



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PROF. DR. FERİHA ÇİLLİ

**İNSAN BRUSELLOZUNUN LABORATUVAR TANISINDA
KULLANILAN SEROLOJİK TESTLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. EMİNE EMEL KOÇMAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

PROF. DR. M. SELDA ERENŞOY

2015-İZMİR

TEŐEKKÖR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bŸyŸk katkıları bulunan, yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Selda Erensoy'a, klinik anlamda her tŸrlŸ desteği ve yardımı veren, zamanını ve emeğini esirgemeyen Klinik mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı ōđretim Ÿyesi Sayın Prof. Dr. Meltem Taőbakan'a, çalıőmamın planlanması ve istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde katkıları olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı ōđretim Ÿyesi Sayın Prof. Dr. Meltem ieklioğlu'na, ōrneklerin toplanması ve çalışılması sırasında çok yardımcı olan Laboratuvar Teknisyeni Sayın YŸksel Akbaő, Sayın Alev alıőkan ve Sayın Saliha GŸler'e içtenlikle teőekkŸr ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

1- Giriş ve amaç.....	6
2- Genel bilgiler.....	9
2.1- Tarihçe.....	9
2.2- Epidemiyoloji.....	10
2.2.1- Bulaşma yolları.....	11
2.2.2- Dünya'daki dağılım.....	11
2.2.3- Türkiye'de bruselloz.....	12
2.3- Etken.....	14
2.4- Patogenez.....	16
2.4.1- İntraselüler yaşam.....	16
2.4.2- Brusella – konak ilişkisi.....	17
2.4.2.1- Brusellanın makrofaja girişi ve replikasyonu.....	17
2.4.3- Virülans faktörleri.....	18
2.4.3.1- Lipopolisakkarid.....	18
2.4.3.2- VirB tip IV sekresyon sistemi.....	19
2.4.3.3- İki komponentli BVRR / BVRS sistemi.....	19
2.4.3.4- Siklin β -1,2 glukon.....	19
2.4.3.5- Süperoksid dismutaz.....	19
2.4.3.6- Adenin ve guanin monofosfat.....	20
2.4.3.7- Üreaz.....	20
2.4.4- Konağın immün yanıtı.....	20
2.4.4.1- Doğal immün yanıt.....	20
2.4.4.2- Adaptif immün yanıt.....	21
2.4.4.3- Antikor oluşumu.....	21
2.4.5- Brusellanın konak immün yanıtından kaçış mekanizmaları.....	22
2.5- Klinik.....	22
2.5.1- Subklinik veya asemptomatik bruselloz.....	22
2.5.2- Akut bruselloz.....	22
2.5.3- Subakut bruselloz.....	23
2.5.4- Kronik bruselloz.....	23
2.5.5- Relaps veya reenfeksiyon.....	23
2.5.6- Fokal tutulum veya komplikasyonlar.....	23
2.5.6.1- İskelet sistemi tutulumu.....	23
2.5.6.2- Cilt bulguları.....	24
2.5.6.3- Hematolojik komplikasyonlar.....	24
2.5.6.4- Kardiyovasküler tutulum.....	24
2.5.6.5- Solunum sistemi tutulumu.....	24
2.5.6.6- Genitoüriner sistem tutulumu.....	25
2.5.6.7- Gebelik ve emzirme.....	25
2.5.6.8- Gastrointestinal sistem tutulumu.....	25
2.5.6.9- Hepatobiliyer sistem tutulumu.....	25
2.5.6.10- Nörolojik tutulum.....	25
2.5.6.11- Göz ve kulak tutulumu.....	26
2.5.6.12- Nadir tutulumlar.....	26
2.6- Mikrobiyolojik Tanı.....	26
2.6.1- Direkt tanısal yöntemler.....	27
2.6.1.1- Direkt mikroskopik inceleme.....	27
2.6.1.2- Bruselloz tanısında kültür.....	27

2.6.1.3- Moleküler tanı yöntemleri.....	28
2.6.2- İndirekt tanısal yöntemler.....	29
2.6.2.1- Bruselloz tanısında serolojik testler.....	29
2.6.2.2- Hızlı aglütinasyon testleri.....	30
2.6.2.3- Brusella tüp aglütinasyon testleri.....	30
2.6.2.4- Redüktan – merkaptan testler.....	32
2.6.2.5- İndirekt Coombs (AHG = Anti Human Globulin) testi.....	32
2.6.2.6- Brucella – capt test.....	33
2.6.2.7- Birincil bağlanma testleri.....	34
2.6.2.8- Enzyme –Linked immunosorbent assay (ELISA).....	34
2.6.2.9- Immuno kromatografik test (LFA = Lateral Flow assay).....	35
2.7- Tedavi.....	36
2.7.1- Trimetoprim / sulfometoksazol (TMP / SMZ) – rifampisin.....	36
2.8- Brusella ile temas sonrası profilaksi.....	36
2.9- Korunma.....	36
2.9.1- Laboratuvar güvenliği.....	36
2.9.2- Güvenli gıda temini.....	37
2.9.3- Aşılar.....	37
3- Gereç ve yöntem.....	38
3.1- Gereç.....	38
3.1.1- Klinik örnekler.....	38
3.1.2- Kullanılan testler.....	38
3.1.2.1-Tarama testleri.....	38
3.1.2.2-Titrimetrik testler.....	38
3.2- Yöntem.....	38
3.2.1.1. Tarama testleri.....	38
3.2.1.1.1- Rose Bengal testi (RB testi), THSK, Türkiye.....	38
3.2.1.1.1.1- Testin prensibi.....	38
3.2.1.1.1.2- Saklama.....	38
3.2.1.1.1.3- Testin çalışılması.....	38
3.2.1.1.1.4- Testin değerlendirilmesi.....	38
3.2.1.1.1.5- Uyarılar.....	39
3.2.1.1.2.- ELİSA IgM ve IgG Testi, Vircell, Granada, İspanya.....	39
3.2.1.1.2.1- Testin prensibi.....	39
3.2.1.1.2.2- IgG testi kit içeriği.....	39
3.2.1.1.2.3- IgM testi kit içeriği.....	40
3.2.1.1.2.4- ELISA sorbent, Vircell, Granada, İspanya.....	40
3.2.1.1.2.5- Saklama.....	40
3.2.1.1.2.6- Testin çalışılması.....	40
3.2.1.1.2.6.1- IgG için testin çalışılması.....	40
3.2.1.1.2.6.2- IgM için testin çalışılması.....	41
3.2.1.1.2.7- Testin değerlendirilmesi.....	41
3.2.1.1.3- Brucella Coombs Gel Test, Odak diagnostics, Türkiye.....	41
3.2.1.1.3.1- Testin prensibi.....	41
3.2.1.1.3.2- Kit içeriği.....	42
3.2.1.1.3.3- Saklama.....	42
3.2.1.1.3.4- Testin çalışılması.....	42
3.2.1.1.2.5- Sonuçların değerlendirilmesi.....	42
3.2.1.2.Titrimetrik testler.....	42
3.2.1.2.1- Standart Wright Testi (SWT), THSK, Türkiye.....	42

3.2.1.2.1.1- Testin prensibi.....	42
3.2.1.2.1.2- Saklama.....	42
3.2.1.2.1.3- Testin çalışılması.....	42
3.2.1.2.1.4- Değerlendirme.....	42
3.2.1.2.1.5- Uyarılar.....	43
3.2.1.2.2- Anti Human Globulin Testi (AHG testi), Millipore, UK.....	43
3.2.1.2.2.1- Testin prensibi.....	43
3.2.1.2.2.2- Saklama.....	43
3.2.1.2.2.3- Testin çalışılması.....	43
3.2.1.2.2.4- Testin değerlendirilmesi.....	44
3.2.1.2.3- 2-Merkaptoetanol (2-ME) Testi, Merck, Almanya.....	44
3.2.1.2.3.1- Testin prensibi.....	44
3.2.1.2.3.2- Saklama.....	44
3.2.1.2.3.3- Reajenlerin hazırlanması.....	44
3.2.1.2.3.4- Testin çalışılması.....	44
3.2.1.2.3.5- Testin değerlendirilmesi.....	44
3.2.1.2.4. Titrimetrik Brucella Coombs Gel test, Odak Diagnostics, Türkiye.....	44
3.2.2- Serolojik testlerin çalışma algoritması.....	45
3.2.3- Klinik değerlendirme.....	46
3.2.3.1- Olgu rapor formu.....	47
3.2.3.2- Hastaların klinik değerlendirilmesi.....	47
3.2.4- Serolojik test sonuçları ve klinik değerlendirme ile hastaların sınıflandırılması.....	47
3.2.5- İstatiksel değerlendirme.....	48
4- Bulgular.....	49
4.1- Olgular.....	49
4.2- Serolojik test sonuçları.....	49
4.3- Gruplara göre olguların değerlendirilmesi.....	51
4.4- Kan kültürü sonuçları.....	54
4.5- İstatiksel analiz.....	54
5- Tartışma ve sonuç.....	59
6- Kaynaklar.....	65

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Brusella cinsi bakteriler, konak hayvanlar ve insanlarda en sık hastalık oluşturanlar.....	10
Tablo 2. Brusella vaka ve ölüm sayıları, morbidite ve mortalite hızları, Türkiye, 1970-2004.....	13
Tablo 3. <i>B. melitensis</i> ve <i>B. abortus</i> 'un oral ve inhalasyon yoluyla aktif bruselloz meydana getirebilecek minimum bakteri sayısı.....	16
Tablo 4. İnsan bruselloz tanısında kullanılan yöntemler.....	27
Tablo 5. Antikor indeks = (hasta serumu OD / cut off serum OD) × 10.....	41
Tablo 6. Hastaların kliniklere göre dağılımı.....	49
Tablo 7. Tüm tarama testi sonuçlarının gruplara göre dağılımı.....	51
Tablo 8. Grup 1'deki (aktif bruselloz) hastaların yaş, cinsiyet, geldikleri poliklinik-servis durumları ve laboratuvar sonuçları.....	53
Tablo 9. Grup 2'deki (Eski-geçirilmiş bruselloz) hastaların yaş, cinsiyet, geldikleri poliklinik-servis durumları ve laboratuvar sonuçları.....	53
Tablo 10. Grup 3'deki (Bruselloz olmayan) hastaların yaş, cinsiyet, geldikleri poliklinik-servis durumları ve laboratuvar sonuçları.....	54

Tablo 11. RB testinin sonuçları.....	55
Tablo 12. SWT testinde 1/80 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.....	55
Tablo 13. SWT testinde 1/160 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.....	55
Tablo 14. SWT ve AHG testi birlikte değerlendirildiğinde 1/80 ve üzerindeki titreler pozitif alındığında sonuçlar.....	55
Tablo 15. SWT ve AHG testi birlikte değerlendirildiğinde 1/160 ve üzerindeki titreler pozitif alındığında sonuçlar.....	55
Tablo 16. IgM testinin sonuçları.....	55
Tablo 17. IgG testinin sonuçları.....	56
Tablo 18. IgM ve IgG testi birlikte değerlendirildiğinde sonuçlar.....	56
Tablo 19. AHG'li Jel tarama testinin sonuçları.....	56
Tablo 20. AHG'li Jel testinde 1/80 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.....	56
Tablo 21. AHG'li Jel testinde 1/160 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.....	56
Tablo 22. Tüm hasta örneklerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması.....	56
Tablo 23. Tüm hasta örneklerinden elde edilen sonuçların % 95 güven aralığında karşılaştırılması.....	57
Tablo 24. Grup 1'de (Aktif bruselloz) testlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması.....	58
Tablo 25. Grup 2'de (Eski / geçirilmiş bruselloz) testlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması.....	58
Tablo 26. Grup 1 ve grup 2 birlikte alındığında testlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması.....	58

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Akdeniz ateşi komisyon üyeleri (1904).....	9
Resim 2. İnsan brusellozunun Dünya'daki dağılımı (insidans - 1/1000 000).....	12
Resim 3. Brusella bakterileri, Gram boyama preparatında Gr - kokobasil olarak görülür.....	15
Resim 4. Brusella bakterileri, kanlı agarda küçük, konveks, düzgün, yarı saydam ve hafif sarı renkte, ışığı yansıtan S koloniler olarak izlenir.....	15
Resim 5. Brusellanın makrofaj içine girişi ve replikasyonu.....	18
Resim 6. Düz (smooth) ve kaba (rough) brusella fenotiplerinin Hücre içine giriş ve replikasyonu.....	19
Resim 7. Brusella bakterisine karşı geliştirilen immun yanıt.....	20
Resim 8. Brusellozda oluşan aglütinan ve blokan antikorlar.....	31
Resim 9. Aglütinasyon vermeyen antikorların Coombs testi ile aglütinasyon oluşturması.....	33
Resim 10. Sağ tarafta pozitif RB testi, sol tarafta negatif RB testi.....	39
Resim 11. Kullanılan Vircell ELSA IgG kitinin içeriği.....	40
Resim 12. Odak Brucella Coombs Gel Test'in tek sribinin kullanılmadan önceki görünümü.....	41
Resim 13. SWT'nin 1/20'den 1/640'a kadar titrelendirilmesi.....	43
Resim 14. Birinci resimde aglütinan antikorlar, ikinci resimde aglütinan olmayan antikorlar, üçüncü resimde aglütinan olmayan antikorların ortama eklenen AHG ile aglütinasyon oluşturması gösterilmiştir.....	43
Resim 15. Soldaki resim jel tarama testi için pozitif ve negatif sonucu gösterirken sağdaki resim pozitif olan bir örneğin titrasyon sonucu en az 1/320'ye kadar pozitif olduğunu gösteriyor.....	45

ŞEMALAR DİZİNİ

Şema 1. Brusella morbidite ve mortalite Hızları, Türkiye, 1970-2004.....	13
Şema 2. Bruselloz ön tanısıyla Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen, 18 yaş ve üzerindeki hasta serumlarında çalışılan testlerin şematik gösterimi.....	45
Şema 3. Hastaların serolojik testler ve klinik değerlendirme ile sınıflandırılması algoritması.....	47

Şema 4. Çalışılan hasta örneklerinin serolojik sonuçları.....	50
Şema 5. AHG testi çalışılan hastaların şeması.....	50
Şema 6. Serolojik test sonuçlarına ve klinik değerlendirmeye göre hastaların sınıflandırılması...51	
Şema 7. Gruplardaki kişi sayılarının ve kadın – erkek sayılarının birbirlerine göre durumu.....	52
Şema 8. Gelen örneklerin servis / poliklinik ve gruplara göre dağılımı.....	52

FORMLAR DİZİNİ

Form 1: Bilgilendirilmiş gönüllü onam formu.....	7
Form 2: Olgu rapor formu.....	46

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan bruselozunun laboratuvar tanısında kullanılan ELISA (IgM ve IgG) ve aglutinasyon testlerinin karşılaştırılması amacıyla yapılmış olan ön çalışmada 04.07.2012-29.08.2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza brusella serolojisi isteğiyle gelen örnekler incelenerek; RB pozitif bulunan örnekler (84 örnek) aglutinasyon testlerinin yanında ELISA IgM ve IgG testleriyle de çalışıldı. RB testi referans olarak kabul edildiğinde, ELISA IgG, IgM ve IgG ve/veya IgM testlerinin duyarlılığı sırasıyla; % 70, % 39, % 80 oranında bulundu. Sadece RB pozitif hastalar incelendiğinden özgüllük karşılaştırılması yapılamadı. Bu amaçla 17.06.2013-29.08.2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza brusella serolojisi isteğiyle gelen 658 örnek, RB, aglutinasyon testleri ve ELISA IgG ve IgM ile çalışıldı. Bunun sonucunda, 30 örnekte antikor testlerinden en az biri pozitif bulundu. RB pozitif bulunan 21 örnek, SWT $\geq 1/80$ olan 14 örnek, IgG pozitif olan 20, IgM pozitif olan 16 örnek bulundu. RB negatif olup IgG ve/veya IgM pozitif olan 9 örnek bulundu. RB testi referans kabul edildiğinde ELISA IgG, IgM ve IgG ve/veya IgM testlerinin duyarlılığı sırasıyla; %71, %57, % 100, özgüllükleri sırasıyla; %99, %99, % 99, pozitif prediktif değerleri (PPD) sırasıyla; % 75, % 55, % 70, negatif prediktif değerleri (NPD) sırasıyla; % 99, % 99, %100 olarak bulundu. SWT referans test olarak alındığında ELISA IgG, IgM ve IgG ve/veya IgM testlerinin duyarlılığı sırasıyla; % 64, % 71, % 100, özgüllükleri sırasıyla % 98, % 99, % 98, pozitif prediktif değerleri (PPD) sırasıyla; % 45, % 63, % 43, negatif prediktif değerleri (NPD) sırasıyla; %99, % 99, %100 olarak bulundu. Bu veriler Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği tarafından 2013 yılında düzenlenen 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde poster (PS239) olarak sunuldu (1). RB negatif olup IgG ve/veya IgM pozitif olan 9 hasta RB referans kabul edildiğinde yalancı pozitif gibi gözükmektedir. Ancak RB testinin yalancı negatif olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Yalancı negatif sonuçlar, enfeksiyonun erken ve geç dönemlerinde ortaya çıkar. *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*'in antijenik benzerliği nedeniyle bu kökenlere karşı oluşan antikorlar da bu test ile saptanabilir. *B. canis* ve *B. ovis* enfeksiyonlarında reaksiyon oluşmaz. Bazı *Yersinia*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Francisella*, *E. coli* ve *Pseudomonas* enfeksiyonlarında çapraz reaksiyon veren antikor oluşumuna bağlı olarak yalancı pozitiflikler gözlenebilir. SWT $<1/80$ olan hastaların 6'sı IgM pozitif, 11'i IgG pozitif, 15'i IgG ve/veya IgM pozitif bulunmuştur. SWT testi de blokan antikorlardan etkilenebileceğinden AHG ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği bilinmektedir. Bu bağlamda ELISA testinin yalancı pozitifliği mi, yoksa SWT testinin yalancı negatifliği mi ayırımı iyi yapmak gerekir. Hastalığın erken dönemlerinde, bağışıklık-yanıtsızlığı durumlarında, prezon ve antibiyotik tedavisi alan hastalarda yanlış negatif sonuçlar olabilir. Sonuç olarak ELISA ile duyarlılığı artırmak için IgM ve IgG testi birlikte kullanılmalıdır. Hastaları doğru değerlendirmek için klinik bilgi ve izlem gereklidir. Aglutinasyon testlerinin doğruluğu AHG testi ile birlikte değerlendirilmelidir. Bu amaçla RB testi, SWT, 2ME testi, AHG'li aglutinasyon testi, ELISA IgG ve IgM testi ve AHG'li jel testin birlikte çalışılacağı prospektif bir çalışma planlandı. Elde edilen verilerle, örnek akışına ve laboratuvar çalışma koşullarına uygun bir laboratuvar tanı algoritması önerilmesi amaçlandı.

Bu amaçla çalışmaya katılacak hastalar için bilgilendirilmiş gönüllü onam formu (Form 1) hazırlanarak Etik kurula başvuru yapıldı. Etik kurul onayı 13-12.1/8 karar no ile 07.01.2014 tarihinde alınarak çalışmaya başlandı.

Form 1: Bilgilendirilmiş gönüllü onam formu.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ!!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Bruselloz koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların süt/süt ürünleri, vücut sıvıları veya enfekte hayvanın gebelik materyali ile insanlara bulaşabilen bir hastalıktır. Hastalık titreme, ateş, kas ve eklem ağrıları ile seyrederek. Hastalığa brusella çinsi bakteriler neden olur.

Bruselloz tanısı, hastanın şikayetleri ve laboratuvar testlerinin birlikte değerlendirilmesiyle konulmaktadır. Hastaların her zaman karakteristik şikayetlerinin olmaması, klinik olarak farklı formlarının bulunması nedeniyle tanıda güçlüklerle karşılaşmaktadır. Mikrobiyolojik laboratuvar tanısında, brusella bakterisinin üretilmesi ve bakteriye karşı oluşan antikor testleri kullanılır. Bu testlerin kullanımı ve yorumlanmasında sıkıntılar olabilmektedir. Rutinde kullanılan antikor testlerine (aglutinasyon, Rose Bengal gibi) ek olarak yeni yöntemler geliştirilmiştir. (ELISA ile Brusella IgM ve Brusella IgG , jel testi gibi). Bu testlerin birbirleriyle karşılaştırılması ve değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Bu amaçla; bruselloz ön tanılı hastaların kanlarından laboratuvarımızda rutin olarak çalışılan (Rose Bengal Testi, Standart Wright Testi, 2 Merkaptoetanol Testi ve Anti Human Globulin Testi) ile birlikte diğer testlerin (EIA Brusella IgG antikorları, EIA Brusella IgM antikorları ve Coombs'lu jel test) çalışılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için klinisyen tarafından brusella enfeksiyonu geçirdiğiniz düşünülmesi ve istenen tetkikler sonucunda brusella enfeksiyonu geçirdiğinize karar verilmelidir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Hastanemize başvuran bruselloz şüpheli hastalardan, klinisyen tarafından rutin olarak gerekli olan tetkikler istenecek ve bunun için kan alınacaktır. Alınan kandan istenen tetkiklerin bir kısmı (rutin olarak çalışılan testler) 48 saat içinde bir kısmı da (rutin olarak çalışılmayan testler) biriktirilerek toplu halde çalışılacaktır. Sizden fazladan kan alınmayacaktır. Gerektiğinde tekrarlamak için serumlar -20 °C' deki derin dondurucuda çalışma sonuna kadar saklanacaktır.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak yapılması gereken tetkiklere izin vermedikçe herhangi bir sorumluluğunuz yoktur.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı yaklaşık 100 'dür.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırma yaklaşık 18 ay sürecektir. Hastalardan kan alındıktan sonra klinisyen gerekli görürse kontrole çağırılacaktır. Bunun dışında çalışmamız özelinde ayrıca çağrılmaya gerek yoktur.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Buarştırma ile tanı duyarlılığı artırılabilir ve bu çalışmadan çıkarılan sonuçlar başka insanların yararına kullanılabilir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Gerekli tetkikler için kan alınacaktır. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Bu tanının tedavisinde gerekli rutin tedaviler uygulanacaktır.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Bu çalışmanın getireceği ek bir zarar görme durumu söz konusu değildir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

no'lu telefondan Dr. EMİNE EMEL KOÇMAN'a başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Çalışmanın getirdiği masraflar, size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz; reddetme veya durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayımlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmamın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 3 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GONULLUNUN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	EMİNE EMEL KOÇMAN	
TARİH		

GEREKİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

2.GENEL BİLGİLER

2.1.TARİHÇE

Bruselloz ile ilgili ilk kayıtlarda bu hastalık değişik isimlerle anılmıştır. 1800'lü yıllarda, Akdeniz ateşi, Malta ateşi, Gibraltar ateşi, Kırım ateşi, Kıbrıs ateşi, mide ateşi (gastric remittent fever), Bang hastalığı gibi isimler verilmiştir. İngiliz askeri literatüründe "Kolordu Hastalığı" (Corps Disease) olarakta isimlendirilmiştir. Başlangıçta yukarıdaki isimlerle anılan bu hastalık, 1913 yılından itibaren ondülan ateş (undulent fever) ismiyle anılmaya başlanmıştır. Hastalığı oluşturan etkenlerin 1920 yılında *Brucelleae* ailesi ismi altında toplanmasından sonra, 1940 yılından itibaren günümüze kadar ve halen bu hastalık 'Bruselloz' adı ile isimlendirilmektedir (2-7).

Bruselloz, tarihin en eski hastalıklarından biridir. Mısırda yapılan kazılarda elde edilen ve M.Ö. 750 yıllarına ait olan kemiklerin tekrar incelenmesinde; brusellozda sık rastlanılan komplikasyonlar olan sakroileit ve diğer kemik lezyonlarına rastlanıldığı belirtilmektedir (8).

İnsan brusellozu klinik tanımlamasında askeri hekimlik çok önemli rol oynamıştır. Bu günkü tarihi bilgilerimizin büyük bir kısmı İngiliz askeri hekimlerinin gözlemlerine ve kayıtlarına dayanmaktadır. İngiliz askeri Doktor Jeffrey Allen Marston ilk Malta ateşi ile 1861 yılında karşılaşmış klinik gözlemlerini ve istatistiksel analiz raporlarını oluşturmuştur. Marston'un Malta ateşini diğer Akdeniz ateşlerinden ayıran ilk hekim olduğu kabul edilmektedir (5,7,9).

David Bruce 1884 yılında mikroskopik incelemeler yaparak Malta ateşinin etiyolojisini ortaya koymuştur. David Bruce daha sonra 1893 yılında organizmaya, Malta'nın Roma dönemi ismine esinlenerek, Melita (Bal adası) "*Micrococcus melitensis*" adını verdi (5,10,11).

Malta'da 1904 yılında Akdeniz Ateşi Komisyonu kurulmuş olup, bu komisyon üyeleri arasında David Bruce ve Maltalı Doktor T. Zammit'te yer almaktadır.



Resim 1: Akdeniz ateşi komisyon üyeleri (1904).

Ön sıra: Binbaşı J. C. McNaught, Dr. J. W. Eyre, David Bruce, Binbaşı T. McCulloch, Cerrah F. H. A. Clayton,
Arka sıra: Dr. T. Zammit, Yüzbaşı J. Crawford Kennedy, Binbaşı J. C. Weir (12).

S.S. Joshua Nicholson isimli ticaret gemisi Agustus 1905 tarihinde bir gün Malta'dan Amerika'ya götürmek üzere 65 süt keçisi gemiye almışlardır. Mürettebat sefer esnasında keçi sütünü çiğ olarak tüketmişler ve bütün mürettebatın Malta ateşine yakalandığı belirtilmiştir (hastalığın çiğ süt ile geçtiğini gösteren önemli bir gözlemdir) (5).

