger C, Bals R. Antimicrobial peptides in lung inflammation. *Mechanisms of Epithelial Defense.* 2005;86:55-71.
113. Verjans E-T, Zels S, Luyten W, Landuyt B, Schoofs L. Molecular mechanisms of LL-37-induced receptor activation: An overview. *Peptides.* 2016;85:16-26.
114. Radic M, Muller S. LL-37, a multi-faceted amphipathic peptide involved in NETosis. *MDPI;* 2022. p. 2463.
115. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceutics.* 2014;7(5):545-94.
116. Dürr UH, Sudheendra U, Ramamoorthy A. LL-37, the only human member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes.* 2006;1758(9):1408-25.
117. Byfield FJ, Kowalski M, Cruz K, Leszczyńska K, Namiot A, Savage PB, et al. Cathelicidin LL-37 increases lung epithelial cell stiffness, decreases transepithelial permeability, and prevents epithelial invasion by *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of Immunology.* 2011;187(12):6402-9.
118. Henzler Wildman KA, Lee D-K, Ramamoorthy A. Mechanism of lipid bilayer disruption by the human antimicrobial peptide, LL-37. *Biochemistry.* 2003;42(21):6545-58.
119. Engelberg Y, Landau M. The Human LL-37 (17-29) antimicrobial peptide reveals a functional supramolecular structure. *Nature communications.* 2020;11(1):3894.

120. Xhindoli D, Pacor S, Benincasa M, Scocchi M, Gennaro R, Tossi A. The human cathelicidin LL-37—A pore-forming antibacterial peptide and host-cell modulator. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2016;1858(3):546-66.
121. Bergman P, Johansson L, Asp V, Plant L, Gudmundsson GH, Jonsson AB, et al. *Neisseria gonorrhoeae* downregulates expression of the human antimicrobial peptide LL-37. *Cellular microbiology*. 2005;7(7):1009-17.
122. Lysenko ES, Gould J, Bals R, Wilson JM, Weiser JN. Bacterial phosphorylcholine decreases susceptibility to the antimicrobial peptide LL-37/hCAP18 expressed in the upper respiratory tract. *Infection and immunity*. 2000;68(3):1664-71.
123. Nyberg P, Rasmussen M, Björck L. α 2-Macroglobulin-proteinase complexes protect *Streptococcus pyogenes* from killing by the antimicrobial peptide LL-37. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(51):52820-3.
124. Shafer W, Qu X-D, Waring A, Lehrer R. Modulation of *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility to vertebrate antibacterial peptides due to a member of the resistance/nodulation/division efflux pump family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(4):1829-33.
125. Islam D, Bandholtz L, Nilsson J, Wigzell H, Christensson B, Agerberth B, et al. Downregulation of bactericidal peptides in enteric infections: a novel immune escape mechanism with bacterial DNA as a potential regulator. *Nature medicine*. 2001;7(2):180-5.
126. Vuong C, Voyich JM, Fischer ER, Braughton KR, Whitney AR, DeLeo FR, et al. Polysaccharide intercellular adhesin (PIA) protects *Staphylococcus epidermidis* against major components of the human innate immune system. *Cellular microbiology*. 2004;6(3):269-75.
127. Johansson J, Gudmundsson GH, Rottenberg MnE, Berndt KD, Agerberth B. Conformation-dependent antibacterial activity of the naturally occurring human peptide LL-37. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(6):3718-24.
128. Fukumoto K, Nagaoka I, Yamataka A, Kobayashi H, Yanai T, Kato Y, et al. Effect of antibacterial cathelicidin peptide CAP18/LL-37 on sepsis in neonatal rats. *Pediatric surgery international*. 2005;21:20-4.
129. Sertçelik A, Buzgan T. Bruselloz düşünüyorum ama doğrulayamıyorum: Seronegatif Bruselloz. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2019;76(4):469-72.
130. Genç O. Bruselloz tanısı ve epidemiyolojik çalışmalarda moleküler yöntemlerin kullanılması. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2019;16(1):68-72.
131. Kerget F, Kerget B, Çelik N, İba Yılmaz S. Bruselloz Hastalığının Değerlendirilmesinde Spesifik Testler ve Enflamatuvar Biyobelirteçler. *Mikrobiyol Bul*. 2021;55(2):113-24.
132. Ulu Kilic A, Metan G, Alp E. Clinical presentations and diagnosis of brucellosis. *Recent patents on anti-infective drug discovery*. 2013;8(1):34-41.
133. Young EJ. *Brucella Species*. Gerald, Mandell, John, E. Bennett and Raphael Dolin. 2010.
134. Dean AS, Crump L, Greter H, Hattendorf J, Schelling E, Zinsstag J. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases*. 2012;6(12):e1929.
135. Khoshnood S, Pakzad R, Koupaei M, Shirani M, Araghi A, Irani GM, et al. Prevalence, diagnosis, and manifestations of brucellosis: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022;9:976215.
136. Kursun E, Turunc T, Demiroglu Y, Arslan H. Evaluation of four hundred and forty seven brucellosis cases. *Internal Medicine*. 2013;52(7):745-50.
137. Liu Z, Shen T, Wei D, Yu Y, Huang D, Guan P. Analysis of the epidemiological, clinical characteristics, treatment and prognosis of human brucellosis during 2014–2018 in Huludao, China. *Infection and drug resistance*. 2020;435-45.
138. Abdalla AS. Socio-demography characteristics and prevalence of brucellosis among community members in Kenya. a case of Mandera East Sub-County, Mandera County, Kenya. *Int J Healthcare Med Sci*. 2019;511:59-65.
139. Liang P-F, Zhao Y, Zhao J-H, Pan D-F, Guo Z-Q. Human distribution and spatial-temporal clustering analysis of human brucellosis in China from 2012 to 2016. *Infectious diseases of poverty*. 2020;9:1-9.

140. Rodríguez-Alonso B, Almeida H, Alonso-Sardón M, Velasco-Tirado V, Romero-Alegria Á, Pardo-Lledias J, et al. Epidemiological assessment of 5598 brucellosis inpatients in Spain (1997–2015). *Epidemiology & Infection*. 2021;149:e149.
141. Çelik DG, Sirekbasan S, Abdelkareem A, Yüksel P, Aslan M, Ziver T. Bruselloz Tanısında Serum Aglütinasyon (Wright) ve Rose-Bengal Test Sonuçları: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Seroloji Laboratuvarından 6 Yıllık Retrospektif Seroepidemiyojik Değerlendirme. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 2018;42(1):80-5.
142. Young E. Brucellosis: current epidemiology, diagnosis, and management. 1995.
143. Hatipoğlu Ç, Kınıklı S, Tülek N, Koruk S, Arslan S, Ertem G, et al. Bir eğitim hastanesinin İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nde izlenen 202 bruselloz olgusunun epidemiyolojik verilerinin irdelenmesi. *Klinik Dergisi*. 2005;18(3):94-8.
144. Tansel Ö, Yavuz M, Kuloğlu F, Akata F. Trakya Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran 40 bruselloz olgusunun değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg*. 2003;17(1):1-4.
145. Koşar A, Aygündüz M, Yaylı G. İkiyüzseksen bruselloz olgusunda farklı iki tedavinin karşılaştırılması. *İnfeksiyon dergisi*. 2001;15(4):433-7.
146. Ataman-Hatipoğlu Ç, Kınıklı S, Tülek N, Tekin-Koruk S, Arslan S, Tuncer-Ertem G, et al. Bir eğitim hastanesinin enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji kliniğinde izlenen 202 bruselloz olgusunun epidemiyolojik verilerinin irdelenmesi. *Klinik Derg*. 2005;18(3):94-8.
147. Zhang Z, Zhang X, Chen X, Cui X, Cai M, Yang L, et al. Clinical features of human brucellosis and risk factors for focal complications: a retrospective analysis in a tertiary-care hospital in Beijing, China. *International Journal of General Medicine*. 2022;15:7373.
148. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Baran AI, Karsen H, Evirgen O, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *International journal of infectious diseases*. 2010;14(6):e469-e78.
149. Abuhandan M, Güzel B, Çakmak A, Çiçek A. Çocuklarda bruselloz: 82 olgunun retrospektif olarak değerlendirilmesi. *J Pediatr Inf*. 2012;6(3):74-9.