İlk defa 1895 yılında Kopenhag'da Professor B. Bang sığırlarda düşük yapan etkenin küçük bir basil olduğunu görerek, buna *Bacillus abortus* ismini vermiştir.

Jacob Traum 1914 yılında düşük yapan domuzun fetusundan aynı şekilde küçük bir bakteri izole ederek buna *Bacterium abortus suis* ismini vermiştir. Nihayet Alice Catherine Evans (1881-1975), insanlarda ondulan ateş yapan bakteri ile sığırlarda düşük yapan bakterinin yakın ilişkisini ortaya koymuş ve aynı cinsten olduğunu ifade etmiştir (7). 1920’lerde bu bakteriler yeniden David Bruce’un adına atfen “brusella” adı altında ve onun türleri *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis* olarak isimlendirildi.

1956 yılında koçlardan epididimit yapan bir brusella türü daha izole edildi ve *Brucella ovis* olarak isimlendirildi. 1957 yılında sıçandan izole edilen brusella türü *Brucella neotomae* olarak isimlendirildi. 1964 yılında ise L.E. Carmichael köpeklerde düşük yapan brusella türünü izole etti ve *Brucella canis* olarak isimlendirildi (2,13).

Brusella genusu, uzun dekatlar boyunca 6 tür olarak bilinmekteydi. 1990’lı yıllarda deniz memelilerinde farklı türlerin izole edilmesi taksonomiye değiştirmiştir (14). *B. ceti*, dominant olarak yunuslardan izole edilmiştir. Yeni kökenlerden bir diğeri *B. microti* olup, Orta Avrupa’da kırmızı tilkiler ara konakçısıdır (15).

Son bilgilere göre brusella türleri ve hayvan konakları Tablo 1’de özetlenmektedir (15-16).

Tablo 1: Brusella cinsi bakteriler, konak hayvanlar ve insanlarda en sık hastalık oluşturanlar

Brusella türleri	Konak hayvan	İnsan brusellozu
<i>B. melitensis</i>	Koyun, keçi, deve	En sık insan enfeksiyonu
<i>B. abortus</i>	Sığır, bufalo, deve, bizon	İkinci sıklıkla insan enfeksiyonu
<i>B. suis</i>	Evcil domuz, yabani ayı, ren geyiği, kemiriciler	Artan insan enfeksiyonu
<i>B. canis</i>	Köpekler	Artan sayıya insan enfeksiyonu raporu
<i>B. ovis</i>	Koyun	Rapor edilmedi
<i>B. neotomae</i>	Kemiriciler	Rapor edilmedi
<i>B. ceti</i>	Yunus balığı, köpek balığı, balina	Nörobruselloz, spondilit, lab enfeksiyonu
<i>B. pinnipedialis</i>	Fok balığı	Rapor edilmedi
<i>B. microti</i>	Kırmızı tilki, tarla faresi	Rapor edilmedi
<i>B. inopinata</i>	Bilinmiyor	Az sayıda vaka

2.2.EPIDEMİYOLOJİ

Bruselloz dünyanın en önemli zoonotik hastalıklarından biridir. Dünyada her yıl 500 000 yeni insan brusellozunun olması hastalığın veterinerlik boyutunu aşarak, ciddi tıbbi ve sosyo ekonomik problemlere neden olduğunu göstermektedir (8). Hastalığın bir diğeri boyutu laboratuvar kazanımlı bir hastalık olmasıdır. Hastalığın coğrafi dağılımı her yıl yeni ve farklı bir şekilde ortaya çıkan epidemiyolojik odaklara göre değişiklik göstermektedir. Hastalığın ekolojisinin de değişmesi bu

epidemiyolojik değişime bir nedendir. Örneğin, *Brucella ceti* ve *B. pinnipedialis* gibi iki yeni brusella türünün saptanmış olması, bu hastalığın deniz memelilerinde de var olduğu göstermiştir. Yeni türlerin yanında; göçler, yolculuklar, savaşlar, ülkelerin siyasi yapı değişiklikleri hastalığın farklı coğrafik bölgelerde karşımıza çıkmasına neden olmuştur (18). Son yıllarda balkan ülkelerindeki bruselloz salgınları bu değişime bir örnektir. Hayvan brusellozu önlenmeden, insan brusellozunun önlenemeyeceği bilinmektedir. Hayvanların aşılmasında kullanılan birçok aşı başarı ile kullanılmakla birlikte, günümüzde insan brusellozunu önlemeye yönelik mevcut bir aşı yoktur.

2.2.1.BULAŞMA YOLLARI

İnsana bulaşma, enfekte hayvanların pastörize edilmeyen ürünlerinin (süt, krema, tereyağ, taze peynir, dondurma) yenmesi, enfekte hayvanlarla direkt temas ya da sekresyonlarına deri yolu ya da konjonktival yolla teması ile olur (2). Süt, bruselloz bulaşımından temel sorumlu besindir. Et ürünleri bruselloz için çok nadiren kaynak oluşturlar. Çiğ et tüketim oranlarının düşük olmasının yanında kas dokusu içindeki mikroorganizma sayısının çok düşük olması bu durumdan sorumludur. Gastrik asit brusella türlerine karşı bakterisidal etkilidir. Anti asit kullananlarda gastrik asit inhibe olduğundan; bulaşma olduğunda hastalığa daha kolay yakalanılır. İnhalasyon yoluyla bulaş çoban, hayvan bakıcısı, çiftçi, çiftlik çalışanları, kasap, mezbaha çalışanları, veteriner ve yardımcılarında sık görülür. Brusella bakterilerinin kültürleri ile uğraşan laboratuvar personeli bu mikroorganizmalara aerosollerle ya da uygun laboratuvar önlemlerinin alınmaması sonucu maruz kalabilirler. Bruselloz tüm laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların %2'den fazlasını oluşturmaktadır (19). Özellikle veterinerlerin hayvan aşılamalarında kullandıkları canlı *B. abortus* 19 kökenine konjonktival ya da perkütan yolla (otoinokülasyon) maruz kalmaları bu meslek grubu için önemli bulaşma yolunu oluşturmaktadır. İnsandan insana bulaşma, çok nadir olarak kan ya da kemik iliği nakli veya cinsel yolla olabilmektedir. Aktif brusellozu olan anneden bebeğe geçiş plasental yolla ve anne sütüyle olabilmektedir. Literatürde bu konuda olgu bildirimleri şeklinde sunumlar vardır (20,21).

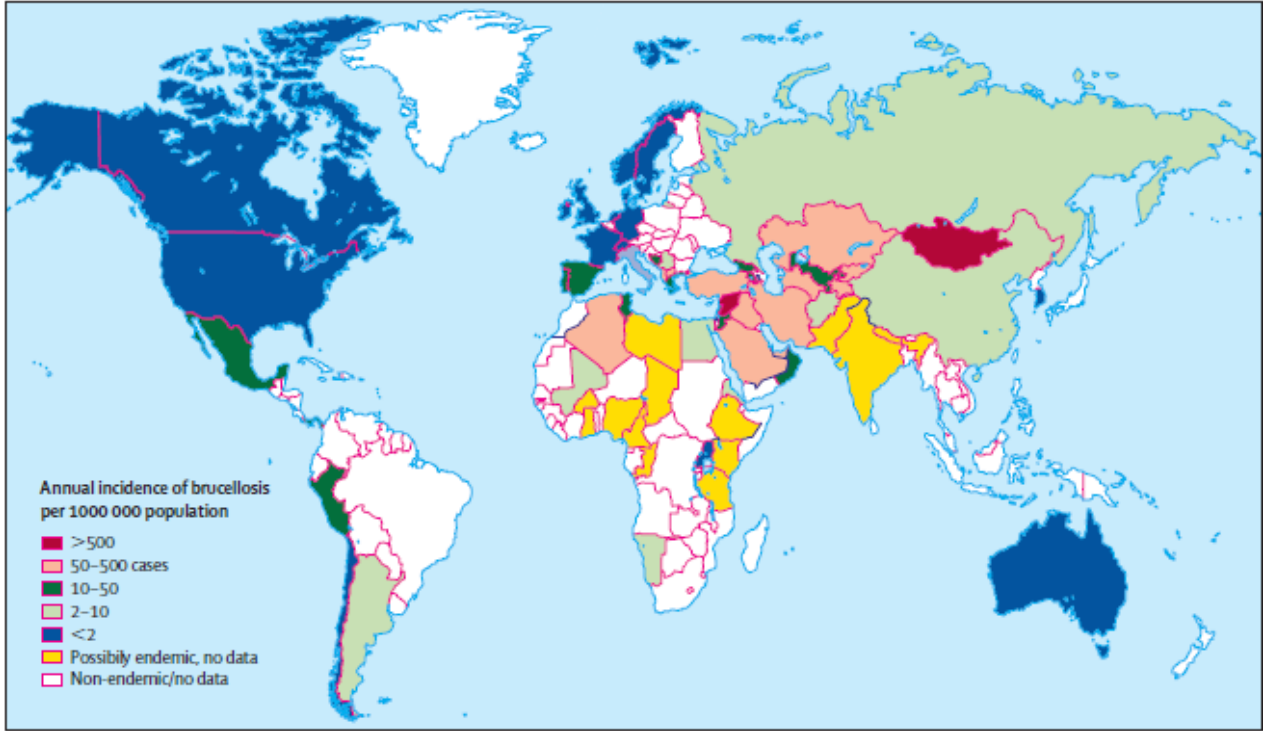
2.2.2.DÜNYADAKİ DAĞILIMI

Dünya üzerindeki insidans, 100 000'de <0,03 ile 160 arasında değişmektedir (18). İnsidans ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye göre değişkenlik göstermektedir. Türler arasında da değişkenlik söz konusudur. *B. abortus*, Amerika Birleşik Devletleri (A.B.D) ve Kuzey Avrupa'da, *B. melitensis*, Latin Amerika ve Akdeniz ülkelerinde daha yaygın görülen türlerdir. Dünya üzerinde Peru, Kuveyt, Suudi Arabistan gibi ülkeler, bruselloz için hiperendemik bölgelerdir (22).

Bruselloz için sürekli değişen bir epidemiyolojik değişim söz konusudur. Bu değişiklikler çoğu kez sanitasyon koşulları, sosyoekonomik değişiklikler, politik nedenlerle birlikte büyük ölçüde artan seyahatlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Orta Asya ve Orta Doğu ülkeleri, insan brusellozu için yeni odaklar olarak belirlenmiştir. Sığır brusellozunun (*B. abortus*) eradike edildiği; Avustralya, Kanada, Kıbrıs, Danimarka, Finlandiya, Norveç, İsveç ve İngiltere gibi ülkelerde son yıllarda yeni bruselloz olgusuna rastlanmamıştır. Akdeniz ülkeleri, Orta Avrupa, Kuzey ve Doğu Afrika, Orta Asya, Meksika ve Güney Amerika ülkelerinde hastalık oldukça yaygındır (Resim 2).

Dünyada endemik bölgelerde bildirilen bruselloz insidansı yüz binde <0.01 ile >200 arasında değişmektedir (23). Ülkemizde bruselloz insidansı yüz binde 26, İran'da 24, Irak'ta 28 ve dünyanın en yüksek insidansına sahip olan Suriye'de yüz binde 161 ile ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Ancak gerçek insidansın yanlış tanı ve eksik bildirimle bağlı olarak bildirilenden 25 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (23).

Resim 2: İnsan brusellozunun Dünya'daki dağılımı (insidans - 1/1000 000) (24).



2.2.3.TÜRKİYE'DE BRUSELLOZ

Türkiye'de sınırlı ulaşılabilen kaynakların incelenmesi bize Malta ateşinin ilk defa 1915 yılında saptandığını işaret etmektedir. (4,25).

Türkiye'de ilk defa 1930 yılında çıkan Umumi Hıfzıssıhha Kanunu'n (Kanun Numarası: 1593, Resmi Gazete Yayımlandığı tarih: 06.05.1930, Resmi Gazete Sayısı: 1489) 57'inci maddesine göre "Malta humması" ihbarı zorunlu hastalıklar arasına alınmıştır (17,25).

Veterinerlik hizmetleri açısından ise, bruselloz ilk defa 1937 yılında Hayvan Sağlık Zabıtası Kanunu kapsamına alınmış ve ihbarı zorunlu hastalık haline getirilmiştir. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü 1984 yılında "Türkiye Bruselloz Mücadelesi Projesi" hazırlamış ve uygulamaya koyulmuştur. Bu projenin halen devam ettiği ifade edilmektedir. Bu proje kapsamında bütün bölgelerde koyun ve keçiler *Brucella melitensis* Rev 1 aşısı ile aşılanması, sığırların ise *Brucella abortus* S19 ile aşılanması hedeflenmiştir (27).

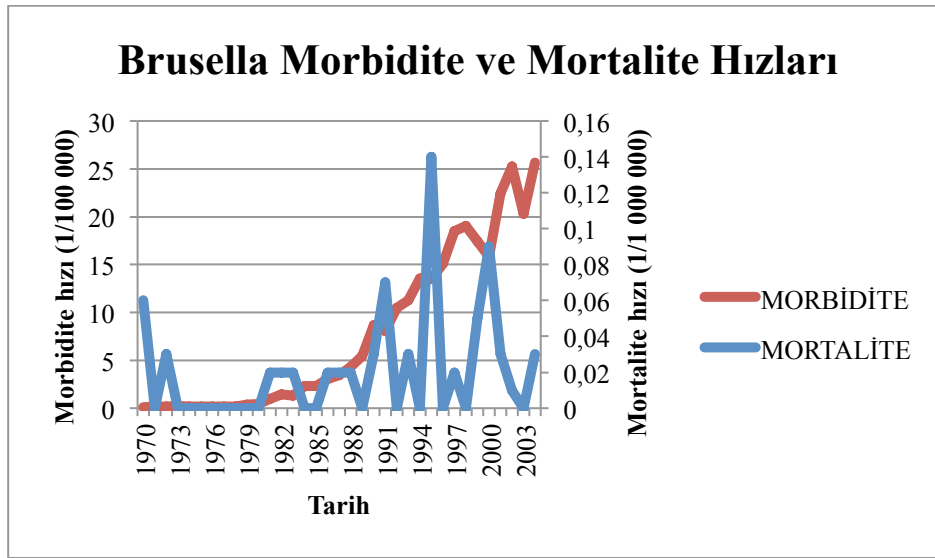
Ülkemizde bruselloz seroprevalansını belirlemek için yapılan çeşitli çalışmalarda; Demir ve ark. (28), Kırşehirde %3, Dabanlıoğlu ve ark. (29), Erzincan'da %8, Alim ve ark. (30), Sivas'ta %15, Turhan ve ark. (31), Gündüz ve ark. (32), Manisa'da % 4 Hatay'da %3, Büke ve ark. (33), %8, Güneş ve ark. (34), %3.6 olarak bildirmişlerdir. Bölgesel dağılıma göre hastalık sıklıkla Doğu, Orta ve Güney Anadolu'da endemiktir (35). Sonuç olarak Türkiye bruselloz açısından endemik bir ülkedir ve seroprevalans %3 ile % 15 arasında değişmektedir.

Hastalığın mevsimsel dağılımına bakacak olursak Çoğu olgu bahar ve yaz aylarında karşımıza çıkmaktadır. Gür ve ark.'nın çalışmasında olguların %68'inin bu aylarda görüldüğü bildirilmektedir (36). Dünyada yapılan çalışmalarda da hastalık Temmuz ayında pik yaparken en düşük oranlara Ocak ayında rastlanmaktadır. Buzgan ve ark.'nın çalışmasında hastalığın iki fazlı bir epidemik pike

sahip olduğu bildirilmiştir. İlk olgulara taze peynir kullanımının sık olduğu Nisan-Mayıs aylarında rastlanılmış, ardından ikinci salgın dönemine ise bahar aylarında depolanan peynirlerin tüketilmeye başlandığı Eylül ayında rastlanmıştır (37).

Bruselloza bağlı ölüm oranı çok düşüktür (% 0.1). Ölüm daha çok geç tanı ve tedavi nedeni ile brusella endokarditi, menenjit veya beyin apsesine bağlıdır (38). Ülkemizde 2004 yılında morbidite hızı 25.67 (1/100 000), mortalite hızı 0.03 (1/1000 000) olarak belirlenmiştir (Tablo:2 – Şema:1). Sağlık bakanlığının yıllık olarak yayınladığı ‘Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı’ yayınlarında 2004 yılından sonra bruselloza yer verilmemiştir.

Şema 1: Brusella morbidite ve mortalite Hızları, Türkiye, 1970-2004 (39).



Tablo 2: Brusella vaka ve ölüm sayıları, morbidite ve mortalite hızları, Türkiye, 1970-2004 (40).

YILLAR	YIL ORTASI NÜFUS	VAKA SAYISI	MORBİDİTE HIZI (1/100 000)	ÖLÜM SAYISI	MORTALİTE HIZI (1/1000 000)
1970	35.321.000	37	0,1	2	0,06
1971	36.215.000	70	0,19	0	0
1972	37.132.000	63	0,17	1	0,03
1973	38.072.000	84	0,22	0	0
1974	39.036.000	70	0,18	0	0
1975	40.078.000	69	0,17	0	0
1976	40.915.000	69	0,17	0	0
1977	41.768.000	62	0,15	0	0
1978	42.640.000	72	0,17	0	0
1979	43.530.000	157	0,36	0	0
1980	44.438.000	186	0,42	0	0
1981	45.540.000	438	0,96	1	0,02
1982	46.688.000	676	1,45	1	0,02
1983	47.864.000	618	1,29	1	0,02
1984	49.070.000	1.135	2,31	0	0

1985	50.306.000	1.177	2,34	0	0
1986	51.546.000	1.563	3,03	1	0,02
1987	52.845.000	1.809	3,42	1	0,02
1988	54.176.000	2.356	4,35	1	0,02
1989	57.426.316	3.145	5,48	0	0
1990	57.582.446	5.003	8,69	2	0,03
1991	57.736.288	4.658	8,07	4	0,07
1992	59.088.101	6.197	10,49	0	0
1993	60.384.474	6.795	11,25	2	0,03
1994	61.779.288	8.383	13,57	0	0
1995	63.206.510	8.506	13,46	9	0,14
1996	62.727.000	9.480	15,11	0	0
1997	63.745.000	11.812	18,53	1	0,02
1998	64.786.000	12.330	19,03	0	0
1999	65.819.000	11.462	17,41	3	0,05
2000	67.844.903	10.742	15,83	6	0,09
2001	69.081.716	15.510	22,45	2	0,03
2002	70.415.064	17.765	25,23	1	0,01
2003	71.772.711	14.572	20,3	0	0
2004	71.152.000	18.264	25,67	2	0,03

2.3.ETKEN

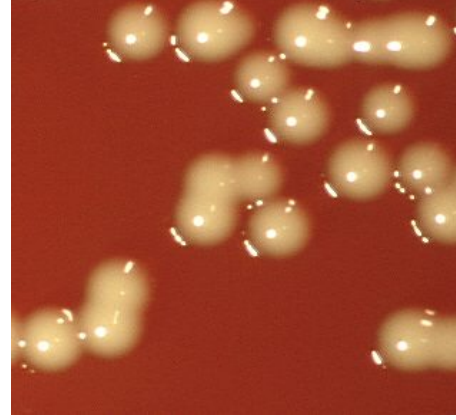
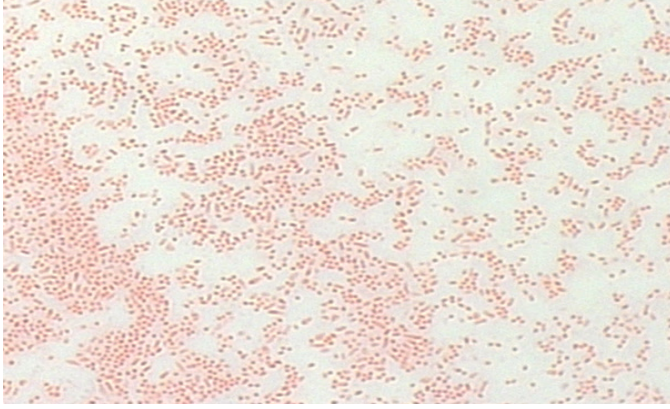
Brusella türleri, “*Rhizobiales*” takımındaki Brucellaceae ailesinde *Proteobacteria* alfa 2 alt grubunda sınıflandırılır. Retiküloendotelial sistemin fakültatif intraselüler parazitidir. Brusella türleri fenotipik ve antijenik özelliklerine biyovar (bv) / biyotiplere ayrılmaktadır. *B. melitensis*'in üç, *B. abortus*'un yedi, *B. suis*'in beş biyovarı bulunurken diğer türlerin ise birer biyovarı bulunmaktadır (41,42 ,43).

Gram negatif kok, kokobasil veya 0,5-0,7 µm eninde, 0,5-1,5 µm boyunda kısa çomakçık şeklinde olabilmektedir. Bir veya ikili hücreler, kısa zincirler şeklinde bulunabilirler (Resim 3) (44). İn vivo ortamda bakteri hücre içinde sıkıca kümelenmiş durumda yaşar. Spor veya gerçek kapsül oluşturmazlar. Hareketsizdirler ve flajellaları yoktur. Aerobiktirler, zorunlu anaerop koşullarda üreyemezler ve özellikle *B. abortus* biyovar 1, 2, 3, 4 ve *B. ovis* gibi bazı türler üreme koşulları için karbondioksite gereksinim duymaktadır (45,46).

Özellikle ilk izolasyonda üreme için aminoasitler, tiamin, biotin, nikotinamid ve pantotenik asit içeren kompleks besiyerlerine gereksinim duyar. Üreme 20-40 °C ısı aralığında gerçekleşir fakat üreme için optimum ısı 37 °C'dir. Üreme için optimum pH 6,6 ve 7,4 aralığındadır. Kültürlerde yavaş ürer, Gram boyasıyla silik boyanırlar. Koloniler küçük, konveks, düzgün, yarı saydam ve hafif sarı renkte, ışığı yansıtan S koloniler olarak izlenirler (Resim 4) (47), durdukça bazen esmerkahverengi renk alır ve çabucak R kolonilere dönüşür. Demir ve manganez gibi eser metaller üremeleri için gereklidir (45,46).

Resim 3: Brusella bakterileri, Gram boyama preperatında Gr - kokobasil olarak görülür

Resim 4: Brusella bakterileri, kanlı agarde küçük, konveks, düzgün, yarı saydam ve hafif sarı renkte, ışığı yansıtan S koloniler olarak izlenirler.



Tüm kökenler katalaz, bazı kökenler ise oksidaz pozitifdir. Birçok köken nitrat redüktaz üretmektedir. Sülfür içeren amino asitlerden H₂S oluşturma özelliği; türler ve biyovarlar arasında farklılıklar gösterir ve birbirlerinden ayırt edilmeleri işleminde kullanılmaktadır. *B. abortus* (biyovar 5 hariç), *B. suis* biyovar 1 ve *B. neotomae* H₂S oluşturur. Proteolitik aktiviteleri zayıftır, jelatini eritemezler veya eritrositlerde hemoliz yapamazlar. *B. suis* ve *B. canis* yüksek üreaz aktivitesine sahip olmasına karşın diğer türlerin bazılarında üreaz aktivitesi zayıftır. *B. ovis*'te ise üreaz aktivitesi yoktur.

Metabolizma oksidatifdir ve enerji aminoasitlerle karbonhidratlardan elde edilir. Birçok köken enerji için i-eritritol kullanmaktadır. *B. melitensis* D-glukoz, i-eritritol, L-alanin, L-asparagine, L-glutamik asit gibi karbonhidrat ve amino asitleri substrat olarak kullanır. *B. abortus* ise ek olarak L-arabinoz, D-galaktoz, D-riboz'u da okside edebilmektedir. *B. ovis* sadece birkaç amino asidi okside edebilmektedir. *B. canis* ve *B. suis* geniş bir grup karbonhidratı, amino asidi ve üre siklusunu ara ürünlerini okside edebilmektedir (45,48,49).

Brusellanın tanımlanmış bir ekzotoksini yoktur, endotoksini de diğer Gram negatif bakterilerin endotoksinleri kadar toksik değildir. Hücre duvarında bulunan lipopolisakkarid (LPS) tabakanın endotoksin aktivitesi bulunur. Özellikle LPS tabakada yer alan O polisakkarid zinciri bakteri virülansında önemli yer tutar. Sitoplazmik, periplazmik ve dış membran yapısal proteinleri (örn. Omp25) antijenik özellik taşırlar ve bağışıklık sistemi tarafından tanınırlar (6).

Brusella taze sütte 37°C'de birkaç saat, 8 °C'de 48 saat yaşamını idame ettirir. Sütün dondurulması veya krema yapımı bakterinin ölmesine neden olmaz. Süt ve diğer hayvansal proteinlerin kaynatılması (60 °C'de 10 dakika) veya pastörizasyonu bakterinin ölmesine neden olur. Süt ekşimeye başladığında veya peynir laktik asit fermantasyonu ile birlikte olgunlaştığında bakteri ölmektedir. Peynirin 60-90 gün bekletilerek olgunlaşması insanlar için güvenlidir (45).

Brusella kökenleri kuruluğa oldukça dirençlidir. Biyolojik materyellerde özellikle düşük ısıda çok uzun süre canlı kalabilmektedir. Formaldehid, hipoklorür, iodoformlar, fenol gibi dezenfektanlara karşı duyarlıdır. Pastörizasyonla ölümler ancak sterilizasyon süresi bakterinin sayısına bağlı olarak arttırılmalıdır. Antibiyotiklere duyarlılıkları çeşitlidir. Kökenlerin çoğu kloramfenikole, gentamisine, tetrasiklin ve rifampisine duyarlıdır; kotrimoksazole duyarlılık sınırdadır ve rifampisin, ofloksasin gibi antibiyotiklerle kombine kullanıldığında daha fazla etkilidir (45,49,52).

Aktif bruselloz meydana getirebilecek minimum doz brusella türüne ve bulaş yoluna bağlıdır (Tablo 3) (50).