150. Özcanarslan Ç. 2004-2010 yılları arasında çocuk enfeksiyon hastalıkları kliniğinde izlenen *Brucella* tanımlı çocuk hastaların retrospektif olarak değerlendirilmesi ve yakın temaslı aile bireylerinin *Brucella* enfeksiyonu gelişimi açısından incelenmesi. Uzmanlık tezi) Adana: Çukurova Üniversitesi. 2011.
151. Özkurt Z, Serpil E, Parlak M, Yılmaz Ş. Bruselloz: 50 olgunun değerlendirilmesi. *Atatürk Üniversitesi Tıp Dergisi*. 1998;30(3):99-103.
152. Akpınar O, Kılıç H. Bruselloz: 382 olgunun geriye dönük irdelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2012;3(3):108-13.
153. Kara S, Aslan M, Volkan B, Özel M, Fettah A. Bruselloz tanımlı 94 çocuk hastanın retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2016;17(2):60-5.
154. El-Gamal S. Brucellosis with different forms of clinical picture. 1990.
155. Akhvlediani T, Clark DV, Chubabria G, Zenaishvili O, Hepburn MJ. The changing pattern of human brucellosis: clinical manifestations, epidemiology, and treatment outcomes over three decades in Georgia. *BMC infectious diseases*. 2010;10:1-9.
156. Bosilkovski M, Krteva L, Dimzova M, Kondova I. Brucellosis in 418 patients from the Balkan Peninsula: exposure-related differences in clinical manifestations, laboratory test results, and therapy outcome. *International journal of infectious diseases*. 2007;11(4):342-7.
157. Nazir I, Ahmed WA, Khan RR, Farid MA, Imran I, Imran MN, et al. Predictors of Blood Culture Positivity in Adult Patients with Brucellosis. *International Journal*. 2021;4(2):857.
158. Gaifer Z, Ali MEM, AlJehani BH, Shaikh HA, Hussein SB. Risk factors, outcomes and time to detect positive blood culture among cases with acute brucellosis. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2022;116(2):133-8.
159. Rahil AI, Othman M, Ibrahim W, Mohamed MY. Brucellosis in Qatar: A retrospective cohort study. *Qatar Med J*. 2014;2014(1):25-30.
160. Jiang W, Chen J, Li Q, Jiang L, Huang Y, Lan Y, et al. Epidemiological characteristics, clinical manifestations and laboratory findings in 850 patients with brucellosis in Heilongjiang Province, China. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):439.

161. Demiroğlu YZ, Turunc T, Alişkan H, Colakoğlu S, Arslan H. Brucellosis: retrospective evaluation of the clinical, laboratory and epidemiological features of 151 cases. *Mikrobiyoloji Bulteni*. 2007;41(4):517-27.
162. Akhvlediani T, Bautista CT, Garuchava N, Sanodze L, Kokaia N, Malania L, et al. Epidemiological and Clinical Features of Brucellosis in the Country of Georgia. *PLoS One*. 2017;12(1):e0170376.
163. Turunç Özdemir A. Bruselloz'da tedavi öncesi ve sonrası kallistatin düzeyleri.
164. Kara SS, Cayir Y. Predictors of blood culture positivity in pediatric brucellosis. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2019;29(7):665-70.
165. Gazapo E, Lahoz JG, Subiza JL, Baquero M, Gil J, de la Concha EG. Changes in IgM and IgG antibody concentrations in brucellosis over time: importance for diagnosis and follow-up. *Journal of infectious diseases*. 1989;159(2):219-25.
166. Welch RJ, Litwin CM. A comparison of Brucella IgG and IgM ELISA assays with agglutination methodology. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2010;24(3):160-2.
167. Gotuzzo E, Alarcón GS, Bocanegra TS, Carrillo C, Guerra JC, Rolando I, et al., editors. Articular involvement in human brucellosis: a retrospective analysis of 304 cases. *Seminars in arthritis and rheumatism*; 1982: Elsevier.
168. Ariza J, Gudiol F, Valverde J, Pallares R, Fernandez-Viladrich P, Rufi G, et al. Brucellar spondylitis: a detailed analysis based on current findings. *Reviews of infectious diseases*. 1985;7(5):656-64.
169. Aydin M, Yapar AF, Savas L, Reyhan M, Pourbagher A, Turunc TY, et al. Scintigraphic findings in osteoarticular brucellosis. *Nuclear medicine communications*. 2005;26(7):639-47.
170. Guler S, Kokoglu OF, Ucmak H, Gul M, Ozden S, Ozkan F. Human brucellosis in Turkey: different clinical presentations. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2014;8(05):581-8.
171. Sharif HS, Aideyan OA, Clark DC, Madkour MM, Aabed MY, Mattsson TA, et al. Brucellar and tuberculous spondylitis: comparative imaging features. *Radiology*. 1989;171(2):419-25.
172. Lifeso RM, Harder E, McCorkell SJ. Spinal brucellosis. *The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume*. 1985;67(3):345-51.
173. Mousa ARM, Elbag KM, Kbogali M, Marafie AA. The nature of human brucellosis in Kuwait: study of 379 cases. *Reviews of infectious diseases*. 1988;10(1):211-7.
174. Nas K, Gür A, Kemaloğlu M, Geyik M, Cevik R, Büke Y, et al. Management of spinal brucellosis and outcome of rehabilitation. *Spinal Cord*. 2001;39(4):223-7.
175. Kurtaran B, Candevir A, İnal AS, Kömür S, Akyildiz Ö, Saltoğlu N, et al. Clinical appearance of brucellosis in adults: fourteen years of experience. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2012;42(3):497-505.
176. Hizel K, Guzel O, Dizbay M, Karakus R, Senol E, Arman D, et al. Age and duration of disease as factors affecting clinical findings and sacroiliitis in brucellosis. *Infection*. 2007;35:434-7.
177. Mehmet F, Ali G, Kemal N, Remzi Ç, Jale S, Bunyamin D, et al. Musculoskeletal involvement in brucellosis in different age groups: a study of 195 cases. *Swiss medical weekly*. 2002;132(0708):98-104.
178. Mugahi S, Nashibi R, Alavi SM, Gharkholu S, Najafi K. Epidemiological features, clinical manifestation and laboratory findings of patients with brucellosis. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2014;9(1).
179. Namiduru M, Gungor K, Dikensoy O, Baydar I, Ekinçi E, Karaoglan I, et al. Epidemiological, clinical and laboratory features of brucellosis: a prospective evaluation of 120 adult patients. *International journal of clinical practice*. 2003;57(1):20-4.
180. Vilaseca J, Guardia J, Cuxart A, Clotet V, Martinez-Vasquez J, Bernado L, et al. Granulomatous hepatitis: aetiological study of 107 cases (author's transl). *La Nouvelle Presse Medicale*. 1978;7(37):3323-5.
181. Domanski JP, Harrison SA. The AST to ALT ratio: a pattern worth considering. *Current Hepatitis Reports*. 2013;12:47-52.

182. Konya P, Demirturk N, Gürbüz M, Colak G. Comparison of the characteristics of Brucella patients diagnosed with blood culture positivity and/or serology. *Cureus*. 2023;15(8).
183. Oliaro J, Dudal S, Liautard J, Andrault J-B, Liautard J-P, Lafont V. Vγ9Vδ2 T cells use a combination of mechanisms to limit the spread of the pathogenic bacteria Brucella. *Journal of leukocyte biology*. 2005;77(5):652-60.
184. Larrick JW, Hirata M, Zhong J, Wright SC. Anti-microbial activity of human CAP18 peptides. *Immunotechnology*. 1995;1(1):65-72.
185. Turner J, Cho Y, Dinh N-N, Waring AJ, Lehrer RI. Activities of LL-37, a cathelin-associated antimicrobial peptide of human neutrophils. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1998;42(9):2206-14.
186. Schaller-Bals S, Schulze A, Bals R. Increased levels of antimicrobial peptides in tracheal aspirates of newborn infants during infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;165(7):992-5.