Tablo 3: *B. melitensis* ve *B. abortus*'un oral ve inhalasyon yoluyla aktif bruselloz meydana getirebilecek minimum bakteri sayısı.

TÜR	BAKTERİ SAYISI	
	ORAL	İNHALASYON
<i>B. melitensis</i>	5000	1300
<i>B. abortus</i>	10 ⁶	<100
<i>B. suis</i>	10 ⁷	<100

2.4.PATOGENEZ

Pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile gastrointestinal (GİS) ya da inhalasyon yoluyla vücuda giren mikroorganizmalar, mukozadan penetrasyonu takiben, fagositler içinde ya da serbest olarak bölgesel lenf nodlarına, dalak, karaciğer, kemik iliği gibi diğer retikuloendotelial sistem (RES) organlarına yayılır. Hayvan deneylerinde'nin brusellanın testis, kemik ve tükürük bezi gibi dokulara da afinitesi olduğu gösterilmiştir (51). Bakteri enfekte ettiği dokuda epiteloid hücreler, polimorf nüveli lökositler, lenfositler ve dev hücrelerden oluşan granülomlar meydana getirir. Granülomlar özellikle *B. abortus* için karakteristiktir (52).

Hastalık insan ve hayvanlarda farklı klinik şekillerde ortaya çıkar. İnsanlarda ondulan ateş ve halsizlikle seyreden akut, ya da endokardit, spondilit, menenjit, artrit gibi kronik enfeksiyonlara yol açarken; hayvanlarda esas olarak abortus ya da orşite neden olur. Farelerde ise patojen değildir. Bu gözlemler brusellanın türe spesifik bir mikroorganizma olduğunu, farklı konak immün sistemleri ile farklı etkileşimde bulunduğunu göstermektedir. Karşılaştırmalı genom analizleri de ortaya koymuştur ki, brusella türleri arasında genetik farklılıklar vardır. Bu farklılıklar, konağa adaptasyon sırasında her bir brusella türünün kendine özgün özellikler göstermesine katkıda bulunmaktadır (51).

Brusella bakterilerinin en önemli özelliği, makrofaj içinde uzun süre yaşama ve çoğalma kabiliyetidir. Bunda konak hücresi ile etkileşimi önemli rol oynamaktadır. Konak-patojen ilişkisini, bakterinin hücre içi yaşamını sürdürebilmek için geliştirdiği stratejiler ve konağın savunma mekanizmaları belirlemektedir.

2.4.1.İNTRASELÜLER YAŞAM

Bruselloz patogenezi temel olarak brusellanın konak hücresi içinde canlılığını sürdürme ve çoğalma yeteneğine dayanmaktadır (53). Hastalığın klinik semptomları, konaktaki bakteri replikasyonu ile ilişkilidir. Konakta bakteri sayısındaki artış esas olarak bakterinin öldürme mekanizmalarından kaçabilme ve hücre içinde çoğalabilme kabiliyeti sonucu gerçekleşmektedir. Brusella makrofaj içinde yaşamayı tercih eden fakültatif intraselüler bir patojendir (53). Makrofaj içinde bir taraftan konak savunma mekanizmalarından korunurken, bir taraftan da çoğalabilmesi en önemli özelliğidir. Bu özelliği kronik enfeksiyonların gelişmesine de zemin hazırlar. Kronik

enfeksiyonlar ve relapslar brusellozun tipik özelliklerinden biri olup bakterinin RES’de intrasellüler yerleşimi sonucu ortaya çıkmaktadır (54).

2.4.2.BRUSELLA-KONAK İLİŞKİSİ

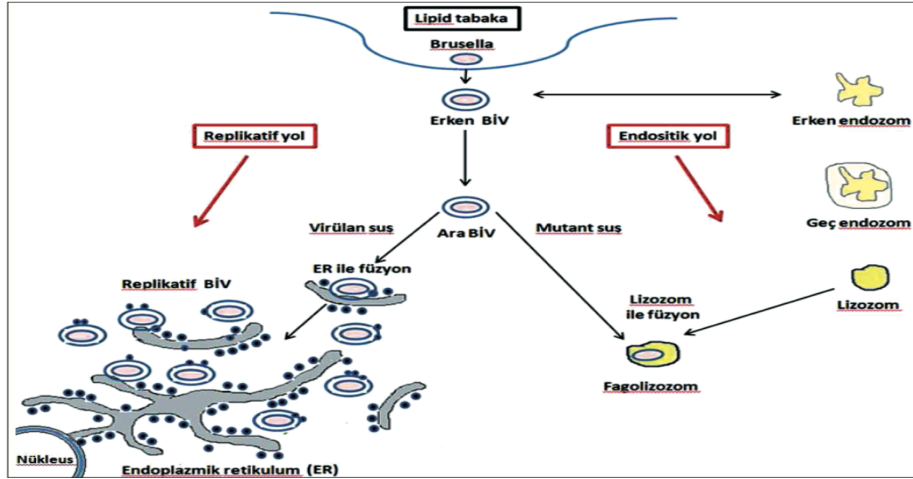
İntrasellüler patojenlerin canlılığını sürdürmesi, çoğalması, yayılması ve spesifik immünitinin oluşmasında belirleyici olan faktör, konak hücresi ile etkileşimidir. *Salmonella*, *Listeria* gibi bazı patojenler için bu etkileşim agresiftir ve makrofajları fizyolojik olarak bloke ederek ortadan kaldırırlar. *Mycobacteria*, *Chlamydia* gibi diğer intrasellüler patojenler ise daha az agresiftir. Makrofajları ya hiç aktive etmezler ya da bakterisidal aktivitelerini ve immün aktivasyonlarını inhibe ederek intrasellüler çoğalma için uygun ortam oluştururlar. Brusellada daha az agresif bakteri grubunda yer alır (53). ile Brusella-konak arasındaki ilişkinin birçok yönü tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (55).

2.4.2.1.BRUSELLANIN MAKROFAJA GİRİŞİ VE REPLİKASYONU

Bakteri makrofaj içine lipid tabakadan girer. Lipid tabaka bozulduğunda ise fagosite edilerek ortadan kaldırılır. Diğer taraftan, bakterinin lipid tabaka ile etkileşime girebilmesi için dış membranında düz (smooth) lipopolisakkarid (LPS) içermesi gerekmektedir. Düz LPS bakteriyi makrofajın bakterisidal etkisinden korur. Kaba (rough) LPS içeren bakteriler ise hızla fagosite edilirler (53).

Brusella lipid tabakadan makrofaj içine girdikten sonra etrafı membranla çevrilerek i brusella içeren vakuol (BİV), oluşur. BİV hücre içinde iki yol izleyebilir. Ya endoplazmik retikulum (ER) giderek orada replike olur ve canlılığını sürdürür, ya da endositik yoldan lizozoma giderek fagosite edilir (Resim 5). Virülen bakteri hücreye girdikten hemen sonra oluşan erken BİV geçici olarak erken endozom ile etkileşime girer ve Rab5 proteini, erken endozomal antijen (EEA1), transferrin reseptörü gibi erken endozomal göstergeleri kazanır. Ancak bu etkileşim çok kısa sürer ve endozomla füzyon oluşmadan, yaklaşık 30 dk. sonra erken endozom göstergeleri kaybolur. Bundan sonraki aşamada BİV hızla lizozom ilişkili membran glikoprotein-1 (lysosomal-associated membrane glycoprotein-1, LAMP-1) göstergesini kazanır, ancak yine endozom ile füzyon gerçekleşmez. Bu nonreplikatif ara BİV’de, LAMP-1 yaklaşık 4 saat kaldıktan sonra kaybolur. Bu şekilde endositik yoldan kaçan virülen bakteri endoplazmik retikulum (ER) ile etkileşime girer. Kalretikülün, kalneksin gibi ER göstergelerini edinen BİV ile ER arasında füzyon gerçekleşir. ER içinde güvenli bir ortamda olan, brusella replikatif BİV’de ER-kökenli organeller üreterek çoğalır. BİV matürasyonunu sağlayamayan avirülen mutantlar ise endositik yoldan kaçamadıkları için ER ile füzyon oluşturmada başarılı olamazlar ve lizozom tarafından parçalanarak yok edilirler (Resim 5 – Resim 6) (53,55,56,57). Virülen suşlarda fagozom-lizozom füzyonunu engelleyen spesifik mekanizmalar henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamış olmakla birlikte, brusella virülans faktörleri arasında yer alan iki komponentli BvrR/BvrS sistemi ve virB tip IV sekresyon sisteminin fagozom-lizozom füzyonunu engellediği gösterilmiştir (57-59). Fagozom içinde toplanan mikroorganizmalar daha sonra diğer konak hücrelerine yayılırlar (51).

Resim 5: Brusellanın makrofaj içine girişi ve replikasyonu



Patogenezi en kritik nokta, brusellanın konağın fagositik mekanizmaları ile nasıl başa çıkarak makrofaj içinde canlı kalabilmeyi başardığının anlaşılmasıdır. Makrofaj fonksiyonları proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptozu başlatma kararını kontrol eden çok sayıda sinyalizasyon yollarına bağlıdır. Bu yolların brusella bakterileri tarafından bozulması sonucu ortaya çıkan değişiklikler, patojenin hücre içinde yaşamasını ve diğer konak hücrelerine yayılmasını kolaylaştırır (51). Bütün bu mekanizmalara rağmen, makrofajlar brusella bakterilerini öldürmede etkili olabilmektedir. Makrofajlara giren virülen *B. abortus* suşlarının ilk birkaç saatte %80-90'ı öldürülmekte, kalan dirençli bakteriler ise makrofaj içinde yaşamaya devam etmektedir (57).

2.4.3.VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

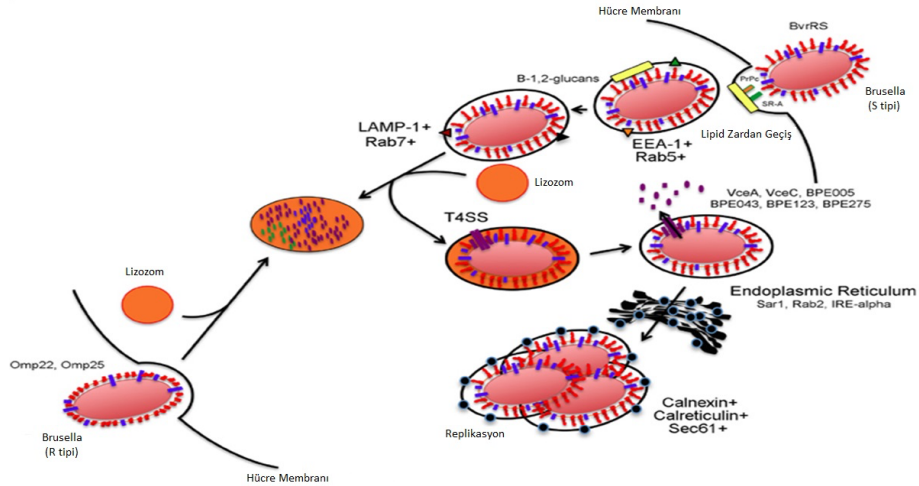
Son yıllarda genetik tekniklerle brusella genomunun incelenebilmesi, moleküler düzeyde brusella virülans faktörlerinin identifikasyonuna imkan tanımıştır. Bakteri genomunun moleküler manipülasyonu ile spesifik ya da random mutantlar üretilerek avirülen fenotipler aranmakta ve bu şekilde virülans genleri saptanmaktadır. Varsayılan virülans genleri delesiya uğratıldıktan sonra hücre dizeleri veya fare modellerinde bakteri virülansındaki azalma tespit edilmektedir (53,55).

2.4.3.1.LİPOPOLİSAKKARİD

Laktoferrin, lizozim, polimiksin B gibi bakterisidal katyonik peptidlere karşı direnci artırır. Makrofajların yıkımına karşı ise oldukça dirençlidir (57,59,53,55). Makrofajda proinflamatuvar ve antibakteriyel cevabı önlemesi nedeniyle LPS brusella virülansında kritik bir rol oynar. Böylece bakterinin makrofaj ile daha az agresif bir yoldan etkileşime girmesini sağlar (53).

Brusellanın düz (smooth) ve kaba (rough) olmak üzere iki fenotipi vardır. Düz fenotipinde LPS bütün olduğu halde kaba fenotipinde O-yan zinciri yoktur (53,56). Vahşi tip (wild-type) brusella suşlarının çoğu düz fenotipindedir. Kaba fenotipindekiler ise mutant suşlardır (Resim 6) (57,59,53,55).

Resim 6: Düz (smooth) ve kaba (rough) brusella fenotiplerinin Hücre içine giriş ve replikasyonu (62).



2.4.3.2. VirB TİP IV SEKRESYON SİSTEMİ (T4SS)

Bakteriyel makromoleküllerin bakteri membranından enfekte hücre sitoplazmasına transferinden sorumlu çok sayıda protein kompleksinden oluşan bir topluluktur (52). Bakteri tarafından iletilen bu makromoleküller enfekte hücrenin ölümüne yol açabildikleri gibi, hücrede sinyal iletiminde karışıklığa da neden olabilirler. On iki genden oluşan virB operonu tarafından kodlanan virB T4SS, brusellanın majör virülans faktörlerinden biridir (53). VirB T4SS, brusella içeren fagozomun ER ile füzyonun gerçekleşmesinde, yani fagozomun matürasyonunda rol almaktadır (59,56). VirB mutantları endositik yolu by-pass edemedikleri için ER'da yer alan replikatif bölgeye ulaşmadan lizozom tarafından parçalanırlar (53,55,57).

2.4.3.3. İKİ KOMPONENTLİ BVRR/BVRS SİSTEMİ

Polimiksin B gibi bakterisidal polikasyonlara direnç, virülans, hücreye invazyon, intrasellüler replikasyon gibi fonksiyonların kontrolünde etkilidir (53,55). Dış membran proteinlerinin (Omps) kompozisyonunun düzenlenmesinde rol oynar (57). Brusella bvrR ve bvrS mutantları daha az invazivdir; hücre içinde replikasyon yetenekleri azalmıştır; lizozomla füzyon oluşturma eğilimleri ise artmıştır. Ayrıca bakterisidal katyonik peptidlere daha fazla duyarlıdırlar (58).

2.4.3.4. SIKLIK β -1,2 GLUKAN

Bir membran proteini olan siklik β -1,2 glukan, cgs geni tarafından kodlanan siklik β (1;2) glukan sentetaz tarafından sentezlenir (53). Konak hücre membranında bulunan lipid tabaka üzerine etki eder ve fagozom-lizozom füzyonunu önler (Şekil 3) (55). Cgs delesyonu olan mutant brusella suşlarında fagozom-lizozom füzyonu gerçekleştiğinden replike olamazlar ve virülanslarını kaybederler (52).

2.4.3.5. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalının oksijen ve hidrojen perokside dönüşümünü katalize eden bir metalloenzimdir. Fe-Mn içeren sitoplazmik SOD, aerobik metabolizma sonucu ortaya çıkan endojen süperoksidi detoksifiye eder. Cu-Zn içeren SOD (sodC) ise katalaz ile birlikte periplazmik bölgede yer alır ve brusellayı konak makrofajlarında oluşan reaktif oksijen elementlerinden korur (55).

2.4.3.6.ADENİN VE GUANİN MONOFOSFAT

Adenin ve guanin monofosfat üretimi, virülansın önemli bir determinantıdır. Bunlar fagolizozom füzyonunu, miyeloperoksidaz-halid sisteminin degranülasyonu ve aktivasyonunu, TNF üretimini inhibe ederek bakteriyi immün sistemden korurlar (53,55).

2.4.3.7.ÜREAZ

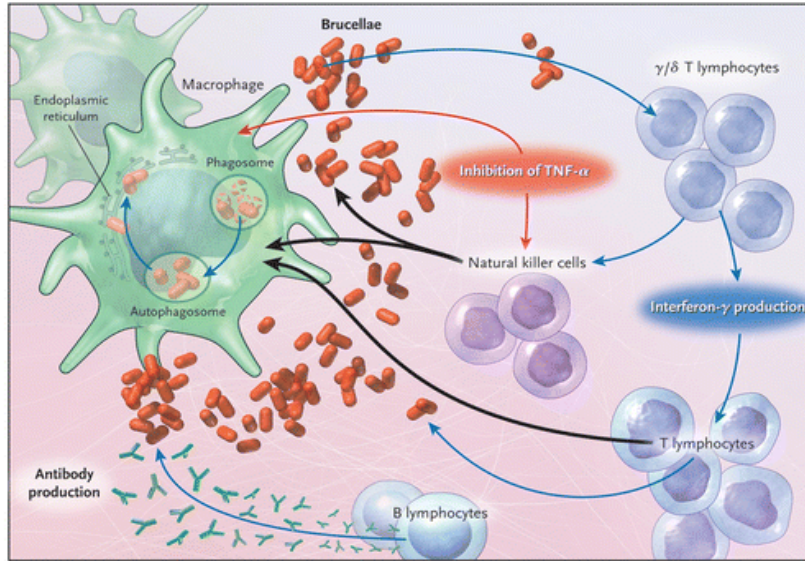
Mideden geçişi sırasında *B. abortus* ve *B. suis* suşlarını koruduğu gösterilmiştir (65). İnsanlarda enfeksiyonun majör bulaş yolunun gastrointestinal sistem olması sebebiyle önemlidir.

Bunların dışında, bakteriyi reaktif oksijen elementlerinin toksik etkisinden koruyan sitokrom oksidaz (cydB), alkil hidroperoksit redüktaz (ahpC/ahpD) ve nitrik oksit detoksifikasyonunu sağlayan nitrik oksit redüktaz (norD) gibi virülans faktörleri de mevcuttur (55).

2.4.4.KONAĞIN İMMÜN YANITI

Bakteri konağa girdiğinde derhal doğal (innate) immün yanıt başlatılır ve makrofajlar harekete geçerek patojeni ortadan kaldırmaya çalışır. Makrofajlar daha sonra immün sistemin diğer hücrelerini uyarır. Bunlar arasında, NK ve T hücreleri hemen yanıt vererek sekonder doğal immün yanıtı başlatır ve patojenin konakta yerleşmesini önlemeye çalışır (Resim 7). B hücreleri ve T hücreleri gibi diğer lenfositlerin ise, daha spesifik ve daha etkili olan adaptif immün yanıtı başlatmak için daha fazla zamana ihtiyaçları vardır ve bu cevabı farklı yollardan (Th1 veya Th2) başlatırlar. Th1 hücreleri interferon gama ve IL-2, Th2 ise IL-4, IL-5 ve IL-10 salgılar. Fare canlı bakteriyi infekte edildiğinde güçlü Th1 yanıtı meydana gelir, ancak bakteri ısı ile öldürülmüş ise, Th2 yanıtı uyarılmaktadır (66). Sitokin üretimindeki fark hayvanların hastalıktan korunması için geliştirilmesi düşünülen aşıda canlı bakteri kullanılmasının nedenini açıklamaktadır (66,67). Adaptif immün yanıt, doğal immün yanıt sırasında verilen sinyallerin etkinliği ile direkt ilişkilidir. Konak immün yanıtı zayıfladığında patojenin replikasyonu hızla artar ve enfeksiyon şiddetlenir (68).

Resim 7: Brusella bakterisine karşı geliştirilen immün yanıt (68).



2.4.4.1.DOĞAL İMMÜN YANIT

Doğal immünte enfeksiyonun erken döneminde gelişen nonspesifik immün yanıtıdır. Brusella

enfeksiyonunda ilk aşamada bakteri sayısını azaltmak ve konakta tip 1 (Th1) spesifik hücrel immün cevabın oluşması için uygun ortamı hazırlamakla görevlidir. Bakteri insan vücuduna girdikten sonra makrofajlar ve nötrofiller tarafından fagosite edilir; ancak, brusella sahip olduğu çeşitli antimikrobiyal direnç mekanizmaları ile enfeksiyonun erken döneminde nötrofil içinde yaşamını sürdürebilmeyi başarır. Benzer şekilde, geliştirdiği savunma mekanizmaları ile makrofajlar tarafından üretilen bakterisidal ajanların zararlı etkilerinden korunur. Böylece makrofajlar aracılığı ile lenfoid dokulara taşınır (55).

2.4.4.2. ADAPTİF İMMÜN YANIT

Brusella enfeksiyonu sırasında konakta gelişen adaptif immün cevap 3 grupta toplanabilir: i) $CD4^+$, $CD8^+$ ve $\gamma\delta$ T hücreleri tarafından indüklenen IFN- γ , makrofajların bakterisidal fonksiyonlarını aktive ederek brusellanın hücre içinde yaşamasını engeller. ii) Sitotoksik $CD8^+$ ve $\gamma\delta$ T hücreleri enfekte makrofajları öldürür. iii) Th1 tipi antikor izotopları (IgG2a ve IgG3) patojeni opsonize ederek fagositozu kolaylaştırır (55).

Enfeksiyonun ilerlemesini önleyen IFN- γ ve IL-2 gibi Th1 tipi sitokinler $CD8^+$ T hücreleri tarafından üretilmektedir (69). $\gamma\delta$ T hücrelerin, brusella kökenli moleküller tarafından direkt olarak aktive edildikleri ve makrofaj içindeki bakterinin çoğalmasını kontrol altına aldıkları ortaya konmuştur (70-72).

Antikorların brusella enfeksiyonuna karşı temel koruyucu rolleri opsonizasyondur. IgG2a ve IgG3 brusellozda tespit edilen dominant antikor izotoplarıdır ve Th1 spesifik hücrel immün yanıtın oluştuğunu gösterirler (72).

2.4.4.3. ANTİKOR OLUŞUMU

Hücre içi yerleşim gösteren bakteri immün sistem tarafından ortadan kaldırılamazsa temasdan 1-3 hafta sonra bakteriyemiyle birlikte RES'de lokalize olur (41,73). LPS ve internal (çoğunlukla sitozolik) proteinlere karşı humoral immün yanıt, genellikle temastan 1-5 hafta sonra (akut ateşli dönemde) saptanmaya başlamaktadır. Bazı olgularda dış membran proteinlerine karşı antikorlar gelişebilmektedir. Ancak bu antikorların koruyucu etkisinin daha az olduğu gösterilmiştir (41,73-76).

Brusellozda S-LPS'ine karşı IgM ilk haftada belirmeye başlar, takiben ikinci haftada IgG ve kısa bir süre sonra da IgA saptanabilir düzeylere ulaşır. Birkaç ay (4 - 8. hafta) içinde IgM ve IgG antikorları tepe noktaya ulaşılır ve antibiyotik tedavisi ile düzeyleri azalır. Spesifik IgM antikor düzeyi hastalığın başlangıcından yaklaşık 3 ay sonra düşmeye başlar; ancak IgM düzeyi ve süresi oldukça değişken olup bazı olgularda aktif enfeksiyon bulgusu olmadan aylarca-yıllarca (\approx 6-24 ay) saptanabilir düzeylerde kalabilir (61-64). IgG düzeyi tedavi edilmemiş olgularda 1 yıldan daha uzun süre yüksek düzeylerde kalmaktadır (70-76).

Tedavi sonunda IgG antikorunda IgM'e göre iyileşme ile uyumlu olarak daha hızlı düşüş görülür. IgG'nin hızlı düşüşü başarılı bir tedavinin göstergesi iken, IgG titresinde düşme olmaması veya tekrar yükselmesi "nüks veya kronik enfeksiyonun" göstergesi olarak kabul edilmektedir (76,82,83). Uygun tedavi ile IgG düzeylerinin 6. aya kadar çok düşük düzeylere indiğine yönelik yayınlara rağmen, son yıllarda yapılan çalışmalarda IgG düzeylerinin çok daha uzun süre saptanabilir düzeylerde (1:160- 320) kaldığını göstermiştir (76,77,80,81).

IgG düzeyinde artma veya sürekli olarak yüksek düzeylerde bulunması relaps olmadan RES'de canlı hücre içi veya diğer enfeksiyon odağında bakterinin (fokal enfeksiyon) varlığını gösteren bir

bulgudur (75-77,80). Kronik hastalıkta IgG, IgA ile birlikte altı aydan uzun süre yüksek kalabilir. Ancak bu kriterler kesin değildir; antikor profili her zaman klinik ile uyumlu olmayabilir ve titreler uzun süre yüksek düzeylerde kalabilir.

2.4.5.BRUSELLANIN KONAK İMMÜN YANITINDAN KAÇIŞ MEKANİZMALARI

Bakteri uzun süre intrasellüler yaşamı sürdürebilmek için konağın savunma mekanizmalarını minimal düzeyde aktive ederek fagositik hücrelerde çoğalır (51). Bunu sağlamak için de çeşitli taktikler geliştirmiştir: i- Makrofaj apoptozunun inhibisyonu, ii- Tip 1 (TH1) spesifik hücrel immün yanıtın baskılanması, iii- TNF- α üretiminde azalma.

2.5.KLİNİK

Bruselloz hayvanlarda abortus ve sterilitte ile seyreden lokalize bir hastalık iken, insanlarda birçok organ veya sistemin tutulduğu, çeşitli klinik tablolar şeklinde görülen, sistemik bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalık klasik olarak; ateş, gece terlemesi, halsizlik, yorgunluk, iştahsızlık, kilo kaybı ve yaygın kas-eklem ağrıları gibi nonspesifik belirti ve bulgularla seyrederek (17,87-89).

Hastalığın klinik seyri; hastalığın evresine, herhangi bir organ ya da sistem tutulumu varlığına, konağın direncine ve yaşına, etken patojenin türüne ve virülansına ve tedavi verilinceye kadar geçen süreye bağlı olarak oldukça değişkendir. Hastalığın inkübasyon süresi genellikle 1-5 hafta olup, 3 aya kadar uzayabilir (90,91). Bruselloz başlangıç semptomları akut-ani veya sessiz-sinsi olabilir. Hastalar hekime; ölüme yola açabilen septisemi benzeri akut belirtilerle, subakut veya fokal odak belirtileri ile veya tüberküloza benzeyen kronik belirtilerle başvurabilir (17,87-89).