187. Iacob SA, Panaitescu E, Iacob DG, Cojocaru M. The human cathelicidin LL37 peptide has high plasma levels in B and C hepatitis related to viral activity but not to 25-hydroxyvitamin D plasma level. *Rom J Intern Med*. 2012;50(3):217-23.
188. Majewski K, Żelechowska P, Brzezińska-Błaszczyk E. Circulating cathelicidin LL-37 in adult patients with pulmonary infectious diseases. *Clinical and Investigative Medicine*. 2017;40(1):E34-E9.
189. Visser DH, Solomons RS, Ronacher K, Van Well GT, Heymans MW, Walzl G, et al. Host immune response to tuberculous meningitis. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;60(2):177-87.
190. Matsumura T, Sugiyama N, Murayama A, Yamada N, Shiina M, Asabe S, et al. Antimicrobial peptide LL-37 attenuates infection of hepatitis C virus. *Hepatology Research*. 2016;46(9):924-32.
191. Schögler A, Muster RJ, Kieninger E, Casaulta C, Tapparel C, Jung A, et al. Vitamin D represses rhinovirus replication in cystic fibrosis cells by inducing LL-37. *European respiratory journal*. 2016;47(2):520-30.
192. Mansbach JM, Hasegawa K, Ajami NJ, Petrosino JF, Piedra PA, Tierney CN, et al. Serum LL-37 levels associated with severity of bronchiolitis and viral etiology. *Clinical Infectious Diseases*. 2017;65(6):967-75.
193. Pahar B, Madonna S, Das A, Albanesi C, Girolomoni G. Immunomodulatory role of the antimicrobial LL-37 peptide in autoimmune diseases and viral infections. *Vaccines*. 2020;8(3):517.
194. Cheah CW, Al-Maleki AR, Vadivelu J, Danaee M, Sockalingam S, Baharuddin NA, et al. Salivary and serum cathelicidin LL-37 levels in subjects with rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *International journal of rheumatic diseases*. 2020;23(10):1344-52.
195. Zhao S, He Y, Pan M, Chen B, Zhang S, Zhang Y, et al. Expression and significance of serum vitamin D and LL-37 levels in infants with bacterial pneumonia. *Frontiers in pediatrics*. 2022;10:989526.
196. Chen CI-U, Schaller-Bals S, Paul KP, Wahn U, Bals R. β-defensins and LL-37 in bronchoalveolar lavage fluid of patients with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2004;3(1):45-50.
197. He Y, Zhao S, Pan M, Chen B, Zhang Y, Zhu Y. Associations between vitamin D and antimicrobial peptide LL-37 in children with respiratory syncytial virus pneumonia. 2023.
198. Babikir IH, Abugroun EA, Bilal NE, Alghasham AA, Abdalla EE, Adam I. The impact of cathelicidin, the human antimicrobial peptide LL-37 in urinary tract infections. *BMC infectious diseases*. 2018;18:1-8.
199. Barbeiro DF, Barbeiro HV, Zampieri FG, Machado MCC, Torggler Filho F, Cunha DMG, et al. Cathelicidin LL-37 bloodstream surveillance is down regulated during septic shock. *Microbes and Infection*. 2013;15(5):342-6.
200. Werthen M, Davoudi M, Sonesson A, Nitsche D, Mörgelin M, Blom K, et al. Pseudomonas aeruginosa-induced infection and degradation of human wound fluid and skin proteins ex vivo are eradicated by a synthetic cationic polymer. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;54(4):772-9.

201. Gonzalez-Curiel I, Castañeda-Delgado J, Lopez-Lopez N, Araujo Z, Hernandez-Pando R, Gandara-Jasso B, et al. Differential expression of antimicrobial peptides in active and latent tuberculosis and its relationship with diabetes mellitus. *Human immunology*. 2011;72(8):656-62.
202. Rivas-Santiago B, Trujillo V, Montoya A, Gonzalez-Curiel I, Castañeda-Delgado J, Cardenas A, et al. Expression of antimicrobial peptides in diabetic foot ulcer. *Journal of dermatological science*. 2012;65(1):19-26.
203. Gad GI, Abushady NM, Fathi MS, Elsaadany W. Diagnostic value of anti-microbial peptide, cathelicidin in congenital pneumonia. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2015; 28(18):2197-200.