Hastalar sabahları kendilerini daha iyi hissederler. Gün içinde gittikçe hastalık semptomları daha belirgin hale gelir ve çoğunluğunda öğleden sonra üşüme titreme ile yükselen ateş gece yarısından sonra bol terleme ile düşer. Bazen 7-10 gün içinde giderek yükselen ateş, yükseldiği gibi yavaş yavaş düşerek normale döner. 3-5 günlük ateşsiz dönemi takiben başlangıçta olduğu gibi ateşin tekrar yükseldiği görülebilir. Tarif edilen bu ateş şekli, bruselloz için tipik ondulan ateş trasesidir. Ancak günümüzde klasik ondulan ateş trasesi nadiren ve önceden antibiyotik tedavisi almayan veya uzun süre tedavisiz kalan hastalarda görülebilir (17,87-89,91).

Klinik tabloyla ilişkisi, tedavi kararı-seçimi ve süresi üzerinde etkisi sınırlı olsa da semptomların süresine göre hastalığın akut (<8 hafta), subakut (8-52 hafta) ve kronik (>1 yıl) şeklindeki klasik sınıflandırılması yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında hastalığın klinik seyir ve şiddetine göre relaps, reenfeksiyon, asemptomatik ya da subklinik, fokal ya da komplikasyonlu seyir şeklinde sınıflandırmaları da kullanılır (17,87-89).

2.5.1.SUBKLİNİK VEYA ASEPTOMATİK BRUSELLOZ

Subklinik veya asemptomatik seyir özellikle mezbaha işçilerinde, çiftçilerde ve veteriner hekimlerde bildirilmiştir. Hastada hastalığın klinik belirti ve bulguları görülmez. Tanı pozitif serolojik testlerle konur. Çocuklarda asemptomatik seyir yetişkinlere göre daha sık görülebilir (17,88,89).

2.5.2.AKUT BRUSELLOZ

Akut bruselloz brusellozun en sık görülen tipik klinik formudur. Akut başlayan ağır seyirli bruselloz, tıpkı bir sepsis tablosu gibi üşüme - titreme ile yükselen intermittant veya remittan ateş ve yaygın vücut ve eklem ağrıları ile kendini gösterir. Hastaların %85'ten fazlasında ateş 38,5 $^{\circ}$ C üzerindedir. Eğer hastalık fokal tutulum bulguları ile başlamışsa tutulan organ veya sisteme ait fizik

muayene bulguları ön planda olabilir (17,88,89).

2.5.3.SUBAKUT BRUSELLOZ

Uygun olmayan antibiyotik tedavisi alan hastalarda sık gözlenir veya hastalık subakut şekilde de başlayabilir. Subakut vakalarda en sık belirtiler; yorgunluk, sinirlilik, baş ve bel ağrısı ile ondulan ateştir. Subakut form ülkemizde olduğu gibi sebebi bilinmeyen ateş olgularında öncelikle akla gelmelidir (17,88,89).

2.5.4.KRONİK BRUSELLOZ

Hastalık 1 yıldan uzun sürdüğü takdirde, hastalığın kronikleştiği kabul edilir. Kronik form, çocuklarda çok nadir görülürken, erişkinlerde ve yaşlılarda daha sık görülür. Kronik vakaların %85'i asemptomatik seyirlidir. Semptomlu vakalarda belirti ve bulgular genellikle nonspesifiktir ve bu yüzden klinik tanı oldukça güçtür. Kronik yorgunluk sendromuna benzer bir klinik tablo ile seyredebilir. Halsizlik, yorgunluk, sinirlilik, uykusuzluk, emosyonel labilite, psikonevrotik şikayetler, belli belirsiz etraf ağrıları ve başağrısı gibi depresyon belirtileri ön plandadır (17,87-89).

Kronik brusellozis brusella bakterilerinin kemik, dalak, karaciğer ve diğer bazı derin dokularda yerleşmesi ve derin dokulardan elimine edilememesi sebebiyle hastalığın karakteristik fokal belirti ve bulgularının tekrarlaması ile oluştuğu düşünülmektedir. Bu tablo kronik lokalize enfeksiyon olarak bilinir. Bazı hastalarda ise tam tersine inatçı nonspesifik semptomlar varken objektif bir bulgu ve yükselen brusella antikor titreleri görülmez ve bu tablo gecikmiş iyileşme/kalıcı hastalık olarak tanımlanır (delayed convalescence). İyileşmedeki bu gecikmenin nedeni tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, enfeksiyonun alevlendirdiği psikonevroz nedeniyle hastaların yakınmalarının devam edebileceği düşünülmektedir (92-94).

2.5.5.RELAPS VEYA REENFEKSİYON

Tedavi sonrası belirti ve bulguların tekrarlaması, yeni patolojik radyolojik görüntüleme bulgularının ortaya çıkması ve yeni kültür pozitifliği olması relaps olarak tanımlanır. Bruselloz olgularının % 5-30'unda relaps görülebilir. Bakterinin intraselüler yerleşim göstermesi, granülomlar ve süperatif odaklardaki devam eden varlığı nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Relaps genellikle 3-6 ay içinde görülür ve iyileşmeyi takip eden akut bruselloz tablosunun yenilemesi şeklinde başlar. IgG tabiatındaki brusella antikor titrelerinde yükselme relaps için tipiktir.

2.5.6.FOKAL TUTULUM VEYA KOMPLİKASYONLAR

Aktif brusellozlu hastalarda herhangi bir anatomik bölge veya organ tutulumu bulguları klinik tabloya hakimse fokal bruselloz, lokalize hastalık veya komplikasyon olarak tanımlanmaktadır. Brusellozda hemen hemen her sistemin fokal tutulum formları ile sıklıkla karşılaşılır. Ancak bunların çok azı ciddi seyirlidir. Literatürde fokal tutulum oranları % 7,7 ile % 43,2 arasında bildirilmektedir (37).

2.5.6.1.İSKELET SİSTEMİ TUTULUMU

Brusellozda osteoartiküler tutulum hastaların % 19 - 69'unda görülmektedir. Klinikte en sık sakroileit, spondilit ve artrit görülür. Ağırılık taşıyan eklemlerde (Kalça, diz, ayak bileği vb) tutulum küçük eklemlere göre daha fazladır (17,87-89,95). Spondilit genellikle yaşlı erkeklerde ve lomber bölgede görülürken, sakroileit her iki cins ve yaşta ancak daha sık gençlerde görülür (91,96,97).

Artralji, bazen tek başvuru bulgusu olarak görülebilen en sık şikayetlerden biridir (% 85) ve en çok diz, ayak bileği ve omuz eklemlerinde görülür. Bazen çok şiddetli olabilirler, bununla beraber radyolojik bulgu vermezler ve sekel bırakmadan düzelirler. Bunun yanında bruselloz, periferik eklemlerde reaktif artrite de neden olabilir. Ayak bileği, el bileği, dirsek ve aynı anda her iki diz eklemi en çok tutulan eklemlerdir (88).

Sakroiliak tutulumu olana hastalar sıklıkla genel bruselloz bulguları ile birlikte ayağa yayılan ve ayağa kalkmayı yürümeyi zorlaştıran bel-kalça ağrısı ile başvururlar. Sakroileitte destrüksiyon görülmesi nadirdir, tedaviye iyi cevap verir ve sıklıkla kalıcı hasar bırakmadan iyileşir (95,96).

Direkt grafide patolojik radyolojik bulgularının görülmesi 3 ay kadar gecikebilirken, Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve kemik sintigrafisi erken tanı açısından yardımcı olabilir. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ise tanı ve ayırıcı tanıda ve tedavi takibinde en hassas görüntüleme yöntemidir (17,87-89,98).

2.5.6.2.CİLT BULGULARI

Bruselloz vakalarının yaklaşık %5'inde deri belirtileri ortaya çıkar. Bunlar nonspesifik olup; eritem, papül, ürtiker, peteşi, impetigo, ekzematöz raş, eritema nodosum, derialtı apseleri, rubeoliform raş ve kutanöz vaskülitir (17,87-89). Cilt bulguları, hastalığın yüksek ateşle seyrettiği toksik dönemde görülebildiği gibi, düşük yapan hayvanların plasentasını çıkartmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının temas yerlerinde, eller ve ön kollarında kontakt dermatit şeklinde de görülebilir. (99,100).

2.5.6.3.HEMATOLOJİK KOMPLİKASYONLAR

Brusellozda hematolojik değişiklikler sık görülmekle birlikte, gerçek hematolojik komplikasyonlar nadir görülür, ılımlıdır ve tedavi ile düzelir. Bruselloz tanısında kullanılabilecek özgün hematolojik bir bulgu yoktur. Anemi, lökopeni, rölatif lenfositoz ve trombositopeni en sık görülen hematolojik değişikliklerdir (17,87-89,101,102). Seyrek olarak mikroanjyopatik hemolitik anemi, Dissemine İntravasküler Koagülasyon (DİC), akut hemoliz ve hemofagositik sendrom bildirilmiştir. Brusellozdan ölüm sebepleri arasında trombositopenik purpura, endokardit ile beraber ilk sırada yer almaktadır (91,101-104).

Splenomegali vakaların yarısından fazlasında görülür ve vakaların çoğunluğunda hepatomegali ile birlikte görülür. Splenomegali, hepatomegali gibi akut vakalarda daha sık görülürken, kronik vakalarda daha az görülür (88).

2.5.6.4.KARDİYOVASKÜLER TUTULUM

Kardiak komplikasyonlar; endokardit, miyokardit, perikardit, aort kökü apsisi, mikotik anevrizmalar, pulmoner emboli ve derin ven trombozudur (17,87-89,103). Endokardit en sık görülen kardiak tutulum şekli olup, bruselloz olgularının %2'sinden azında görülmesine rağmen bruselloza bağlı ölümlerin önemli kısmını (%80) oluşturur (17,87-89,105). Doğal kalp kapakları tutulduğu gibi protez kapakları da tutabilir (17,87-89,105,106).

Brusella endokardit kapak yapıları üzerinde ciddi destrüksiyona neden olur. Genellikle kombine medikal ve cerrahi tedavi gerekir (107).

2.5.6.5.SOLUNUM SİSTEMİ TUTULUMU

Brusellozda solunum sistemi tutulumu oldukça nadir görülür. Daha çok kontamine aerosollerin

inhalasyonu veya bakterilerin akciğerlere bakteriyemi ile yayılımı sonunda görülebilir. Brusellozlu hastaların %15-25'inde solunum sistemi ile ilgili şikayetler olmasına rağmen, pnömoni olguların ancak %0,5-1'inde görülür (17,87-89,108).

2.5.6.6.GENİTOÜRİNER SİSTEM TUTULUMU

Ürogenital sistemin fokal tutulumu %2-10 oranında görülürken, epididimiorşit, erkek bruselloz hastalarında %2-20 oranında görülen en sık genitoüriner sistem tutulumudur. Epididimoorşit genellikle unilateral, nadiren bilateral görülebilir. Vakaların çoğu tedaviyle sekelsiz iyileşir (109-111).

2.5.6.7.GEBELİK VE EMZİRME

Brusella bakterileri insan plasentas ve fetüsten izole edilmiş ve insan koryoamniyotik dokularının gebelik sırasında enfekte olabildiği gösterilmiştir (17,87-89). Bu sebeple brusellozun insanlarda prematür veya ölü doğumlara neden olabildiğini, spontan abortus oranlarında artışa neden olduğunu ve tedavinin fetüsün hayatının korunması açısından önemli olduğunu bildiren çalışmalar vardır (112,113). Kurtoğlu ve ark. 29 gebe hastada yaptıkları çalışmada spontan abortus oranını %24,14 olarak bildirmişler ve erken veya ölü doğumdan çok spontan abortus oranlarının gebe brusellozunda yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (113). Anneden bebeğe vertikal geçiş veya anne sütü ile bulaş için sınırlı sayıda bildirimler mevcuttur. Ancak bu bulaş yolları ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (114,115).

2.5.6.8.GASTROİNTESTİNAL SİSTEM TUTULUMU

İştahsızlık, karın ağrısı, bulantı, kusma, kabızlık veya ishal gibi gastrointestinal şikayetler bruselloz hastalarının %70'inde görülür (17,87-89). Peyer plaklarının enflamasyonu sonucu barsak mukozasında hiperemi olduğu rapor edilmiştir. *B. melitensis* ile meydana gelen kolitli hastalarda ileum enflamasyonu radyografik ve histolojik olarak gösterilmiştir (116).

2.5.6.9.HEPATOBİLİYER SİSTEM TUTULUMU

Brusella bakterisi intrasellüler bir bakteri olduğu için ve retikuloendotelial sistemi tuttuğu için brusellozda karaciğer (KC) tutulumu yaygındır. Farklı tanımlamalar olmakla birlikte KC lojunda ağrı, KC enzimlerinde ciddi artış ve belirgin sarılık varlığında gerçek KC tulumundan bahsetmek daha doğru olacaktır (87,88,91).

Brusella hepatitinin en sık görülen şekli granülomatöz hepatittir (87,88). Nadiren KC parankiminde mononükleer hücrelerin bir araya gelerek oluşturduğu hepatoselüler nekroz alanları, epitelooid granülomlar ve bruselloma olarak da tanımlanan granülomatöz lezyonlar bruselloz endemik bölgelerde daha sık görülür (17,87-89). Karaciğerde viral hepatit veya alkolizm gibi ek patolojiler yoksa enflamasyon şiddetli olsa bile hepatik lezyonlar siroza ilerlemez ve antimikrobiyal tedavi ile düzelir (117).

2.5.6.10.NÖROLOJİK TUTULUM

Brusellozda depresyon ve dikkat kaybı sık görülen bulgulardan olmasına rağmen, SSS'nin direkt invazyonu olguların sadece %5'inde görülür ve genellikle menenjit ya da meningoensefalit şeklindedir. Nörobrusellozda görülen diğer klinik tablolar; ensefalit, miyelit, radikulo-nörit, beyin apsesi, epidural apse, demiyelizan tablolar ve meningovasküler sendromları kapsar (17,87-89,113).

Brusella menenjit ve meningoensefaliti vakaları akut veya kronik menenjit bulguları ile başvurabilir, hatta multipl skleroz ile benzer bulgularla seyredebilir. Klinik tablo tipik olmadığı için diğer menenjitlerden ayırt edilmeleri zordur. Ancak vakaların yarısından daha azında ense sertliği olması dikkat çekicidir (17,87-89,113,114).

BOS'ta mikroorganizmanın üretilmesi olguların 1/4'ünde mümkün ise de, vakaların çoğunda etken üretilmez ve gram boyaması genellikle negatiftir. BOS'ta spesifik antikorlarının bulunması veya polimeraz zincirleme reaksiyonu ile etkenin nükleik asidinin gösterilmesi tanı için yeterlidir (17,87-89). Uygun tedavi edilen nörobrusellozun prognozu iyidir, ancak ciddi sekeller de bildirilmiştir. (17,87-89,154).

2.5.6.11.GÖZ VE KULAK TUTULUMU

Bruselloz gözün tüm tabakalarını çeşitli şekillerde tutabilir (17,87-89,121). Üveit en sık görülen brusellozun geç komplikasyonudur. Brusellozlu hastalarda görülebilen üveal hasar fizyopatolojisinde de non-enfeksiyöz immünreaksiyon sonucunda sirküle immün komplekslerin rolü vardır ve topikal sistemik steroid tedavisine cevap verir. Optik nörite bağlı kalıcı görme kaybı nadirdir (121,122).

Brusellozda işitme kaybı gelişebilir. Buna bakterinin endotoksinin neden olduğu refleks spazmın veya serebral enflamasyonun yol açtığı düşünülmektedir. Ancak kalıcı sağırılık nadirdir ve işitme kaybı genellikle tedavi ile düzelir (123).

2.5.6.12.NADİR TUTULUMLAR

Bruselloz seyrinde tiroit apsesi, adrenal yetmezlik ve uygunsuz antidiüretik hormon salınımı sendromu gibi endokrinolojik tutulumlar görülebilir. Ayrıca hipofiz apsesi ve buna bağlı hipopitüarizm bildirilmiştir. Akut sol fasial sinir paralizi, trombositopenik purpura, hidrosel, Stevens-Johnson sendromu, üriner sistem enfeksiyonları, spontan bakteriyel peritonit, pankreatit, kolesistit, perikardit, meme apsesi ve akut batın tablosu gibi atipik tutulumlar da bildirilmiştir (17,37,87-89,124).

2.6.MİKROBİYOLOJİK TANI

Bruselloz tanısı, anamnez, klinik bulgular, brusella-spesifik testlere dayanılarak konulan bir hastalıktır (74). İnsan bruselloz tanısında kullanılan mikrobiyolojik yöntemler iki ana grupta değerlendirilebilir (Tablo 4) (73,125).

Enfeksiyon esnasında immün sistem tarafından tanınan protein yapısındaki antijenler (sitoplazmik, periplazmik ve dış membran proteinleri-OMPs) serolojik tanıda kullanılabilir. S ve R suşlarda brusella çözülebilir fraksiyonlarındaki sitoplazmik proteinler en önemli antijenik bileşenlerdir. Bu proteinler ile diğer yapısal proteinler ve Gram Negatif Bakteriler (GNB) arasında çapraz reaksiyonlar görülmemiştir (73,125,126). Hümorale immün yanıtı uyaran bu proteinler, gecikmiş tip hipersensitivitede rol oynamaktadır. Etkene karşı hümorale ve hücrele immün yanıtı geliştirebilen ribozomal proteinler (örn. L7/L12) ile füzyon proteinleri brusella aşılı için potansiyel moleküller olarak kabul edilmektedir (22,74,126-128).

R koloniye sahip türler (*B. canis* ve *B. ovis*) ve R- tipi suşlarda OPS zinciri bulunmaması nedeniyle aglütinasyon reaksiyonları için antijenik özellik göstermezler. *B. canis*'e karşı gelişen antikorların araştırılmasında R-LPS yapısından hazırlanmış antijenler kullanılmaktadır (41,73,74,125).

S-tipi koloni oluşturan brusella türlerinin OPS yan zincirindeki N-acil-D-perozamin bölgesinin *Francisella hermanni*, *Salmonella urbana* N:30, *Vibrio cholerae* O:1, *Yersinia enterocolitica* O:9, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Afiptia clevandensis*'in yüzey antijenleriyle benzerlik göstermektedir. Bu yapısal benzerlik serolojik testlerde çapraz reaksiyonlara neden olmaktadır (22,42,73,125).

Tablo 4: İnsan bruselloz tanısında kullanılan yöntemler (73,125).

DİREKT TANI YÖNTEMLERİ	İNDİREKT TANI YÖNTEMLERİ
A-Mikroskopik inceleme	A-Serolojik tanı
B-Kültür	1-Konvansiyonel testler
C-Moleküler yöntemler	a) Hızlı aglütinasyon testleri (Tarama)
	b) Yavaş aglütinasyon testleri
	I-Tüp aglütinasyon testi
	II-Redüktan-merkaptan testler
	III-İndirekt Coombs testi
	IV-İmmuncapture aglütinasyon test
	2-Birincil bağlanma testleri
	a) Enzyme immunosorbent assay (EIA)
	b) Radio immune assay (RIA)
	c) İndirekt immün floresan antikor testi (IFA)
	d) Immunochromotographic assay (Lateral flow Assay - LFA)
	e) Floresan polarizasyon assay (FPA)
	f) Kompleman birleşme testi (KBT) ve presipitasyon testleri

2.6.1.DİREKT TANISAL YÖNTEMLER

2.6.1.1.DİREKT MİKROSKOBİK İNCELEME

Direkt mikroskopik inceleme duyarlılığının ve özgüllüğün düşük olması nedeniyle önerilmemektedir (41,42). Florokrom veya peroksidaz ile işaretli antikorların kullanıldığı yöntemler Gram preparata göre daha duyarlı olmasına rağmen, reagenlerin pahalı olması ve ileri laboratuvar alt yapısı gerektirmesi nedeniyle kullanım alanı bulamamıştır (42,129,131).

2.6.1.2.BRUSELLOZ TANISINDA KÜLTÜR

Brusellozun kesin tanısı klinik örneklerden bakterinin izolasyonu ile konulur (Altın standart)

(73,74). *Brucella spp.* hastalığın evresine ve tutulum yerine göre vücut sıvılarından ve doku biyopsi örneklerden izole edilebilir. Ancak, bruselloz esas olarak retikuloendotelial sistemi (RES) tutan bir enfeksiyon olduğu için kan ve kemik iliği kültür için tercih edilecek klinik örneklerdir. Kan kültürü, protokolünün standardize edilmiş olması, diğer örneklerle göre daha kolay alınması, tekrar edilebilirliğinin yüksek olması ve günümüzde otomatize kan kültür sistemlerinin varlığı nedeniyle en çok tercih edilen yöntemdir.

Bakterinin izolasyon oranı; hastalığın evresine, önceki antibiyotik kullanımına, alınan klinik örneğin türüne ve miktarına, uygulanan kültür yöntemine ve bakterinin türüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Brusellozlu hastalarda kandaki bakteri düzeyinin düşük ve bakteriyeminin kısa süreli olması nedeniyle etkenin izolasyonu büyük oranda alınacak örneğin toplam miktarına / hacimine ve alınma zamanına bağlıdır.

Akut brusellozlu veya fokal komplikasyonları olan hastalarda çok sayıda örnek alınması izolasyon şansını artırmaktadır (132-134). İki haftadan daha kısa süreli semptomlar ile başvuran olgularda izolasyon oranları çok daha yüksek olarak bulunmuştur (135).

Genel olarak akut brusellozda kan kültürünün duyarlılığı % 80-90 arasında iken, kronik olgularda kullanılan tekniğe göre pozitiflik oranı % 30-70 arasında değişmektedir (136,137). Ateşi olan hastalarda kan kültür pozitifliği yüzde %86,5 gibi yüksek oranlara ulaşırken, düşük ateş veya ateşsiz hastalarda, kültür pozitifliği sırasıyla %75 ve %28,5 olarak saptanmıştır (41,73,138,139).

Kan kültüründe etkenin üretilmediği ve serolojik testlerle tanının konulamadığı durumlarda özellikle kemik iliği olmak üzere diğer doku kültürlerinin yapılması önerilmektedir (41,43). Bakterinin kanda az miktarda ve intermittant olarak bulunması ve RES (kemik iliği, lenf nodu, karaciğer ve dalak) fagositler içerisinde daha yoğun bakteri varlığı nedeniyle kültür için doku/organ biyopsi örnekleri alınabilir. Kemik iliği kültürlerinde kan kültürlerine göre %15-20 daha yüksek oranda pozitiflik saptanmıştır (132,173). Antibiyotik kullanan olgularda da kemik iliği kültürünün kan kültürüne göre daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu kanıtlanmıştır (141).

Kan örneğine göre kemik iliğinin alınmasının invaziv bir işlem olması ve serolojik tanı olanaklarının varlığı nedeniyle kemik iliği kültürü rutin olarak uygulanacak bir yöntem değildir (141,142).

2.6.1.3.MOLEKÜLER TANI YÖNTEMLERİ

Kültürün dezavantajları nedeniyle bruselloz tanısında PCR 1990 yılında kullanılmaya başlanmıştır (143). Son yıllarda moleküler tanı yöntemlerindeki ilerleme ile PCR, brusellozun tanısında duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı, kolay uygulanabilen ve düşük maliyetli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (74,138,139,143).

Konvansiyonel ve real-time (RT-PCR) polimeraz zincirleme reaksiyonu (PCR); I- Klinik ve çevresel örneklerden etkenin direkt olarak gösterilmesi, II- Tedaviye yanıt ve prognozun takibinde, III- Hastalığın aktif ve inaktif ayırımında, IV- Relapsların erken tanımlanmasında, V- Aşıya bağlı gelişen enfeksiyonların tanımlanmasında, VI- Moleküler tiplendirme, VII- Antibiyotik direnç geni araştırılması gibi oldukça farklı amaçlarla kullanılmaktadır.

Brusellozun moleküler tanısında brusella genusu içerisinde farklı hedef bölgeler seçilmiştir. Brusella cell surface salt-extractable protein 31 (bcsp31) kodlayan gen bölgesi için (B4/B5), 16SrRNA (F4/R2), 16s-23S, 16S-23S rDNA (ITS66/ITS279), IS711 (IS313/IS639), (bruc1/bruc5), dış membran protein: omp-2 (JPF/ JPR), dış membran proteinleri (omp 2b, omp2a

and omp31), omp25/omp31 protein ailesi ve arbitrary primerler genus düzeyinde tanımlama için kullanılan hedef bölgeler ve primerlerdir (143-145,147).

Moleküler testlerin duyarlılık ve özgüllüğü seçilen hedef bölge ve kullanılan primer çiftlerine göre oldukça değişkenlik göstermektedir. *B. ovis* dışındaki tüm *Brucella spp.* ve biyovarlarında korunmuş olan 31- kDa *B. abortus* proteini (bcsp31) kodlayan gen bölgesinin B4/B5 primerleri ile çoğaltılması günümüzde insan bruselloz tanısında en sık kullanılan PCR yöntemidir (143,145,146,148). İnsan genomik DNA'sının varlığı seçilen hedef bölge/kullanılan primer dizilerine bağlı olarak testin duyarlılığını etkilemektedir. F4/R2 ve B4/B5 primerleri ile yapılan PCR analizi genomik DNA varlığından etkilenirken, JPF/JPR primerlerinin kullanıldığı PCR analizinde duyarlılıkta bir azalma gözlenmemiştir (144). Ancak, F4/R2 primerlerinin kullanıldığı PCR yöntemi genomik DNA varlığından etkilenmesine rağmen insan DNA varlığında bile en duyarlı PCR yöntem olarak saptanmıştır (144). 16S rRNA kullanılarak yapılan PCR çalışmalarında *Ochrobacterum anthropi* biyotip D ile brusella türleri arasında çok yakın ilişki (yalancı pozitiflik) olduğu belirlenmiştir (143-145). Son yıllarda ribosomal ITSr gibi yeni hedef bölgelerin klinik, parafinize doku ve kültürden doğrulama amacıyla oldukça uygun bölgeler olduğu bildirilmiştir (149).

Seçilecek uygun PCR yöntemi dışında moleküler tanı yönteminin duyarlılığı temel olarak hastalığın evresine, DNA ekstraksiyon işlemine (yetersiz ekstraksiyon), yüksek miktarda bakteriyel DNA'nın bulunmasına, yabancı DNA varlığına, ortamdaki inhibitörlere, PCR bileşenlerine ve test parametrelerine bağlıdır. PCR'in 10 fg bakteriyel DNA'yı saptama kapasitesi yöntemin yüksek duyarlılığa sahip olmasını sağlamaktadır. Moleküler yöntemdeki primer ve/veya prob dizaynı ile testte kullanılan reagenlerin düzeyleri özgüllüğü etkileyen ana faktörlerdir (143,144).

Yapılan çalışmalarda bruselloz tanısında PCR'in duyarlılığı kültür ve serolojik yöntemlerden daha yüksektir (139,143,144,149,150). Günümüzde mevcut olan en yüksek duyarlılığa rağmen, negatif PCR sonucu hastalığın varlığını ekarte ettirmez. Kanda, bakteriyemi geçici olabilir ve diğer vücut sıvılarında örnek alındığı zaman analiz için yeterli miktarda bakteri bulunmayabilir. Diğer taraftan, PCR pozitifliği DNA'yı saptaması nedeniyle canlı ve ölü bakteri ayırımını yapamaz, bu nedenle pozitif sonuç her zaman aktif hastalığın bir kanıtı değildir (138,143-145).

PCR testi mutlaka klinik tablo ve yöntemin teknik sınırlamalarının ışığında yorumlanmalıdır. Son zamanlarda yeterli antibiyotik tedavisi almış bir hastanın klinik örneğindeki PCR pozitifliği ikinci kez tedavinin verilmesi için bir kanıt değildir. Ancak, olguda yakınmalar devam ediyorsa tedavi gündeme gelebilir. Diğer yandan, tedavi almamış bir olgudaki pozitif PCR sonucunda muhtemelen tedavi endikasyonu vardır (143,144,151).

Moleküler yöntemlerin bruselloz tanısındaki önemli potansiyeline rağmen, klinik örneklerde rutin kullanıma girmeden önce, sonuçların tutarlılığı ve güvenilirliği açısından (duyarlılık ve özgüllük, kalite kontrol ve güvence konularında) standardizasyon ve optimizasyonunun sağlanması gereklidir (143,144,149).

2.6.2.İNDİREKT TANISAL YÖNTEMLER

2.6.2.1.BRUSELLOZ TANISINDA SEROLOJİK TESTLER

Brusellozun serolojik tanısı ilk kez 1897 yılında Wright ve Smith tarafından tüp aglütinasyon testi ile konulmuştur (41,73). Sonraki yıllarda serolojik tanının doğruluğunu artırmak için tüp aglütinasyon testinin çeşitli modifikasyonları ve yeni testler geliştirilmiştir. Brusellozun serolojik tanı uygulamaları iki ana bölümde incelenebilir: "konvansiyonel testler" ve "birincil bağlanma

testleri". Konvansiyonel testlerde antijen antikor birleşmesi direkt olarak değerlendirilirken, birincil bağlanma testleri oluşan immün kompleksin 'işaretleyici' bir molekül ile saptanmasına dayanmaktadır (125).

Bruselloz serolojik tanısındaki yavaş aglütinasyon testleri 8-24 saatlik inkübasyona ihtiyaç duyan testlerdir. Temel olarak standart/serum aglütinasyon testi ve onun Ig izotiplerini ve blokan antikorları saptayabilmek amacıyla geliştirilen modifikasyonlarını içermektedir. Hızlı aglütinasyon testleri dakikalar içerisinde aglütinasyon sonuçlarının alınabildiği, renkli antijenlerin kullanıldığı testleri kapsamaktadır. İnsan brusellozunun tanısında Standart Wright testi (SWT), Rose Bengal testi (RBT), Coombs' testi (CT veya anti-human globulin-AHG) ve ELISA en fazla kullanılan serolojik testlerdir (41,73-75).

2.6.2.2.HIZLI AGLÜTİNASYON TESTLERİ

Hızlı aglütinasyon testleri, tüp aglütinasyon test antijenlerinin düşük asidite de hazırlanmış bir antijenik modifikasyonudur. Günümüzde tamponlanmış antijen kard test (Buffered Antigen Plate Agglutination test-BPAT) ve Rose Bengal testi (RBT) endemik bölgelerde insan brusellozunun tanısını da tarama testi olarak kullanılmaktadır. Hızlı aglütinasyon testlerinde *B.abortus* S 99 veya S 1119-3 suşlarından hazırlanan antijenler kullanılmaktadır.

Asidik ortam IgM'in aglütinasyon kapasitesini azaltırken, IgG'in (ve ayrıca blokan IgA antikorlarında) reaksiyona katılmasını artırmaktadır. Diğer bakterilerle görülen çapraz reaksiyonlar IgM'e bağlı olduğu için asidik ortam, IgM'e bağlı çapraz reaksiyonların (yalancı pozitifliklerin) azaltılmasına, böylece testin duyarlılığını artırarak ideal bir tarama testi olmasını sağlamaktadır. Ancak, hızlı aglütinasyon testleriyle alınan pozitif sonuçların SWT ve ELISA gibi daha özgül yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir (75,76,154,155).

Testin inkübasyon süresinin uzatılmasıyla fibrin pıhtılarının oluşması nedeniyle yalancı pozitif sonuçlara neden olabileceği unutulmamalıdır. RB testinde *Yersinia enterocolitica* 0:9 ile çapraz reaksiyonlar alınmasına rağmen, *F. tularensis* veya kolera aşısı yapılarında çapraz reaksiyonlar görülmemektedir (73-75). Özellikle RB testinde olmak üzere hızlı aglütinasyon testlerinde yüksek düzeyde antikor varlığına bağlı (prozon fenomeni) ve kullanılan antijene bağlı olarak yalancı negatif sonuçlar alınabilir. Örneğin beş ticari RB kitinin karşılaştırıldığı bir çalışmada aynı örneklerde RB testinin duyarlılığının %96-100 arasında değiştiği bildirilmiştir (73).

Aktif brusellozlu olgularda yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre RB testinin duyarlılığı ve özgüllüğü %75-100 arasında değişmektedir (75,156,157). Ancak, kronik ve komplike olgularda testin duyarlılığı (yüksek yalancı negatiflik) oldukça düşüktür (%33-50) (155,156). Hızlı aglütinasyon testlerinde bazen daha uzun inkübasyon süresine ihtiyaç olabilir. Blokan antikorlar veya prozon yoksa < 4 dakika içerisinde test pozitifleşirken, yüksek titrede non-aglütinan antikor varlığında (Yüksek CT titresi) aglütinasyonun gelişmesi 8 dakikaya uzayabilmektedir. Kronik olgulardaki blokan antikor varlığı, kullanılan test protokülüne bağlı olarak yalancı negatifliğe ve sonuçta RB duyarlılığın düşmesinde bir faktör olarak görülmektedir (73,155).

2.6.2.3.BRUSSELLA TÜP AGLÜTİNASYON TESTİ

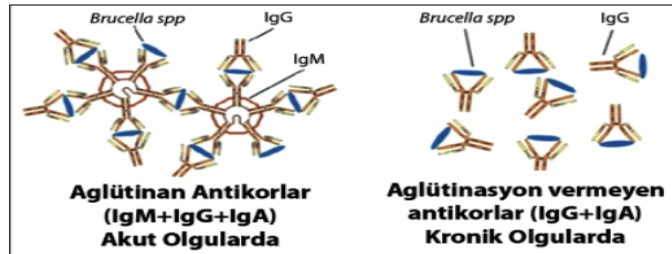
Günümüzde insan bruselloz serolojisinde en sık kullanılan ve referans olarak kabul edilen yöntemdir (74,75,130). Antijen olarak *B. abortus* S kökenlerinin (*B. abortus* S 99 veya S 1119-3) ısı ile öldürülmüş fenollü süspansiyonları kullanılmaktadır (pH=7.2-7.4) (75,130). Serum aglütinasyon testinde, bakterinin yüzeyindeki özellikle S-LPS ile reaksiyona giren IgM, IgG ve IgA antikorları (aglütininler) saptanmaktadır. Ancak, testin nötr yakın bir pH gerçekleşmesi nedeniyle

IgM antikorlarını daha fazla saptamaktadır. IgM'in pentamer yapısı aglütinasyon reaksiyonunda daha iyi kafes formasyonun oluşmasına yol açarak tüp aglütinasyon testlerindeki duyarlılığının temel olarak IgG tipi antikorları saptayan RB'e göre daha yüksek olmasına neden olmaktadır (75,88,89). IgM antikorları nedeniyle gelişen çapraz reaksiyonlar (yalancı pozitiflik) SWT'inde özgüllükle ilgili en önemli sorundur (75,76,82,125).

Bruselloz şüphesinde SWT'inde negatiflik saptandığında; spesifik antikorların gelişmemesi (enfeksiyonun çok erken dönemi veya agammaglobulinemi), blokan (aglütinasyon vermeyen, inkomplet) antikorların varlığı veya prozon fenomeni söz konusu olabilir. Erken/bakteriyemik dönemde SWT titreleri <1:160 olarak bulunabilir (136,158).

Blokan antikorlar, daha çok kronik olgularda rastlanan, spesifik olarak antijene bağlanabilmesine rağmen aglütinasyona yol açmayan IgG (IgG₁ ve IgG₂) ve IgA yapısındaki antikorlardır (Resim 8). Aglütinasyon görülmemesi; Mentеше bölgesinin çok esnek olması nedeniyle iki veya daha fazla epitopa optimal çapraz bağlanmayı sağlayacak açıyı verememelerine veya antijen molekülünde epitoplara yüzeyden çok derin kısımlarda yer alması ya da epitop dağılımının düzenli olmamasının antikorların bağlanmasını zorlaştırmasına bağlı olduğu öne sürülmüştür. Brusellozlu hastaların serumundaki blokan antikorlar sıklığı % 0.47 - 6 arasında bulunmuştur (82,158). Serumdaki blokan antikorların varlığı bir aglütinasyon testi olan Coombs' testi (CT veya AHG) veya Brucella-capt testi ile gösterilebilir. Anti-insan globulin IgG (Coombs' reajeni) eklenmesi veya mekanik (yüksek devirde santrifügasyon) işlem sonrasında blokan antikorların bağlanması indüklenebilir (75,76,82). Serum örneğinde blokan antikorlar SWT'inde prozon olarak karşımıza çıkmaktadır.

Resim 8: Brusellozda oluşan aglütinan ve blokan antikorlar



Prozon fenomeni, hasta serumunda antikor fazlalığı nedeniyle düşük sulandırımelerde aglütinasyonun görülmemesi/maskelenmesi olarak tanımlanır (41,73,125,173). Antikor fazlalığı zonu, aşırı miktarda antikor varlığında tek bir antikor molekülünün farklı antijenlerdeki epitoplara bağlanmak yerine tek bir antijendeki bir veya daha fazla epitopa bağlanmasıyla açıklanmaktadır (73,75,82). Prozon fenomeni özellikle subakut ve kronik olgularda olmak üzere akut evrede de görülebilir. Genel olarak, bruselloz serolojisinde prozon fenomeninin yaklaşık % 1,5 - 6 oranında ve sıklıkla düşük titrede ($\leq 1:20$), nadiren de $>1:80$ dilüsyonlarda rastlanabileceği bildirilmiştir (73,82). Çoğunlukla düşük titrelerde ($\leq 1:20$) görülmesi nedeniyle bruselloz tanısında pratik önemi azdır (73,82). Prozon fenomenin SWT'da düşük serum dilüsyonlarında saptandığı için, dilüsyonlar artırıldıkça SWT testi pozitifleşmektedir. Bu amaçla genellikle 4 dilüsyon (1:20-160) aralığında SWT çalışan klinik laboratuvarlarda prozon fenomenini engellemek amacıyla serum dilüsyonları artırılmalıdır (73,75,82).

SWT testinin yoğun emek ve zaman alıcı olması rutin çalışmalarda çok fazla sayıdaki örneğin çalışılmasını zorlaştırmaktadır. Ayrıca saha çalışmaları için uygun değildir. SWT ile aglütininer (IgM, IgG ve IgA) saptanırken, immünglobulin izotipleri belirlenmediği için hastalığın evrelendirilmesi yapılamamaktadır. Immünglobülin izotipleri, redüktan test veya ELISA gibi

yöntemlerle saptanabilir (75,76,125).

SWT düşük özgüllük, kısmen diğer bakteriler ve *V. cholerae* aşısı uygulanması sonucunda gelişen çapraz reaksiyona bağlıdır. *V. cholerae* aşısı veya enfeksiyonuna bağlı 1:160 titreye kadar ulaşabilen SWT titreleri elde edilebilir (41,75,76,130). Çapraz reaksiyonlardan primer olarak IgM antikolar sorumludur. Özgüllüğü azaltan bir diğer önemli faktör ise IgM romatoid faktör (IgG'nin Fc kısmına karşı gelişen antikor) aktivitesidir. RF varlığında oluşan immün kompleks yalnızca pozitifliğe neden olacaktır. Testin pH'ı düşürülerek immün komplekslerden RF uzaklaştırılabilir (75,125,129,130).

2.6.2.4.REDÜKTAN-MERKAPTAN TESTLERİ

SWT testinde total antikorlar saptandığı için immünglobulin izotiplerinin belirlenebilmesi amacıyla merkaptan/redüktan (2-ME ve dithiothreitol DTT) maddeler kullanılmaktadır. Serum örneğinin bu maddelerle muamele edilmesiyle IgM pentamerinin disülfid bağları indirgenerek aglütinasyon yeteneğini kaybederken ortamdaki IgG etkilenmeden kalır. Böylece serumdaki IgG varlığı indirekt olarak belirlenir (75,78,79). Ancak kalan titrenin sadece IgG'yi değil, IgA varlığını da gösterdiği unutulmamalıdır (75,76,86,125). Ancak, bazı olgularda IgG moleküllerinin redüktan maddelere duyarlı olabileceği ve yalnızca negatif reaksiyonların görülebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (79,125).

SWT titrelerinin, merkaptanlarla çalışıldığında azalmanın ne kadarının anlamlı olduğu netlik kazanmamıştır. SWT $\geq 1:160$ titrenin merkaptan testlerde 4 kat azalması "anlamlı sonuç" yani aktif enfeksiyon göstergesi olarak kabul edilmektedir (86). Diğer araştırmacılar ise, klinik olarak uyumlu ve SWT titresinin $\geq 1:160$ vakalarda merkaptan testlerde $\leq 1:80$ titrelerin saptanmasının akut bruselloz tanısı için güçlü bir kanıt olduğunu bildirmişlerdir (78). Daha geç dönemde ise merkaptan testlerde, SWT'indeki titrenin bir dilüsyon azalması anlamlı kabul edilmektedir (78,82).

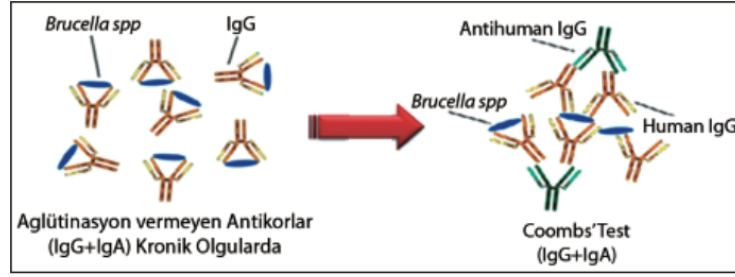
Akut brusellozda SWT, 2-ME testine göre daha duyarlı iken, merkaptan testlerinin daha sinsi başlangıç gösteren olgularda veya ≥ 3 ay devam eden yakınmaların varlığında daha iyi bir gösterge olduğu bildirilmiştir (75,78,82). Ek olarak, antimikrobiyal tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde ve kronik olguların saptanmasında SWT testine göre daha üstün olarak değerlendirilmişlerdir. Relaps gelişen olgulardaki IgG ve IgA yüksekliği, bu yöntemle Coombs' ve ELISA yöntemine göre daha iyi tespit edildiği bildirilmiştir (76,77). 2-ME oldukça kötü kokulu ve toksik bir madde olması nedeniyle iyi havalandırılan laboratuvarlarda veya çeker ocaklarda kullanılmalıdır veya DTT tercih edilmelidir (75,125).

2.6.2.5.İNDİRECT COOMBS (CT VEYA ANTI-İNSAN GLOBULİN-AHG) TESTİ

Bruselloz seyrinde açığa çıkan blokan (IgG/IgA) antikoları anti-human immünglobulin (AHG) kullanılarak aglütinasyon reaksiyonuna katılmasını sağlayan indirekt anti-human globulin test (Coombs Testi) geliştirilmiştir (Resim 9) (73,75,76,125,130).

CT özellikle bruselloz şüpheli olgularda SWT sonuçlarının negatif olduğu veya düşük antikor titrelerinin saptandığı durumlarda oldukça yararlı bir yöntemdir. Bu tür tanısal sorunlar genellikle "kronik bruselloz" olgularında gözlenmektedir (73,82). IgG ve IgA'nın brusellozda yüksek düzeylerde uzun süre kalabilmesi ve blokan antikoların aglütininlere göre hastalığın daha ileri dönemlerinde açığa çıkması nedeniyle "kronik" bruselloz şüphesinde SWT'ne ek olarak CT veya ELISA testi yapılmalıdır (75,125,157,159 -161). Ancak, blokan antikoların brusellozda nadir olması ve genellikle tanıyı etkilememesi nedeniyle CT nadiren gereklidir (75,82).

Resim 9: Aglütinasyon vermeyen antikorların Coombs testi ile aglütinasyon oluşturması



Yapılan çalışmalarda CT titresi SWT titresinin iki ($\geq 1:320$) katı olarak alınmıştır (161-163). Ancak bazı araştırmacılar SWT’de elde edilen titre değerinde en az 4 kat artış olması CT için “anlamlı sonuç” olarak kabul etmişlerdir (86). CT, kronik seyir ve relaps sırasındaki antikor titresinde gelişen hafif değişiklikleri belirlemek için en uygun serolojik testtir (163). CT’deki titre artışı reaktivasyonu gösteren önemli bir göstergedir (162). Genel olarak, Brucella-capt ile CT ile elde edilen titreler arasında yüksek uyumluluk saptanmıştır. CT titreleri genellikle SWT’de elde edilen titrelere göre daha yüksek olup, daha uzun süre pozitif kalmaktadır. Diğer serolojik testlerle karşılaştırıldığında; IgG ELISA ve CT sonuçları arasında iyi bir korelasyon bildirilmiştir ve her iki test diğer aglütinasyon testlerinden daha uzun süre pozitif kalmaktadır (41,73,75,76,125).

2.6.2.6. BRUCELLA-CAPT TESTİ

Kronik bruselloz tanısında kullanılmak üzere Brucella-capt tekniği geliştirilmiştir. Brucella-capt, tek aşamada brusella aglütinlerini ve aglütinasyon vermeyen IgG/IgA antikorlarını saptayabilen immün yakalama tekniğine dayanan bir testtir. Bu özellikleri ile Coombs ve tüp aglütinasyon yöntemini bir arada sağlar. SWT’deki yalancı negatiflik ve prozon olayını ortadan kaldırır. Brucella-capt testinde aglütinin ve blokan antikorları saptaması kronik olgular dışında aktif enfeksiyonda da kullanılmasına olanak sağlar (161-163,200). Test, anti-insan immün globulinle (IgG, IgM ve IgA) kaplı U- tabanlı mikropleytlerde serum örneği ve renkli *B. melitensis* tüm hücre antijeni ile uygulanmaktadır.

Kit hem tarama testi olarak hem de titre edilerek kullanılabilir. Tarama testi olarak her hasta için sadece iki kuyucuk kullanılması nedeniyle testin birim maliyeti düşmektedir. Brucella-capt testinde tanısal titre/sınır değer $\geq 1:320-640$ titre olacak şekilde ayarlanmıştır. SWT ile pozitif çıkan olgular; Brucella-capt testinde hem aglütinler hem de blokan antikorların saptanması nedeniyle daha yüksek titrelerde pozitif bulunacaktır. Ayrıca, CT ile sadece IgG antikorları saptanırken, Brucella-capt ile total antikorlar tespit edildiği için Brucella-capt titreleri CT’ye göre daha yüksek çıkacağı unutulmamalıdır (161-163).

Brucella-capt, kolay uygulanabilmesi, 24 saat içinde sonuçların alınması, tarama testi olarak kullanılabilmesi ve CT’ye benzer bir tanısal kapasiteye (duyarlılık ve özgüllük) sahip olması nedeniyle CT’ye önemli bir alternatiftir (157,161,162).

Brucella-capt ile CT sonuçları değerlendirildiğinde; Brucella-capt’in duyarlılık ve özgüllüğü % 91,5 - 100 ve % 97,4 - 100 olarak bulunmuştur (161-163). Bir çalışmada ise CT’nin duyarlılığı % 82,9 olarak bildirilmiştir (162). Testin çok basit olması doğrulayıcı test için uygun olmasını da sağlamaktadır. Ancak, RB ve SWT pozitif bulunan vakalar için bir doğrulama testi olmadığı, aksine; bu testler ile yakalanamayan olguların saptanması amacıyla geliştirildiği unutulmamalıdır.

Persistent hastalığı olan olgularda; başvuru esnasında sıklıkla Brucella-capt titrelerinin çok yüksek olduğu ve takip sırasında titrelere yavaş bir gerilemeye rağmen $< 1:320$ titrelere düşmediği

gözlenmiştir (165). Özellikle relaps durumlarında, SWT ile karşılaştırıldığında Brucella-capt ve CT titrelerinde birkaç tepelik artışlar görülmekte ve titreleri daha yavaş azaltılmaktadır (163). Başarılı bir tedavi ve klinik kürden sonra antikör titrelerindeki azalma değerlendirildiğinde, Brucella-capt titreleri SWT ve CT'ye göre daha hızlı düşmektedir. Genel olarak Brucella-capt titreleri tedaviden hemen sonra düşmeye başlar ve 3. ayda 1:640 titre, 6. aydan sonra ise sınır değerlere (1:320-640 titre) inmeye başlar. Makedonya'da yapılan bir çalışmada olguların % 27'inde 4. ay ve %90'ında ise 15. ayın sonunda negatifleştiği ($\leq 1:320$ titre) gözlenmiştir. İyileşen veya persistansı gelişen olgular değerlendirildiğinde tedaviden 3 ay sonra Brucella-capt titrelerinde belirgin değişiklikler saptanmıştır (165). Bu nedenle, Brucella-capt titrelerinin hastalığın aktivitesi ve takibi için iyi bir gösterge olduğu kabul edilmektedir (161,162,166).

2.6.2.7.BİRİNCİL BAĞLANMA TESTLERİ (PRIMARY BINDING ASSAYS)

Birincil bağlanma testleri, test örneklerinde antikörlerin spesifik antijenle reaksiyona girmesi ve oluşan immün kompleksin bir 'işaretleyici' molekülü ile saptanmasına dayanmaktadır. İşaretleyici molekül içeren sistem genellikle üç şekilde olabilir: antiglobulinler veya izotoplarla işaretlenmiş bakteri hücre reseptörleri (radyoimmün teknik), florokromlar (floresan teknik) veya enzimler (Enzim immün assay). İnsan bruselloz tanısında Radyo Immün Assay (RIA) ve İndirekt Floresan Assay (IFA) gibi birincil bağlanma testleri kullanılmasına karşın, günümüzde ELISA bruselloz tanısında tercih edilen/en yaygın kullanılan yöntemdir (74-76,125).

2.6.2.8.ENZİMLİ İMMÜNOLOJİK TEST (EIA) - ENZİM BAĞLI IMMUNOSORBENT TEST (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY = ELISA)

Bruselloz tanısında ELISA 1976 yılında kullanılmaya başlanmıştır (73). İmmünglobulin izotiplerini (IgM, IgG ve IgA) saptayabilen ELISA yöntemi hem hastalığın tanısında (evrelendirilmesine) hem de takibinde oldukça yararlıdır (80,84,86,159,167). ELISA, yüksek duyarlılık ve özgüllükle total ve immünglobulin izotiplerini hızlı bir şekilde (4-6 saat içinde) saptamaktadır (167). İmmünglobulin izotiplerine ek olarak ELISA ile brusella-spesifik IgG subtipleri ve IgE de saptanabilir (74,83,167).

ELISA ile akut brusellozlu olgularda IgM düzeyleri çok yüksek bulunurken, aktif enfeksiyon dışında IgG düzeyleri daima IgM düzeylerinden yüksek olarak saptanmıştır. Uygun tedavi ile 3-6 ay içerisinde IgG düzeylerinde 4-8 kat azalma gözlenmiştir (76,168). Kronik olgularda ise orta düzeylerde IgG ve IgA antikörleri saptanmaktadır (76,167,169).

Akut olgularda, IgM ELISA testinin duyarlılığı %80 iken, IgG ve IgM'nin birlikte çalışıldığında testin duyarlılığı %90-100 arasında saptanmaktadır (130). Tek bir serum örneğinde IgM saptanması, IgM'in uzun süre saptanabilir düzeylerde kalması nedeniyle her zaman akut enfeksiyon lehine değerlendirilmemelidir.

Subakut olgularda IgM düşerken IgG (ve IgA) yüksek düzeylerde kalmaktadır, bu nedenle ELISA IgG daha iyi sonuç vermektedir (80,85). ELISA IgG, CT sonuçlarıyla tutarlı bir şekilde uzun süre yüksek düzeylerde seyretmektedir. Ancak bazı olgularda ise IgM ve IgG negatif olabilir (195,170).

Relaps gelişen olgularda kan kültürü pozitifliği akut dönemdeki kadar yüksek olmaması nedeniyle tanı klinik bulgular ve serolojik testler dayanılarak konulmaktadır (77,171). Relaps gelişen olgularda yapılan bir çalışmada relaps öncesi ve sonraki antikör titrelerindeki artış incelenmiş, CT ve ELISA IgG ile %83; IgA ile %58; SWT ile %25 oranında antikörler tespit edilmiştir. Beklenildiği gibi IgM titresinde bir artış saptanmamıştır (77).

Akut brusellozda tedavi sonrasında başlangıç titresinin yüksekliği ile ilişkili olarak yüksek IgG düzeyleri görülebilir, ancak kronik olgularda başlangıç titresinden bağımsız olarak IgG düzeyi yüksek kalmaktadır. Klinik olarak iyileşmeye rağmen, olguların %32'sinde IgG titresi relaps gelişmeksizin uzun süre (12 ay boyunca) yüksek düzeylerde kalıcı olabilir ve bu durum sıklıkla başlangıç titresinin yüksekliği ile ilişkilidir (73,76,78,82). ELISA blokan antikorlardan etkilenmediği için, SWT ve 2-ME aglütinasyona göre kronik olgularında tanımlanmasında ELISA-IgG daha duyarlı bir yöntem olarak görülmektedir (167,173). Lübnan'da yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada; RB ve SWT yönteminin basit, güvenilir ve ucuz oldukları için akut bruselloz olgularında kullanılabilmesi, kronik ve komplike olgularda ise bu yöntemlerle olguların atlanması nedeniyle ELISA yönteminin tercih edilmesinin daha uygun olduğu vurgulanmıştır (172).

Serolojik testlerin karşılaştırıldığı çalışmalarda ELISA'nın duyarlılık ve özgüllüğü SWT'ne eşit veya daha yüksek bulunmuştur (73,75,125,139,164). Ticari ELISA kitleri SWT ile karşılaştırıldığında; IgG ve IgM'in duyarlılığı %91 ve %100, özgüllükleri ise %100 olarak bulunmuş ve sonuçlar SWT ve CT test ile yüksek uyumluluk göstermiştir (172,174,175). Mantur ve ark. (168) hem akut hem de kronik olgularda ELISA'nın SWT'ne göre oldukça yüksek duyarlılığa (akutta %28, kronikte ise %55 daha fazla duyarlılık) sahip olduğunu ve bruselloz tanısında ELISA IgM ve IgG birlikte kullanılmasını gerektiğini bildirmişlerdir. ELISA da daha basit ve daha güvenilir bir şekilde Coombs testinin tüm avantajlarını sağlamakta ve test sonuçları klinik bulgularla daha yüksek korelasyon göstermektedir. Genel olarak ELISA klinik şüphe varlığına Coombs testi negatif olsa bile, serolojik tanıda tercih edilecek yöntem kabul edilmektedir (160,167,168,176). Ancak, ELISA özellikle geçirilmiş, kronik ve nörobruselloz gibi komplike olgularda SWT'dan daha duyarlı iken akut olgularda aglütinasyon testleri ile benzer tanısal kapasiteye sahiptir (167,173,176). ELISA testleri, aglütinasyon yöntemlerine göre daha pahalı, donanım ve deneyim gerektiren testler olması nedeniyle akut olgularda kullanılması klinik tablonun özelliklerine bağlı olarak tercih edilmelidir. Sitoplazmik proteinlerin antijen kullanıldığı ELISA ile aktif ve inaktif enfeksiyon ayırt edebilmektedir (74,75,170).

ELISA testinde serumdaki romatoid faktör nedeniyle yalancı pozitiflik görülebilir. Yalancı pozitif sonuçların önlenmesi amacıyla brusella IgM antikor testlerinde rutin olarak RF absopsiyonu yapılmalıdır (173,175). Brusella serolojisindeki önemli problemlerden birisi olan OPS yapıya bağlı çapraz reaksiyonlar, S-LPS antijeninin kullanıldığı ELISA yöntemi için de geçerlidir. Bu durum antijen olarak tüm hücrenin kullanıldığı ELISA'da daha az oranda görülmektedir (75,125). Son yıllarda diğer bakteriler ile çapraz reaksiyonların azaltılması amacıyla yarışmalı (kompetitif) ELISA yöntemi geliştirilmiştir. Yarışmalı ELISA'da S-LPS'nin O-polisakaritindeki genel ve tekrarlayan epitoplara karşı monoklonal antikorların (mAb) kullanılması çapraz reaksiyonların sıklığını azaltmıştır. Yarışmalı ELISA IgG'nin duyarlılığı %98,3, özgüllüğü %99,7 olarak bulunmuştur (177). Yüksek duyarlılığı nedeniyle doğrulayıcı veya tarama testi olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

2.6.2.9. İMMUNOKROMATOGRAFİK TEST (LATERAL FLOW ASSAY-LFA: AKIM YÖNTEMİ)

LFA, nitrosellüloz membranda immobilize edilmiş antijen (*B. abortus* S-1119-2 suşunun LPS fraksiyonu) ve antikor yakalayıcı olarak koloidal altınla konjuge anti-human IgG/ IgM reagenini kullanan test sistemidir (178).

Serum veya plazma eklendikten sonra 10-15 dakika içerisinde test sonucu görsel olarak değerlendirilir. Kalitatif olmasına karşın, antikor miktarına bağlı olarak reaksiyonun şiddeti-boyanma yoğunluğu 1+ - 4+ kadar değerlendirdiği için semi-kantitatif özellik kazanmaktadır (178,179). Hızlı, kolay uygulanabilir ve ekipmana ihtiyaç göstermemesi nedeniyle LFA, laboratuvar

alt yapısının olmadığı kırsal bölgelerde, sahada tarama/sürveyans çalışmalarında, salgınlarda veya hasta başında kullanım için çok uygun bir yöntem olarak görülmektedir. Reaksiyonun gözle değerlendirilmesine bağlı subjektiflik LFA'nın en önemli dezavantajıdır (178-180).

Yapılan çalışmalarda testin duyarlılığı %96-100, özgüllüğü %96-99 olarak bildirilmiştir (178,180). Özellikle düşük düzeydeki IgG ve IgM antikorların saptanmasında SWT'ne göre biraz daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. Ancak, CT göre duyarlılığı biraz düşüktür (178). LFA SWT ($\geq 1:160$) ile yüksek (%92) uyumluluğa sahiptir (178-180).

2.7.TEDAVİ

Bruselloz tedavisinde kullanılacak antimikrobiallerin makrofajlara penetre olması ve hücre içi asit ortamda etkinliğini sürdürebilmesi gerekir. Tedavinin bir diğer temel prensibi, kombine antimikrobiyal kullanılmasıdır. Tüm monoterapi denemeleri yüksek relaps oranları ile sonuçlanmıştır (281).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1986 yılında bruselloz tedavisinde standart rejim olarak; doksisisiklin 2x100 mg + rifampisin 600-900 mg/gün 4-6 hafta süreyle (veya doksisisiklin 2x100 mg/gün 4-6 hafta + 2-3 hafta süreyle streptomisin 1 g/gün) kullanılmasını önermiştir. Relapslar genellikle aynı antimikrobiyal kombinasyonuyla tedavi edilebilirler. Tedavi süresi uzadıkça relaps riski azalmaktadır. Bu nedenle, kabul edilebilir bir relaps oranı sağlayacak tedavi süresini belirlemek önem taşımaktadır (182).

2.7.1.TRİMETOPRİM/SULFAMETOKSAZOL (TMP/SMZ)-RİFAMPİSİN

TMP/SMZ, bruselloz tedavisinde, üçlü kombinasyon şeklinde başarıyla kullanılmıştır. Üçlü kombinasyon, brusellozda rutin tedavi önerisi olmamakla birlikte, DSÖ'nün önerdiği kombinasyonların başarısız olduğu bölgelerde TMP/SMZ üçüncü bir ilaç olarak ilave edilebilmektedir. TMP/SMZ kullanımı ile birlikte, *Brucella melitensis* suşlarında %62'ye varan direnç oranları bildirilmiştir. TMP/SMZ içeren ilaç kombinasyonları ile çalışılacağı zaman, bu direnç olasılığının dikkatle izlenmesi yararlı olacaktır (182).

2.8.BRUSSELLA BAKTERİSİ İLE TEMAS SONRASI PROFİLAKSİ

Etik ilkeler çerçevesinde, bu konu ile ilgili çalışma yapmak mümkün değildir. Canlı brusella bakterisi ile temas edilmesi durumunda kolaylıkla bulaşabilme potansiyeli taşıması, temas sonrası profilaksi verilmesine dayanak oluşturmaktadır. Brusella bakterisi ile teması takiben en kısa süre içinde; doksisisiklin 2x100 mg/gün + rifampisin 600 mg/gün kombine tedavisi başlanması önerilir. Gebe olanlar için öneri, TMP/SMZ 2x160/800 mg/gün şeklindedir. Tedavi 3 haftaya tamamlanır (183).

2.9.KORUNMA

Brusellozdan korunma için; hayvan ve gıda sektöründe çalışanların eğitimi, çiftliklerin sanitasyonu, mesleki hijyen kuralları, hayvanların aşılınması, laboratuvar güvenliğinin sağlanması sağlanmalıdır (184). Tüm önlemler, iyi tasarlanmış ve etkin şekilde uyarlanmış kontrol programlarına entegre edilmelidir. Ancak gelişmekte olan birçok ülkenin finansal imkânsızlıkları önemli bir engeldir (184).

2.9.1.LABORATUVAR GÜVENLİĞİ

Bruselloza bağlı laboratuvar enfeksiyonları en sık saptanan laboratuvar enfeksiyonlarından

biridir. Bu nedenle biyogüvenlik uygulamaları önemlidir. Her laboratuvarında, ekipman kullanımı (özellikle aerosoller oluşturan ekipmanlar), ekipman dezenfeksiyonu, kontamine olmuş materyal, taşıma ve işleme örnekler, sızıntı çevreleme ve temizleme ve atık işleme ile ilgili yazılı prosedürler olmalıdır. Virülan *Brucella spp.* ile çalışanlar yakın klinik ve serolojik gözlem altında tutulmalıdır (184).

2.9.2.GÜVENLİ GIDA TEMİNİ

Bakteri, krema ya da peynir, tereyağı, dondurma gibi ürünlerin içine konsantre olabilir. Taze süttten hazırlanan yumuşak peynirler, çok sayıda bakteri içerebilir. Piyasaya sunulmadan önce peynir altı ay, salamura peynir en az üç ay, yumuşak peynir en az altı ay bekletildikten sonra tüketilmelidir. Tereyağı, ekşi süt, ekşi krema ve yoğurt asitleştirildiği için, brusella miktarı önemli ölçüde azalır. Kaynatma veya yüksek sıcaklıkta pastörizasyon sütteki bakterileri yok etmek için yeterlidir. İdeal olarak tüm sütler pastörize edilmelidir. Et ve et ürünleri iyi pişirilmeden tüketilmemelidir (184).

2.9.3.AŞILAR

İnsan brusellozunun önlenmesi için onaylanmış, etkili, güvenilir ve yaygın olarak kullanılabilen bir aşı halen mevcut değildir. Bu nedenle aşılama, hayvanlar üzerinde odaklanmıştır. Hastalığın eradikasyonunu sağlamak amacıyla hayvanlara karşı sürekli aşılama programı uygulanmalıdır. Her yıl yenidoğan buzağı, kuzu ve oğlaklar aşılanarak bruselloz yönünden bağışık bir hayvan topluluğu elde edilmelidir (184). (*B.abortus* S19 aşısı, *B. abortus* S19 ergin aşısı, *B. melitensis* REV1 aşısı, *B. melitensis* H38 aşısı, *B. abortus* 104M aşısı)

3- GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1.Klinik Örnekler

Bruselloz ön tanısıyla 07.01.2014 - 29.01.2015 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen, 18 yaş ve üzerindeki hasta örnekleri çalışmaya alındı. Gelen kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Hemen çalışılmayacak örnekler +4⁰C'de buz dolabında saklandı (24-48 saat). Çalışıldıktan sonra tüm serumlar -20⁰C'deki derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.1.2.Kullanılan Testler

3.1.2.1.Tarama testleri:

Rose Bengal Testi (RB testi), THSK, Türkiye
ELİSA IgM ve IgG Testi, Vircell, Granada, İspanya
Brucella Coombs Gel Test, Odak diagnostics, Türkiye

3.1.2.2.Titrimetrik testler:

Standart Wright Testi (SWT), THSK, Türkiye
Anti Human Globulin Testi (AHG testi), Millipore, UK
Merkaptoetanol (2-ME) Testi, Merck, Almanya
Titrimetik Brucella Coombs Gel Test, Odak diagnostics, Türkiye

3.2.YÖNTEM

3.2.1.Testlerin çalışılması

3.2.1.1.1.Rose Bengal Testi (RB testi), THSK, Türkiye

3.2.1.1.1.1.Testin Prensi: İnsanlarda brusellozun hızlı tanısında ve epidemiyolojik araştırmalarda tarama amacıyla kullanılan lam aglütinasyonu testidir. Antijen olarak Rose - Bengal boyası ile boyanmış ve pH 3.6'da tamponlanmış, ölü *B. abortus* S99 süspansiyonu kullanılır. Brusellozda oluşan IgM ve IgG antikorları, RB ile boyanmış *B. abortus* bakterileri ile birleşerek gözle görülen aglütinasyon reaksiyonu oluşturur.

3.2.1.1.1.2.Saklama: Reajenler ve kontrol serumları kullanılmadıkları dönemde 2-8 ⁰C'de muhafaza edildi. Kullanılmadan önce reajenler oda sıcaklığına (20-30 ⁰C) getirildi.

3.2.1.1.1.3.Testin Çalışılması: Antijen kullanılmadan önce çalkalanarak karıştırıldı. Plastik lamlar üzerine 1'er damla (50µl) hasta serumu ve eşit miktarda (50µl) antijen eklendi.

Antijen ve serum karıştırma çubuklarıyla karıştırıldı.

Rotatorda dört dakika çevrildi. Bu süre sonunda gözle görünen aglütinasyon olup olmadığı değerlendirildi.

3.2.1.1.1.4.Testin Değerlendirilmesi: Karışımda herhangi bir aglütinasyon yoksa: Negatif (N);

Hafif, ince taneli kümeleşme varsa: Zayıf Pozitif (ZP); Gözle görünür, belirgin kümeleşme: Pozitif (P) olarak değerlendirildi (Resim 10).

Resim 10: Sağ tarafta pozitif RB testi, sol tarafta negatif RB testi (185).



3.2.1.1.1.5.Uyarılar: Aşı kökenleri ile temasın yaygın olduğu bölgelerde RB testi pozitif bulunduğunda doğrulama testi (tüp aglütinasyon testi) yapılması gereklidir. Yalancı negatif sonuçlar, enfeksiyonun erken ve geç dönemlerinde ortaya çıkar. *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*'in antijenik benzerliği nedeniyle bu kökenlere karşı oluşan antikorlar da bu test ile saptanabilir. *B. canis* ve *B. ovis* enfeksiyonlarında reaksiyon oluşmaz. Bazı *Yersinia*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Francisella*, *E. coli* ve *Pseudomonas* enfeksiyonlarında çapraz reaksiyon veren antikor oluşumuna bağlı olarak yalancı pozitiflikler gözlenebilir.

3.2.1.1.2.ELİSA IgM ve IgG Testi, Vircell, Granada, İspanya

3.2.1.1.2.1.Testin Prensi: Test kitinde, her birinde 8 'er adet ayrılabilir, antijen (*B. abortus* S-99 suşunun lipopolisakkarit antijeni) kaplı, polistren yüzeyli kuyucuk bulunan stripler bulunmaktadır. Birinci reaksiyon aşamasında, dilüe edilmiş hasta numuneleri, kuyucuklarda inkübe edilir. Pozitif numunelerin olduğu durumlarda, spesifik IgG/IgM antikorları antijenlere bağlanır. Bağlanan antikorların saptanabilmesi için, renk tepkimesinin oluşmasını sağlayabilen enzim ile işaretli anti-human IgG (enzim konjugat) kullanılarak, ikinci bir inkübasyon işlemi uygulanır. Enzime uygun substratla renklendirme yapılarak spektrofotometrik olarak okunur.

3.2.1.1.2.2.IgG Testi Kit içeriği (Resim 11):

Brusella plağı: *B. abortus* S-99 suşunun LPS (lipopolisakkarit) antijeni kaplı 96 kuyucuk.

Serum diluent (sulandırıcı): Mavi renkli 25 mL Proklin ve protein stabilizatörleri içeren fosfat tampon solüsyonu.

IgG pozitif kontrol (PK): Proklin içeren 500 µL pozitif kontrol serumu.

IgG 'cut off' kontrol (CK): Proklin içeren 500 µL 'cut off' kontrol serumu.

IgG negatif kontrol (NK): Proklin içeren 500 µL negatif kontrol serumu.

IgG konjugat: Turuncu renkli, 15 mL peroksidaz bağlı anti-human IgG solüsyonu.

TMB substrat solüsyonu: Trimetilbenzidin (TMB) içeren 15 mL substrat solüsyonu.

'Stop' solüsyonu: Sülfürik asit içeren (0.5 M) 15 mL 'stop' solüsyonu.

Yıkama sıvısı: Tween^R-20 ve Proklin içeren 50 mL fosfat tampon solüsyonu.

Resim 11: Kullanılan Vircell ELISA IgG kitinin içeriği (188).



3.2.1.1.2.3. IgM Testi Kit içeriği:

Brusella plağı: *B. abortus* S-99 suşunun LPS (lipopolisakkarit) antijeni kaplı 96 kuyucuk.

Serum diluent (sulandırıcı): Mavi renkli 25 mL Proklin ve protein stabilizatörleri içeren fosfat tampon solüsyonu.

IgM pozitif kontrol (PK): Proklin içeren 500 µL pozitif kontrol serumu.

IgM 'cut off' kontrol (CK): Proklin içeren 500 µL 'cut off' kontrol serumu.

IgM negatif kontrol (NK): Proklin içeren 500 µL negatif kontrol serumu.

IgM konjugat: Turuncu renkli, 15 mL peroksidaz bağlı anti-human IgG solüsyonu.

TMB substrat solüsyonu: Trimetilbenzidin (TMB) içeren 15 mL substrat solüsyonu.

'Stop' solüsyonu: Sülfürik asit içeren (0.5 M) 15 mL 'stop' solüsyonu.

Yıkama sıvısı: Tween^R-20 ve Proklin içeren 50 mL fosfat tampon solüsyonu.

3.2.1.1.2.4.ELISA Sorbent, Vircell, Granada, İspanya: IgM ve IgA testlerinde, romatoid faktör ve birçok IgG antikorları yalancı pozitifliklere yol açabilir. Fc spesifik Anti-human IgG içeren 1.2 ml'lik bu sorbentle yanlış pozitiflikler önlenmeye çalışılmıştır.

3.2.1.1.2.5.Saklama: Reajenler ve kontrol serumları kullanılmadıkları dönemde 2-8 °C'de muhafaza edildi. Substrat solüsyonu ışığa duyarlı olduğu için ışıktan korunmaya özen gösterildi ve renginde bir değişiklik olup olmadığı kontrol edildi (maviye dönme). Kullanılmadan önce reajenler oda sıcaklığına (20-30 °C) getirildi.

3.2.1.1.2.6.Testin Çalışılması: Her test kitinden çıkan yıkama sıvısı (50 mL) distile suyla 20 kat sulandırılarak 1 litreye tamamlandı. Her çalışmada ilk 4 kuyucuk kontrol serumları için ayrıldı (2 cut off, 1 PK, 1NK).

3.2.1.1.2.6.1.IgG için testin çalışılması: Çalışılacak olan tüm kuyucuklara 100 µL serum sulandırıcı konuldu. Daha sonra ilk kuyucuğa 5µL IgG PK, ikinci kuyucuğa 5µL IgG NK, üçüncü ve dördüncü kuyucuğa 5'er µL IgG cut off konuldu. Çalışılacak olan hasta serumları beşinci kuyucuktan başlanarak 5'er µL konuldu. Plaklar 'shaker' 'a konarak 2 dk karıştırıldı ve 37 °C'lik etüvde 45 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar yıkama cihazında yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkandı. Tüm çukurlara 100'er µL IgG konjugat solüsyonu eklendi ve 37 °C'lik etüvde 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar yıkama cihazında yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100'er µL substrat solüsyonu eklendi ve plaklar ışıktan korunarak oda sıcaklığında 20 dk daha inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara 50'er

μL stop solüsyonu eklendi. Son olarak da 450/620 nm spektrofotometre cihazında okuma gerçekleştirildi.

3.2.1.1.2.6.2. IgM için testin çalışılması: Kontrol grubu haricindeki (ilk dört kuyucuk) tüm kuyucuklara 25'er μL IgG sorbent solüsyonu ve 75'er μL serum dilüenti konuldu. Kontrol grubundaki dört kuyucuğa 100'er μL serum dilüenti konuldu. İlk kuyucuğa 5 μL IgM PK, ikinci kuyucuğa 5 μL IgM NK, üçüncü ve dördüncü kuyucuğa 5'er μL IgM cut off konuldu. Çalışılacak olan hasta serumları beşinci kuyucuktan başlanarak 5'er μL konuldu. Plaklar 'shaker' 'a konarak 2 dk karıştırıldı ve 37 °C'lik etüvde 45 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar yıkama cihazında yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkandı. Tüm çukurlara 100'er μL IgM konjugat solüsyonu eklendi ve 37 °C'lik etüvde 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar yıkama cihazında yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100'er μL substrat solüsyonu eklendi ve plateler ışıktan korunarak oda sıcaklığında 20 dk daha inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara 50'er μL 'stop' solüsyonu eklendi. Son olarak da 450/620 nm spektrofotometre cihazında okuma gerçekleştirildi.

3.2.1.1.2.7. Testin Değerlendirilmesi: Spektrofotometrik olarak optik dansitesi (OD) ölçülen serumların antikor indeks değerleri aşağıdaki formülle hesaplanarak sonuçlar değerlendirildi (Tablo 5).

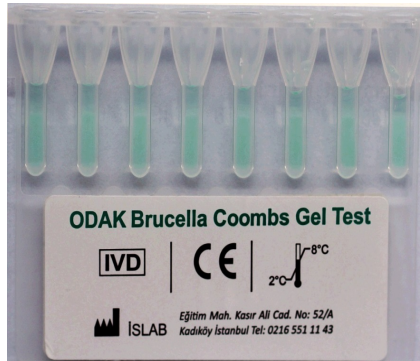
Tablo 5: Antikor indeks = (hasta serumu OD / cut off serum OD) \times 10

İNDEKS	SONUÇ
<9	Negatif
9-11	Zayıf pozitif
>11	Pozitif

3.2.1.1.3. Brucella Coombs Gel Test, Odak diagnostics, Türkiye:

3.2.1.1.3.1. Testin Prensi: İnsan serumunda brusella bakterilerine karşı oluşan antikorların Coombs yöntemi ile kısa sürede tespit edilmesi amacıyla üretilen kısa sürede tarama ve titrasyon yapılabilen bir testtir. Jel matriks ve Coombs antikorlu içeren kuyucuklarda gerçekleşen bir Coombs'lu brusella aglütinasyon testidir (Resim 12). Sonuçlar gözle değerlendirilir. İncelenen serumda brusella antikorlu yoksa pembe renkli brusella antijenleri tüpün dibine çöker. Serumda brusella antikorları varsa antijen ve antikor pembe kompleks halinde jelin üstünde kalır.

Resim 12: Odak Brucella Coombs Gel Test'in tek stribinin kullanılmadan önceki görünümü (187).



3.2.1.1.3.2.Kit içeriği:

Brusella diluent: Serum dilüenti 15 mL.

Brusella antijen süspansiyonu: İnaktif *Brucella abortus* süspansiyonu 6 mL.

Brusella jel matriks: Coombs antikoru içeren 12 adet 8 kuyucuklu jel matriks.

Brusella negatif kontrol (NK): Sodyum azid içeren 250 µL negatif kontrol.

Brusella pozitif kontrol (PK): Sodyum azid içeren 250 µL pozitif kontrol.

3.2.1.1.3.3.Saklama: Reajenler ve kontrol serumları kullanılmadıkları dönemde 2-8 °C'de muhafaza edildi. Kullanılmadan önce reajenler oda sıcaklığına (20-30 °C) getirildi.

3.2.1.1.3.4.Testin çalışılması (Tarama Yöntemi): Dilüsyon plağındaki uygun kuyucuğa 100 µL brusella diluent (sulandırıcı) koyuldu. Üzerine 5 µL hasta serumu ilave edilerek karıştırıldı ve kuyucuklardan 50 µL alınarak atık kabına atıldı. Kuyucukların üzerine 50 µL brusella antijen süspansiyonu ilave edilerek karıştırıldı. Brusella jel matriks üzerinde kullanacağımız kuyucuklara ilgili serum numaraları işaretlendi. Plak iyice çalkalanarak ilgili kuyucuktaki karışımdan 50 µL alınarak brusella jel matriksdeki ilgili kuyucuğa aktarıldı. Uygun devirde 20 dk santrifüj edildi. Sonuçlar gözle değerlendirildi (bu uygulamada titrasyon 1/40).

3.2.1.1.3.5.Sonuçların değerlendirilmesi: Serumda brusella antikorları yoksa pembe brusella antijenleri tüpün dibine çöker. Serumda brusella antikorları varsa antijen ve antikor pembe kompleks halinde jelin üstünde kalır.

3.2.1.2.Titrimetrik testler:

3.2.1.2.1.Standart Wright Testi (SWT), THSK, Türkiye

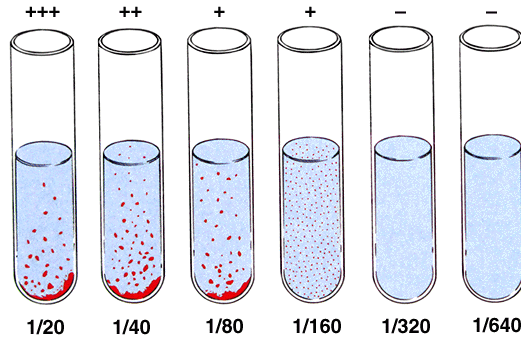
3.2.1.2.1.1.Testin Prensi: İnsanlarda brusellozun tanısında kullanılan yarı-kantitatif tüp aglütinasyonu testidir (Resim 13). Antijen olarak inaktif *B. abortus* süspansiyonu kullanılır.

3.2.1.2.1.2.Saklama: Antijenler ve kontrol serumları kullanılmadıkları dönemde 2-8 °C'de muhafaza edildi. Kullanılmadan önce reajenler oda sıcaklığına (20-30 °C) getirildi.

3.2.1.2.1.3.Testin Çalışılması: Seri dilüsyon hazırlanmak üzere her serum için 7'şer tüp ayrıldı. İlk tüplere 0.9mL, diğerlerine 0.5mL serum fizyolojik (SF) konuldu. İlk tüplere 0.1mL hasta serumları eklenerek karıştırıldı. İlk tüpten 0.5mL sıvı alınarak ikinci tüplere aktarıldı. Son tüplere kadar 0.5 mL aktarılıp, son tüpten 0.5 mL dışarı atılarak seri dilüsyonlar hazırlandı (1/10, 1/20, ..., 1/640). Tüm tüplere 0.5 mL antijen eklenerek karıştırıldı ve tüm tüpler bir kat daha dilüe oldu (1/20,1/40, ..., 1/1280). Tüpler 37°C'lik etüve kaldırılarak 24-48 saat inkübe edildi.

3.2.1.2.1.4.Değerlendirme: İnkübasyondan sonra tüpler dikkatlice hareket ettirilerek aglütinoskop eşliğinde aglütinasyon varlığı değerlendirildi. Sonuç olarak aglütinasyonun olduğu en yüksek titre rapor edildi. 1/80 üzeri olan titreler raporlandı ve 1/160 titre ve üzeri anlamlı kabul edildi.

Resim 13: SWT'nin 1/20'den 1/640'a kadar titrelendirilmesi (186).



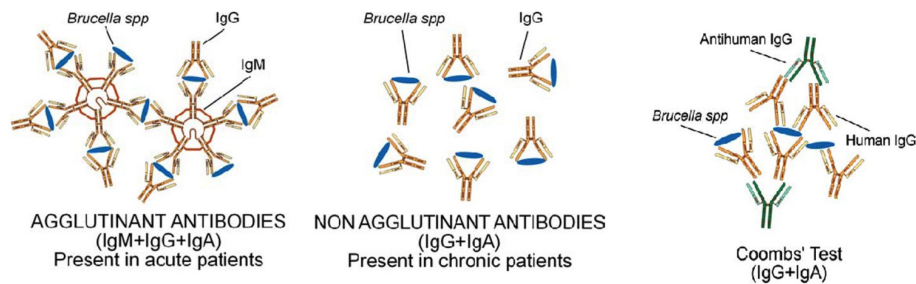
3.2.1.2.1.5.Uyarılar:

- Aglütinasyon testleri olası tanı sağlarlar. Kesin tanı için mikroorganizmanın izolasyonu gereklidir.
- Saptanabilir aglütininler sadece bakteriyel infeksiyonlarda meydana gelmez. Bazı durumlarda febril antijenlerle reaksiyona giren nonspesifik aglütininler meydana gelebilir. Örneğin narkotik maddeler kullanan kişilerden alınan serumlarda antijenlere karşı anlamlı derecede yüksek titlerde aglütininler saptanmıştır.
- Hastalığın erken dönemlerinde, bağışıklık-yanıtsızlığı durumlarında, prezon ve antibiyotik tedavisi alan hastalarda yanlış negatif sonuçlar olabilir.
- B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis* antijenik olarak benzerdir ve çapraz reaksiyon verirler. Yine *V. cholerae*, *Pasteurella* spp, *Proteus* OX19, *Y. enterocolitica*, *F. tularensis* ve *E. coli* infeksiyonlarında brusella antijenleri ile çapraz reaksiyon görülebilir.

3.2.1.2.2.Anti Human Globulin Testi (AHG testi), Millipore, UK

3.2.1.2.2.1.Testin Prensi: İnsanlarda brusellozun tanısında kullanılan yarı-kantitatif tüp aglütinasyonu testidir. Antijen olarak inaktif *B. abortus* süspansiyonu kullanılır. Brusellozda oluşan blokan antikorlar, SW testi ile gösterilemezken ortama eklenen AHG aracılığı ile görünür aglütinasyon verir (Resim 14). RB testi pozitif, SW testi negatif bulunan, özellikle IgG antikorlarının baskın olduğu olgularda tanı için kullanılır. Aglütinasyonun son serum dilüsyonu testin titresini verir.

Resim 14: Birinci resimde aglütinan antikorlar, ikinci resimde aglütinan olmayan antikorlar, üçüncü resimde aglütinan olmayan antikorların ortama eklenen AHG ile aglütinasyon oluşturması gösterilmiştir (187).



3.2.1.2.2.2.Saklama: Reajenler ve kontrol serumları kullanılmadıkları dönemde 2-8 °C'de muhafaza edildi. Kullanılmadan önce reajenler oda sıcaklığına (20-30 °C) getirildi.

3.2.1.2.2.3.Testin Çalışılması: SW testi negatif değerlendirilen SW testi tüpleri teste alındı. Tüpler

2000 rpm.de 20 dk. santrifüjlendi. Üstteki sıvılar dökülerek 3 kez yıkama işlemi yapıldı (Yıkama işlemi: Her tüpe 1-2 mL SF konur, karıştırılır - Tekrar 2000 rpm.de 20 dk. santrifüjlenir ve üstteki sıvı dökülür). Tüplere 0.45 mL SF dağıtıldı. Her tüpe 0.05mL AHG solüsyonu eklendi. Tüpler 37 °C'lik etüvde 24-48 saat inkübe edilerek inkübasyon sonrası tüpler aglütinoskopta değerlendirildi.

3.2.1.2.2.4.Testin Değerlendirilmesi: Aglütinasyonun olduğu en yüksek titre rapor edildi. 1/160 titre üzerindeki sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

3.2.1.2.3.2-Merkaptoetanol (2-ME) Testi, Merck, Almanya

3.2.1.2.3.1.Testin Prensibi: İnsanlarda brusellozun izleminde kullanılan yarı-kantitatif tüp aglütinasyonu testidir. Antijen olarak inaktif *B. abortus* süspansiyonu kullanılır. Brusellozda oluşan IgM antikorları 2-ME varlığında parçalanır. Kalan IgG antikorları inaktive *B. abortus* bakterileri ile birleşerek gözle görülen aglütinasyon reaksiyonu oluşturur.

3.2.1.2.3.2.Saklama: Reajenler ve kontrol serumları kullanılmadıkları dönemde 2-8 °C'de muhafaza edildi. Kullanılmadan önce reajenler oda sıcaklığına (20-30 °C) getirildi.

3.2.1.2.3.3.Reajenlerin Hazırlanması: 2-ME solüsyonu: 100 mL steril Phosphate Buffer Saline (PBS-Argene, Biomerieux, Fransa) içine 1.4 mL 2-ME solüsyonu eklenir. Bu stok solüsyon 2-8 °C'de saklanır. Günlük olarak stok solüsyon 1/4 (1:3) oranında SF ile dilüe edilerek kullanılır.

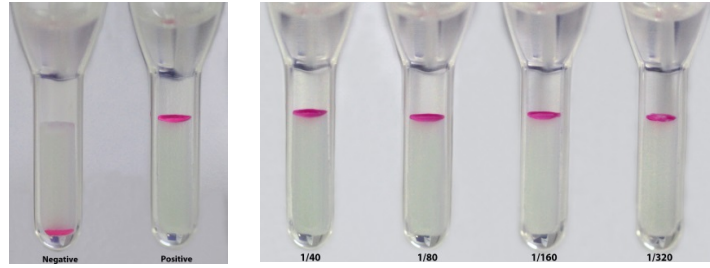
3.2.1.2.3.4.Testin Çalışılması: Her serum için iki sıra 7'şer tüp hazırlanarak, üzerlerine örnek numaraları ve test isimleri (SWT ve 2-ME) yazıldı. SW testi sırasına ilk tüplere 0.9mL, diğerlerine 0.5ml SF konuldu. 2-ME testi sırasına ilk tüplere 0.9mL, diğerlerine 0.5mL 2-ME solüsyonu konuldu. Her iki sırada birinci tüplere 0.1 mL serum konarak pipetle karıştırıldı. İlk tüpten 0.5 mL alınarak bir sonraki tüpe aktarılarak karıştırıldı. Son tüpe kadar 0.5 mL aktarıp, son tüpten 0.5 mL dışarı atılarak seri dilüsyonlar hazırlandı (1/10, 1/20, ..., 1/640). Tüm tüplere 0.5 mL antijen eklenip karıştırıldı (1/20, 1/40, ..., 1/1280). Tüpler 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi.

3.2.1.2.3.5.Testin Değerlendirilmesi: İnkübasyon sonrası tüpler aglütinoskopta değerlendirildi. Aglütinasyonun olduğu en yüksek serum titrasyonu rapor edildi.

3.2.1.2.4.Titrimetik Brucella Coombs Gel Test, Odak diagnostics, Türkiye

Tarama yönteminde pozitif / zayıf pozitif olarak değerlendirilen serumlar titrasyon yöntemiyle de değerlendirildi. Dilüsyon pleytinde her hasta için 4 kuyucuk ayrıldı. İlk kuyucuklara 100'er µL diğer üç kuyucuğa 50'şer µL brusella diluent (sulandırıcı) konuldu. İlk kuyucuklara 5'er µL serum ilave edilerek karıştırıldı. Birinci kuyucuklardan 50'şer µL alarak ikinci kuyucuklara ilave edildi. Bu şekilde seri dilüsyonlar yapılarak son kuyucuklardan 50'şer µL alınıp atık kabına atıldı. Bütün kuyucuklara 50'şer µL antijen süspansiyonu ilave edilerek karıştırıldı. Brusella jel matriks üzerinde kullandığımız kuyucuklara serum numaraları işaretlendi. Pleyt iyice çalkalanarak ilgili kuyucuklardaki karışımlardan 50'şer µL alınarak brusella jel matriks'deki ilgili kuyucuğa aktarıldı. Uygun devirde 20 dk santrifüjlenerek sonuçlar gözle değerlendirildi (1/40, 1/80, 1/160, 1/320). Titrasyon yöntemi ile 1/160 dilüsyon ve üstündeki değerler pozitif olarak kabul edilir (Resim 15).

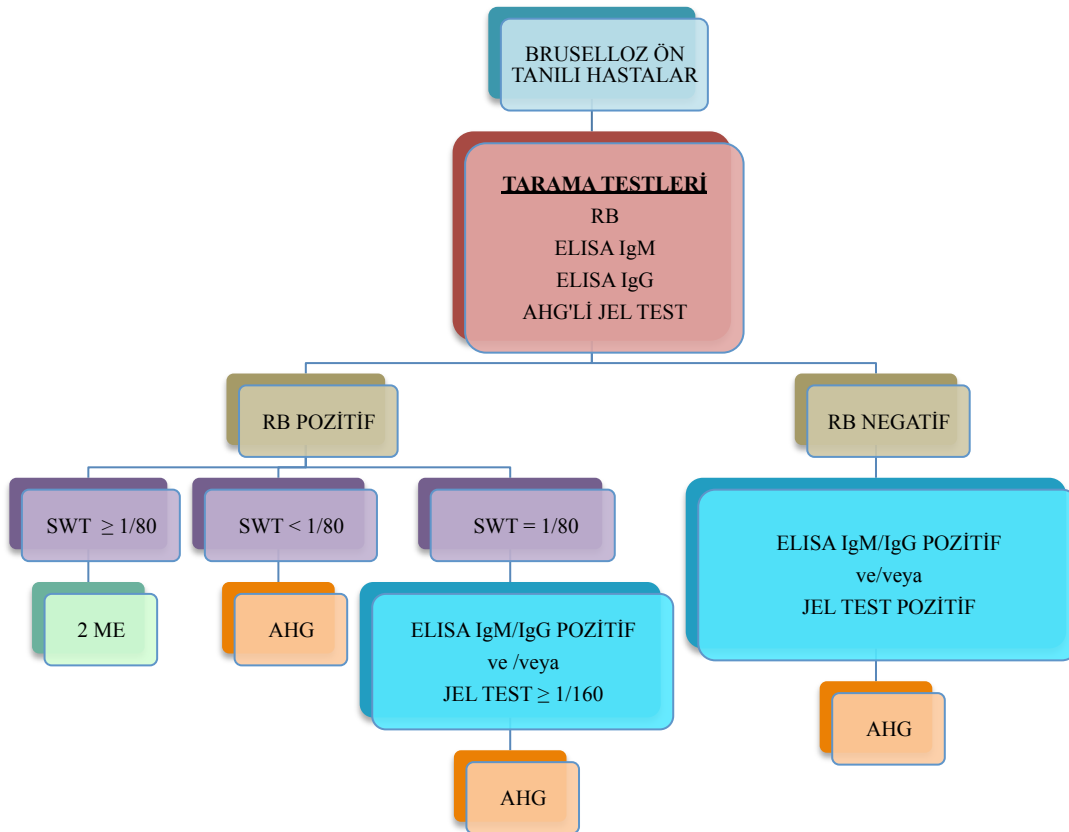
Resim 15: Soldaki resim jel tarama testi için pozitif ve negatif sonucu gösterirken sağdaki resim pozitif olan bir örneğin titrasyon sonucu en az 1/320'ye kadar pozitif olduğunu gösteriyor (187).



3.2.2.Serolojik Testlerin Çalışma Algoritması

Her örnek RB, ELISA IgM, ELISA IgG ve AHG'li jel test çalışıldı RB pozitif örnekler SWT ile çalışıldı. $SWT \geq 1/80$ olan örnekler 2-ME testi ile çalışıldı. $SWT < 1/80$ olan örnekler AHG testi ile çalışıldı. $SWT < 1/160$ ve ELISA IgM/IgG pozitif ve/veya Jel test $\geq 1/160$ olan örnekler, SWT testindeki düşüklüğün blokan antikorlar nedeniyle mi olduğunu belirlemek için AHG testi ile çalışıldı. RB testi negatif örnekler ELISA IgM ve/veya ELISA IgG testi pozitif ve/veya jel test pozitif olan örnekler, aglütinasyon testi negatifliğinin blokan antikorlar nedeniyle mi olduğunu belirleyebilmek amacıyla AHG testi ile çalışıldı (Şema 2).

Şema 2: Bruselloz ön tanısıyla Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen, 18 yaş ve üzerindeki hasta serumlarında çalışılan testlerin şematik gösterimi.



RB, SWT, 2-ME testleri günlük olarak çalışıldı. AHG'li jel test ve ELISA IgM ve IgG testleri, serumlar biriktirilerek toplu halde çalışıldı.

3.2.3.KLİNİK DEĞERLENDİRME

3.2.3.1.Olgu Rapor Formu:Hastaların klinik bilgisi ve laboratuvar bulguları ile öyküsünü kaydetmek için bir olgu rapor formu hazırlandı (Form 2)

Form 2: Olgu rapor formu

OLGU RAPOR FORMU										
PROTOKOL NUMARASI:					TARİH:					
AD - SOYAD:			MESLEK:			YAŞ:		CİNSİYET:		
ADRES: ŞEHİR: İLÇE: KÖY:						TELEFON:				
ŞİKAYET			FİZİK MUAYENE			LABORATUVAR				
<input type="checkbox"/> HALSİZLİK			<input type="checkbox"/> ATEŞ			<input type="checkbox"/> ANEMİ:				
<input type="checkbox"/> ATEŞ			<input type="checkbox"/> HEPATOMEGALİ			<input type="checkbox"/> TROMBOSİTOPENİ:				
<input type="checkbox"/> TERLEME			<input type="checkbox"/> SPLENOMEGALİ			<input type="checkbox"/> LÖKOPENİ:				
<input type="checkbox"/> ARTRALJİ			<input type="checkbox"/> LENFADENOPATİ			<input type="checkbox"/> LÖKOSİTOZ:				
<input type="checkbox"/> MYALJİ			<input type="checkbox"/> NÖROLOJİK BULGU			<input type="checkbox"/> LENFOSİTOZ:				
<input type="checkbox"/> SIRT-BEL AĞRISI			<input type="checkbox"/> CİLT LEZYONU			<input type="checkbox"/> KCFT'DE ARTIŞ:				
<input type="checkbox"/> BAŞ AĞRISI			<input type="checkbox"/> EPİDİDİMO-ORSİT							
<input type="checkbox"/> BULANTI-KUSMA			<input type="checkbox"/> APSE			<input type="checkbox"/> CRP YÜKSEKLİĞİ:				
<input type="checkbox"/> İŞTİHSİZLİK			<input type="checkbox"/> DİĞER:			<input type="checkbox"/> SEDİMENTASYON :				
<input type="checkbox"/> KİLO KAYBI						<input type="checkbox"/> DİĞER:				
<input type="checkbox"/> DİĞER:										
SEROLOJİ:										
TARİH	RB	SWT	2 ME	AHG	EIA		AHG'Lİ JEL TEST			
					IgM	IgG	POZİTİF/ NEGATİF	TİTRASYON		
KAN KÜLTÜRÜNDE ÜREME: <input type="checkbox"/> VAR:					<input type="checkbox"/> YOK <input type="checkbox"/> KÜLTÜR YAPILMAMIŞ					
TARİH:										
TANI:										
<input type="checkbox"/> AKUT			<input type="checkbox"/> SUBAKUT			<input type="checkbox"/> KRONİK		<input type="checkbox"/> RELAPS-REENF.		
TEDAVİ:										
TARİH	KULLANILAN İLAÇ			SÜRE			YAN ETKİ			

3.2.3.2. Hastaların Klinik Değerlendirilmesi

Klinik değerlendirmede kullanılan kriterler:

i- Başka bir nedenle açıklanamayan ateş, eklem/bel-sırt ağrısı, periferik kan tablosunda rölatif lenfositöz ve/veya olgu rapor formundaki şikayet, fizik muayene ve laboratuvara ait diğer bulgular ile aktif kliniği olması.

ii- Geçmişinde bruselloz tanısı ve/veya tedavi alma öyküsü olması

3.2.4. Serolojik Test Sonuçları Ve Klinik Değerlendirme İle Hastaların Sınıflandırılması

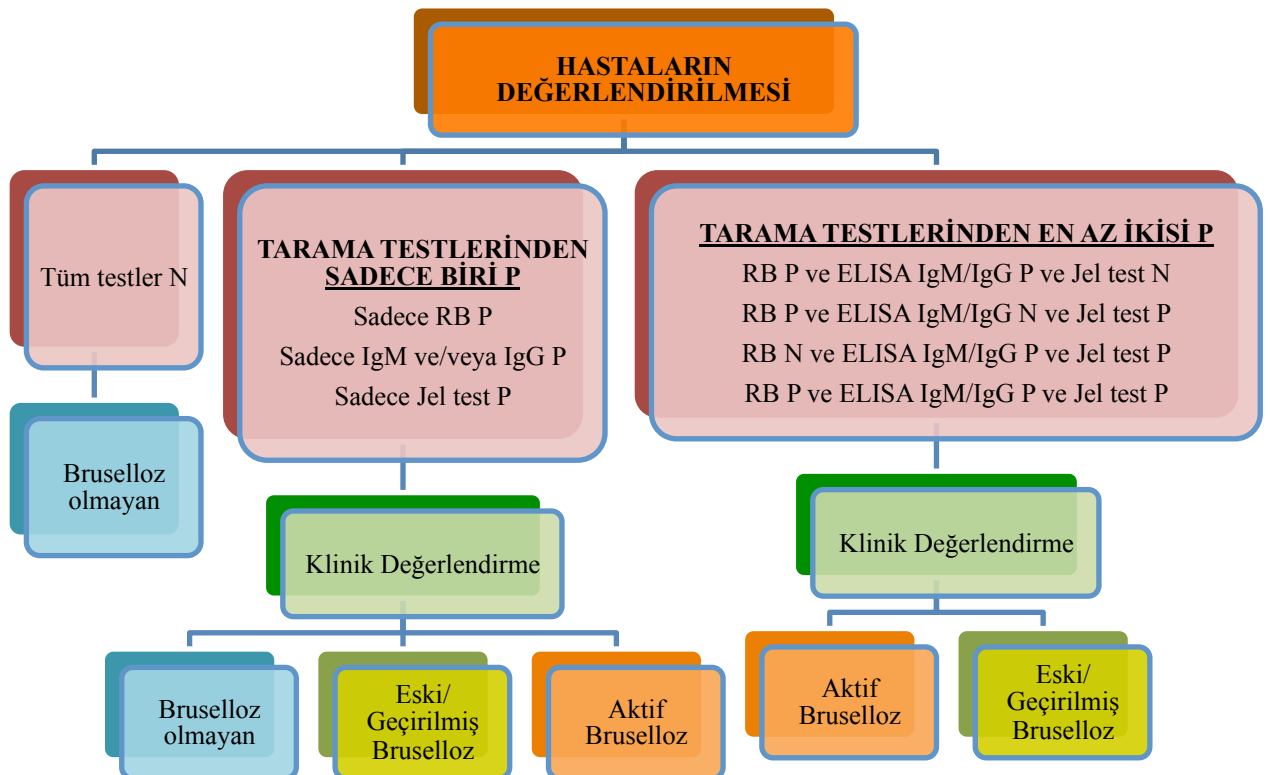
Hastalar laboratuvar sonuçları ve klinik bulguları birlikte değerlendirildikten sonra üç grupta sınıflandırıldı (Şema 3): Aktif bruselloz (grup 1), geçirilmiş bruselloz (grup 2) ve bruselloz olmayan (grup 3).

Grup 1: Laboratuvar kanıtı olan ve başka bir nedenle açıklanamayan ateş, eklem/bel-sırt ağrısı, periferik kan tablosunda rölatif lenfositöz ve/veya olgu rapor formundaki şikayet, fizik muayene ve laboratuvara ait diğer bulgular ile aktif kliniği olan yeni tanılı veya reaktivasyona bağlı bruselloz olduğu düşünülen hastalar “aktif bruselloz” olarak sınıflandırıldı.

Grup 2: Tarama testlerinde pozitiflik olup, geçmişinde bruselloz tanısı ve/veya tedavi alma öyküsü varsa “eski/geçirilmiş bruselloz” olarak sınıflandırıldı.

Grup 3: Sadece bir serolojik test pozitifliği olan ve klinik bulguları başka bir nedenle açıklanan olgular ile herhangi bir laboratuvar kanıtı olmayan olgular “bruselloz olmayan” olarak değerlendirildi.

Şema 3: Hastaların serolojik testler ve klinik değerlendirme ile sınıflandırılması algoritması



3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme:

Testlerin performanslarının değerlendirilmesinde altın standart olarak bir test kullanılmadığından, serolojik test sonuçları ve klinik değerlendirme sonucunda tanımlanan sınıflandırma referans alındı: Aktif bruselloz (yeni enfeksiyon veya reaktivasyon), geçirilmiş/eski bruselloz, referans kabul edildi.

Kullanılan istatistik yöntemleri: duyarlılık, özgülük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD), herhangi bir pozitif sonuç için yalancı pozitif olma olasılığı (PSYP), herhangi bir negatif sonuç için yalancı negatif olma olasılığı (NSYN), herhangi bir test sonucu için pozitif olma olasılığı (HTSP) ve herhangi bir test sonucu için negatif olma olasılığı (HTSN) olarak belirlenmiştir.

4- BULGULAR

4.1.Olgular

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne 07.01.2014 - 28.01.15 tarihleri arasında başvuran ve klinik ön tanısı bruselloz olan 103 hastaya ait serum örnekleri brusella serolojik testleri için çalışmaya alındı. Gerekli klinik bilgilerine ulaşılamayan ve/veya gerekli test tekrarı veya AHG testi için yeterli serumu olmayan ve/veya romatolojik hastalığı olan altı hasta değerlendirme dışı bırakıldı. Geriye kalan 97 hastanın 48'i erkek (% 49.48) ve 49'u kadın(% 50,52) ve yaş ortalaması 47.15 (18 yaş -76 yaş) idi.

Hastaların 46'sı enfeksiyon hastalıkları poliklinik, dördü romatoloji poliklinik, üçü gastroenteroloji poliklinik, ikisi nefroloji poliklinik, ikisi dahiliye poliklinik ve birer tane nöroloji, göğüs hastalıkları, fizik tedavi ve rehabilitasyon, üroloji ve ağrı polikliniklerinden olmak üzere toplam 62'si polikliniklere gelen hastalardan oluşmaktadır. Hastaların 19'u enfeksiyon hastalıkları servisi, beşi dahiliye servisi, dördü nöroloji servisi, üçü acil servisi ve birer tane göz hastalıkları servisi, gastroenteroloji servisi, göğüs hastalıkları servisi ve genel cerrahi servisi olmak üzere toplam 35'i servislerde yatan hastalardan oluşmaktadır (Tablo 6).

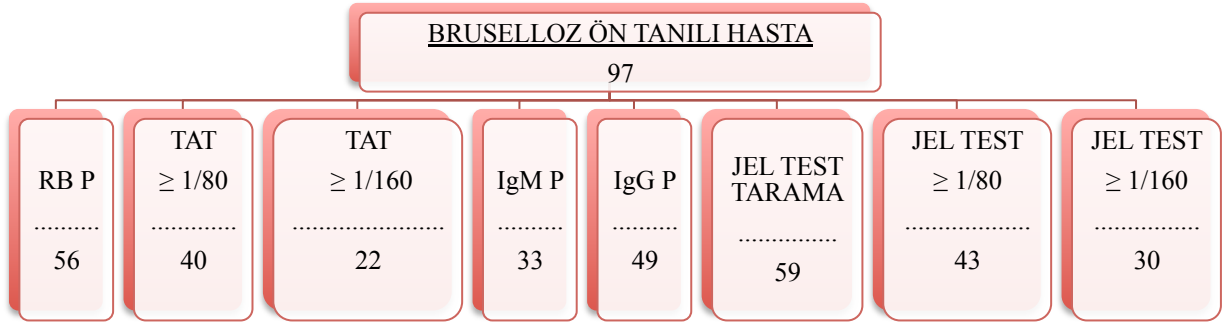
Tablo 6: Hastaların kliniklere göre dağılımı.

POLİKLİNİK	SAYI	KLİNİK	SAYI
Enfeksiyon Hastalıkları polikliniği	46	Enfeksiyon Hastalıkları servisi	19
Romatoloji polikliniği	4	İç Hastalıkları servisi	5
Gastroenteroloji polikliniği	3	Nöroloji servisi	4
İç Hastalıkları polikliniği	2	Acil servisi	3
Nefroloji polikliniği	2	Göz hastalıkları servisi	1
Nöroloji polikliniği	1	Gastroenteroloji servisi	1
Göğüs Hastalıkları polikliniği	1	Göğüs Hastalıkları servisi	1
Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon polikliniği	1	Genel Cerrahi servisi	1
Üroloji polikliniği	1		
Ağrı polikliniği	1		
Toplam poliklinik	62	Toplam yatan hasta	35

4.2.Serolojik Test Sonuçları

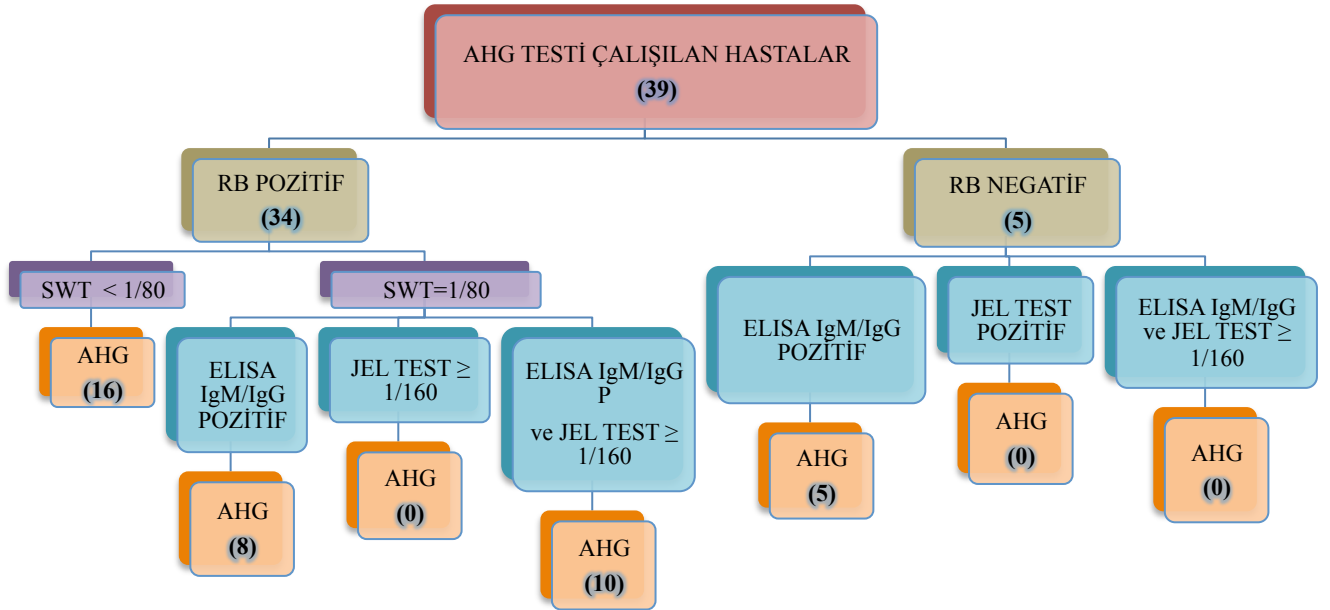
Bruselloz ön tanısıyla çalışmaya alınan 97 hasta örneğinin; 56'sı RB pozitif, 40'ı $SWT \geq 1/80$, 22'si $SWT \geq 1/160$, 33'ü IgM pozitif, 49'u IgG pozitif, 59'u jel test tarama testi pozitif, 43'ü jel test $\geq 1/80$ ve 30'u jel test $\geq 1/160$ olarak bulundu (Şema 4). Tüm tarama testleri (RB, ELISA IgM/IgG, Jel test) negatif olan hasta sayısı 35, Tüm tarama testleri pozitif olan hasta sayısı 51; sadece RB testi pozitif olan hasta yok, sadece RB testi negatif olan hasta sayısı dört; sadece ELISA IgM/IgG testi pozitif olan hasta sayısı iki, sadece ELISA IgM/IgG testi negatif olan hasta sayısı dört; sadece jel test pozitif olan hasta yok, sadece jel test negatif olan hasta sayısı bir olarak bulundu (Tablo 7).

Şema 4: Çalışılan hasta örneklerinin serolojik sonuçları.



Toplam 39 hasta AHG testi ile çalışıldı. Bunlardan 34'ü RB testi pozitif, beşi RB testi negatif idi. RB testi pozitif olan hastalardan 16'sının SWT negatif (SWT $< 1/80$) olduğu için; sekizinin SWT = $1/80$ ve ELISA IgM/IgG testi pozitif olduğu için; onunun SWT = $1/80$ ve ELISA IgM/IgG ve Jel test $\geq 1/160$ olduğu için AHG testi ile çalışıldı. RB testi negatif olan hastaların beşinde de ELISA IgM/IgG testi pozitif olduğu için AHG testi ile çalışıldı (Şema 5).

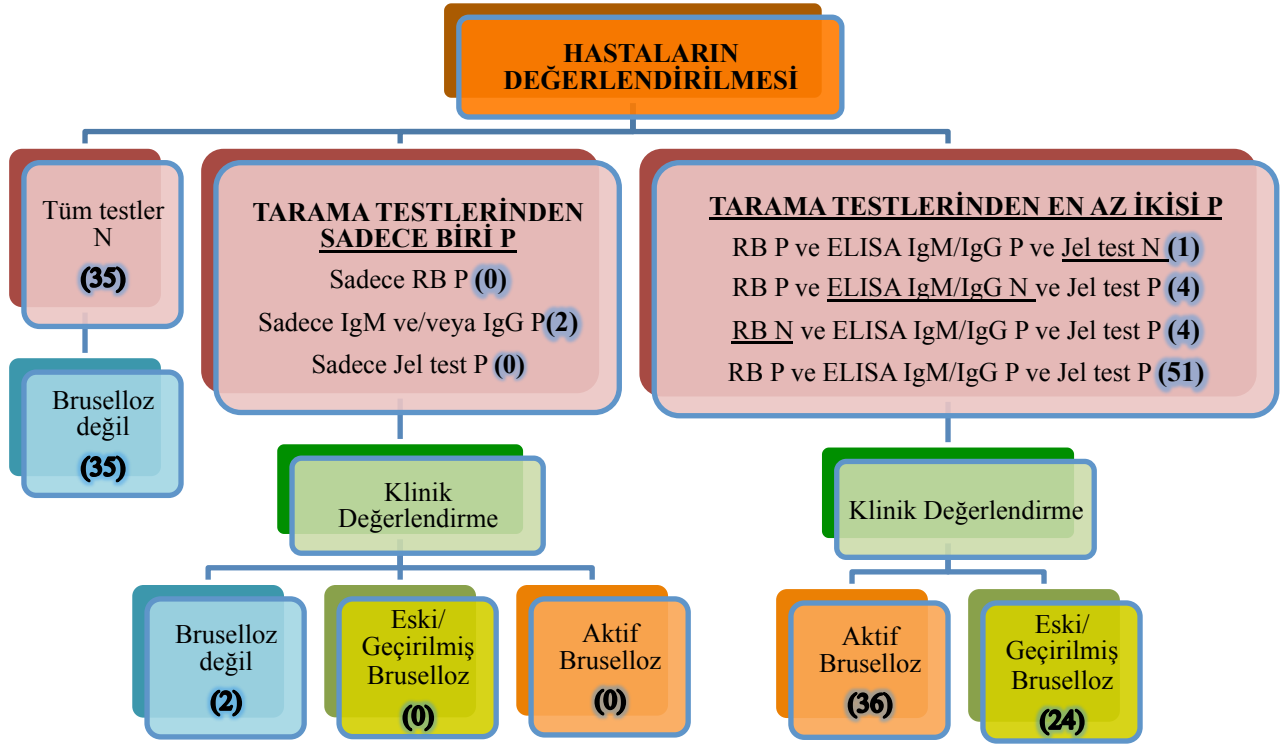
Şema 5: AHG testi çalışılan hastaların şeması.



SWT titrelerinde, 2 ME testiyle çalışıldığında azalma toplam 15 hastada olmuştur. Bu hastaların hepside grup 1'dedir (aktif bruselloz). Bunların yedisinde, SWT $\geq 1/160$ olup bir kat titre azalması; birinde SWT $\geq 1/160$ olup iki kat titre azalması; birinde SWT $\geq 1/160$ olup üç kat titre azalması olmuştur (SWT $\geq 1/160$ olup, 2 ME testi $\leq 1/80$ olan dört hasta vardı). SWT = $1/80$ olan hastaların dört tanesinde titre azalması mevcuttu.

Serolojik test sonuçları (Tablo 7) ve klinik değerlendirmeye göre üç gruba ayrılan hasta sayıları şemada gösterilmektedir. Aktif bruselloz olanlar / grup 1 geçirilmiş/eski bruselloz olanlar /grup 2 ve bruselloz olmayanlar /grup 3 (Şema 6).

Şema 6: Serolojik test sonuçlarına ve klinik değerlendirmeye göre hastaların sınıflandırılması.



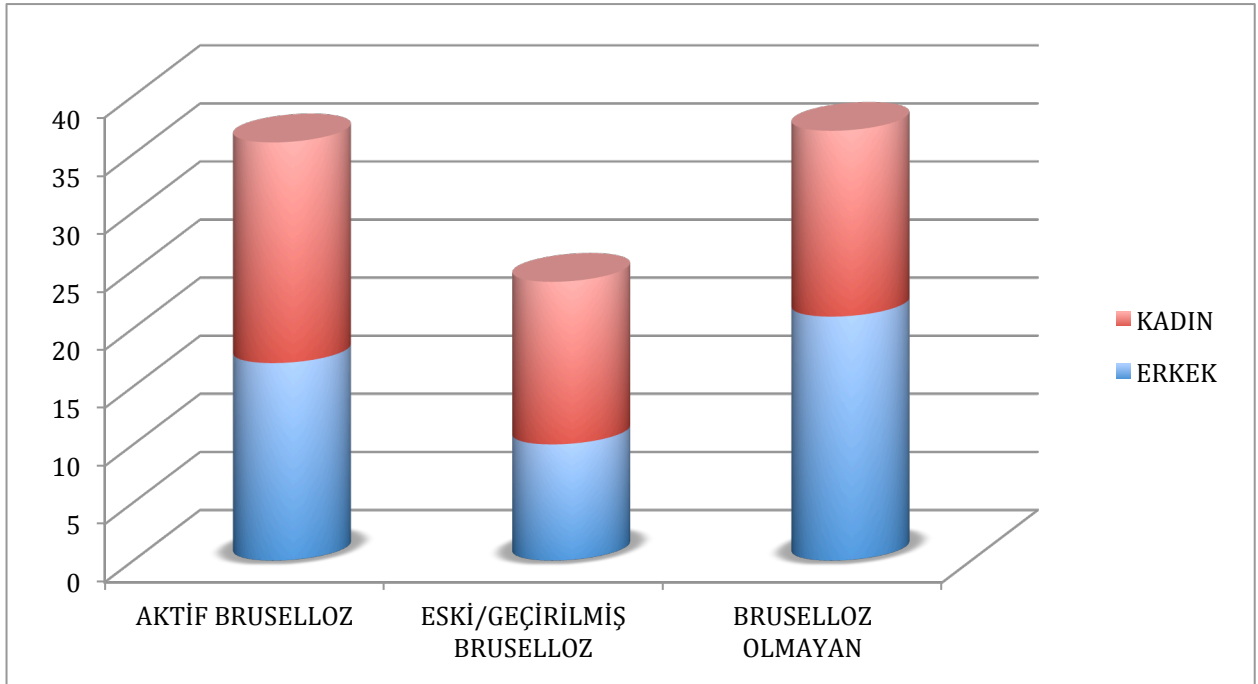
Tablo 7: Tüm tarama testi sonuçlarının gruplara göre dağılımı.

TARAMA TEST SONUÇLARI	Toplam Sayı	Aktif bruselloz	Geçirilmiş bruselloz	Bruselloz olmayan
Tüm testler N	35	0	0	35
Sadece RB P	0	0	0	0
Sadece ELISA (IgM ve/veya IgG) P	2	0	0	2
Sadece jel test P	0	0	0	0
RB P, ELISA P, jel test N	1	0	1	0
RB P, ELISA N, jel test P	4	0	4	0
RB N, ELISA P, jel test P	4	1	3	0
RB P, ELISA P, jel test P	51	35	16	0
Toplam	97	36	24	37

4.3. Gruplara Göre Olguların Dağılımı

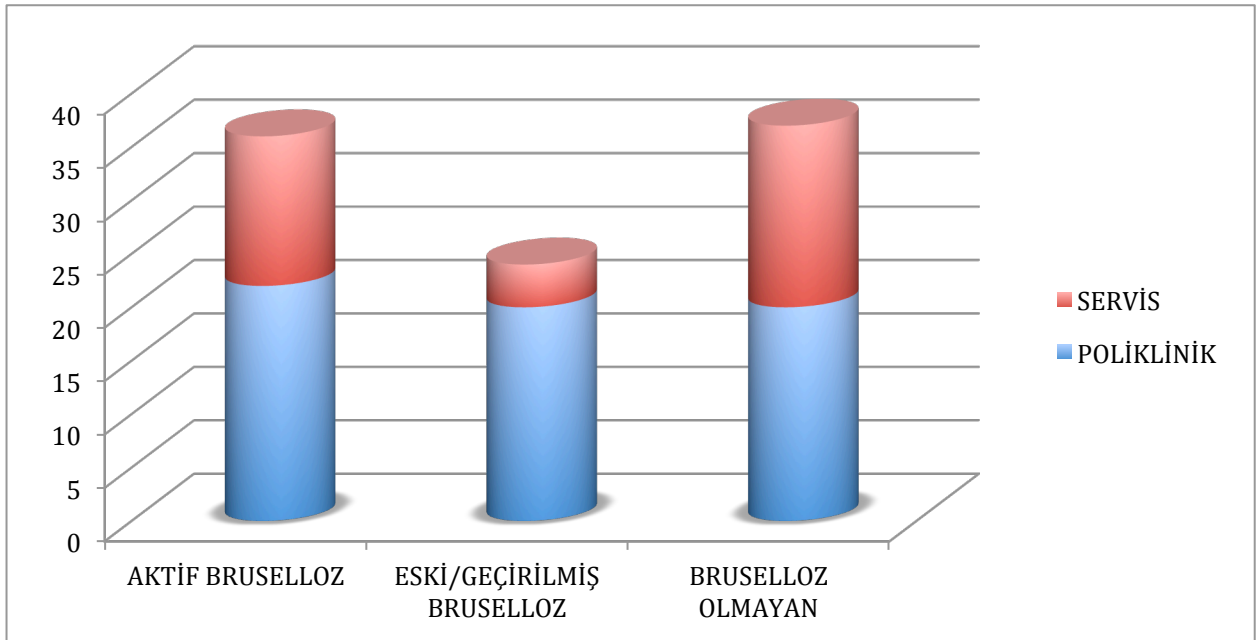
Aktif bruselloz olan hasta sayısı 36 olup 17 erkek (% 47.22) ve 19 kadın (% 52.77) hastadan oluşmaktadır (yaş ortalaması 48.83). Geçirilmiş/takipli bruselloz olan hasta sayısı 24 olup 10 erkek (% 41.66) ve 14 kadın (%58.33) hastadan oluşmaktadır (yaş ortalaması 45.16). Bruselloz olmayan hasta sayısı 37 olup 21 erkek (% 56.75) ve 16 kadın (% 43.24) hastadan oluşmaktadır (yaş ortalaması 46.81) (Şema 7).

Şema 7: Gruplardaki kişi sayılarının ve kadın – erkek sayılarının birbirlerine göre durumu.



Örneklerin geldikleri poliklinik – servis dağılımı; 62 poliklinik (grup 1; 22, grup 2; 20, grup 3; 20) ve 35 servis (grup1; 14, grup 2; 4, grup 3; 17) şeklindedir (Şema 8).

Şema 8: Gelen örneklerin servis / poliklinik ve gruplara göre dağılımı.



Olguların test sonuçları, yaş, cinsiyet ve geldikleri klinik-poliklinik bilgileri tablolarda gösterilmektedir (Tablo 8 , Tablo 9, Tablo 10, Tablo 11).

Tablo 8: Grup 1'deki (aktif bruselloz) hastaların yaş, cinsiyet, geldikleri poliklinik-servis durumları ve laboratuvar sonuçları.

SAYI	CİNSİYET	YAŞ	AGLÜTİNASYON TESTLERİ				EIA		AHG'Lİ JEL TEST		KLİNİK	KÜLTÜR		
			RB	SWT	2ME	AHG	P-N-SD	P-N-GD	P-N-SD	TİTRASYON		VAR-YOK	TARİH	ETKEN
1	ERKEK	52	P	1/160	1/160		ZP	P	P	1/320	ENF. P.	YOK		
2	ERKEK	65	P	1/80	1/80	1/160	P	P	P	1/160	ACİL SER.	VAR		Ü. YOK
3	ERKEK	33	P	1/640	1/320		P	P	P	1/320	ENF. S.	YOK		
4	KADIN	45	P	1/320	1/160		P	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
5	KADIN	50	P	1/80	1/40	1/80	P	P	P	1/80	ENF. P.	YOK		
6	ERKEK	72	P	1/160	1/80		P	P	P	1/80	ENF. P.	YOK		
7	KADIN	55	P	1/80	1/80	1/640	N	P	P	1/320	ENF. P.	YOK		
8	ERKEK	41	P	1/80	1/80	1/160	ZP	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
9	KADIN	62	P	>1/640	>1/640		P	ZP	P	1/320	DAH. S.	VAR	17.03.14	B. melitensis
10	KADIN	38	P	1/160	1/160		ZP	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
11	KADIN	54	P	1/320	1/320		P	P	P	1/320	DAH. S.	VAR		Ü. YOK
12	ERKEK	59	P	1/640	1/320		P	ZP	P	1/320	ACİL SER.	YOK		
13	KADIN	27	P	1/80	1/80	1/80	ZP	N	P	1/40	ENF. P.	YOK		
14	ERKEK	65	P	1/320	1/160		P	P	P	1/320	ENF. S.	VAR		Ü. YOK
15	ERKEK	61	P	1/80	1/80	1/640	P	P	P	1/320	DAH. S.	YOK		
16	ERKEK	44	P	1/80	N	1/160	P	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
17	ERKEK	52	P	1/320	1/320		N	P	P	1/320	ENF. P.	YOK		
18	ERKEK	71	P	1/320	1/320		P	P	P	1/320	G. CER. S.	VAR	23.01.14	B. melitensis
19	KADIN	39	P	1/160	1/160		ZP	N	P	1/160	ENF. P.	YOK		
20	ERKEK	41	P	1/640	1/640		ZP	P	P	1/320	ENF. S.	YOK		
21	KADIN	34	P	1/160	1/80		ZP	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
22	ERKEK	64	P	<1/80	1/40	1/640	ZP	P	P	1/320	GÖĞÜS S.	YOK		
23	KADIN	50	P	<1/80	1/20	1/320	N	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
24	KADIN	62	P	1/320	N		P	P	P	1/80	DAH. P.	YOK		
25	KADIN	36	P	<1/80	<1/80	1/80	P	N	P	1/40	ENF. P.	YOK		
26	KADIN	57	P	1/80	1/80	1/80	P	P	P	1/160	ENF. S.	YOK		
27	ERKEK	46	N			1/160	P	P	P	1/40	NÖROLOJİ S.	YOK		
28	ERKEK	64	P	1/640	1/640		N	P	P	1/320	ACİL SER.	VAR	13.06.14	B. melitensis
29	KADIN	54	P	1/160	1/160		N	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
30	KADIN	33	P	1/80	1/20	1/80	P	P	P	1/80	ENF. P.	YOK		
31	KADIN	50	P	1/160	1/40		P	N	P	1/80	ENF. P.	YOK		
32	KADIN	34	P	1/80	1/40	1/160	P	N	ZP	<1/40	NÖROLOJİ S.	YOK		
33	ERKEK	32	P	1/80	1/40	1/640	N	P	P	1/320	ENF. P.	YOK		
34	KADIN	41	P	1/160	1/160		P	P	P	1/320	GASTR. P.	YOK		
35	ERKEK	50	P	1/640	1/320		P	N	P	1/40	ENF. P.	YOK		
36	KADIN	25	P	1/80	1/40	1/160	P	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		

(SD: Sınır Değer = ZP: Zayıf Pozitif)

Tablo 9: Grup 2'deki (Eski-geçirilmiş bruselloz) hastaların yaş, cinsiyet, geldikleri poliklinik-servis durumları ve laboratuvar sonuçları

SAYI	CİNSİYET	YAŞ	AGLÜTİNASYON TESTLERİ				EIA		AHG'Lİ JEL TEST		KLİNİK	KÜLTÜR			
			RB	SWT	2ME	AHG	P-N-SD	P-N-GD	P-N-SD	TİTRASYON		VAR-YOK	TARİH	ETKEN	
1	ERKEK	48	P	1/80	1/80	1/80	N	N	P	P	1/80	ENF. P.	YOK		
2	KADIN	73	P	<1/80	1/40	N	N	N	P	P	1/80	ROM. P.	YOK		
3	KADIN	68	ZP	<1/80	1/40	N	N	N	ZP	<1/40	GASTR. P.	YOK			
4	ERKEK	61	P	<1/80	1/20	N	N	N	ZP	<1/40	ÜR. P.	YOK			
5	KADIN	39	P	<1/80	1/40	N	N	N	ZP	<1/40	ENF. P.	YOK			
6	KADIN	33	ZP	<1/80	1/40	N	N	N	P	1/40	GASTR. P.	VAR		Ü. YOK	
7	ERKEK	32	P	<1/80	1/40	N	N	N	P	1/40	ENF. P.	YOK			
8	KADIN	50	N	<1/80		<1/80	N	N	P	P	1/80	ENF. P.	YOK		
9	KADIN	39	P	<1/80	1/80	1/80	N	N	P	ZP	1/40	FTR	YOK		
10	KADIN	31	P	1/80	1/80	1/80	P	N	N		ENF. P.	YOK			
11	KADIN	44	P	1/160	1/160		N	P	P	1/80	ENF. P.	YOK			
12	ERKEK	55	P	1/80	1/80		N	N	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
13	ERKEK	25	ZP	N			N	N	P	ZP	<1/40	ENF. P.	YOK		
14	KADIN	35	N				N	N	P	ZP	<1/40	ENF. P.	YOK		
15	ERKEK	51	N				N	N	P	ZP	<1/40	NEFR. P.	YOK		
16	ERKEK	36	P	<1/80	1/40	N	N	N	P	P	1/80	GASTRO S.	VAR		Ü. YOK
17	ERKEK	36	P	1/80	1/80	N	N	N	P	P	1/160	ENF. P.	YOK		
18	ERKEK	26	ZP	N	N	N	N	N	P	P	1/160	ENF. S.	VAR		Ü. YOK
19	KADIN	57	P	<1/80	1/40	N	N	N	P	1/40	ENF. P.	YOK			
20	KADIN	59	P	N	N	N	N	N	P	1/40	DAH. S.	VAR		Ü. YOK	
21	ERKEK	25	P	N	N	1/80	N	N	P	ZP	<1/40	NEFR. P.	YOK		
22	KADIN	33	P	1/80	1/80	N	P	N	P	1/80	GÖĞÜS P.	YOK			
23	KADIN	76	P	1/160	1/160		N	P	P	1/160	DAH. S.	YOK			
24	KADIN	52	P	N	N	N	N	N	P	1/80	ENF. P.	YOK			

(SD: Sınır Değer = ZP: Zayıf Pozitif)

Tablo 10: Grup 3'deki (Bruselloz olmayan) hastaların yaş, cinsiyet, geldikleri poliklinik-servis durumları ve laboratuvar sonuçları.

SAYI	CİNSİYET	YAŞ	AGLÜTİNASYON TESTLERİ				EIA		AHG'li JEL TEST		Klinik	KÜLTÜR		
			RB	SWT	ZME	AHG	IgM	IgG	P-N-SD	TRASYO		VAR-YOK	TARİH	ETKEN
							P-N-SD	P-N-SD						
1	ERKEK	25	N				N	N	N		DAH. P.	YOK		
2	ERKEK	38	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
3	ERKEK	54	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
4	KADIN	69	N				N	N	N		ENF. HEP. P.	YOK		
5	ERKEK	55	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
6	KADIN	61	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
7	KADIN	41	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
8	ERKEK	47	N				N	N	N		ROM. P.	VAR		Ü. YOK
9	ERKEK	22	N				N	N	N		NÖROLOJİ S.	YOK		
10	ERKEK	43	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
11	KADIN	41	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
12	KADIN	53	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
13	ERKEK	41	N				N	N	N		AĞRI K.	YOK		
14	KADIN	61	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
15	KADIN	54	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
16	ERKEK	67	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
17	KADIN	46	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
18	KADIN	50	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
19	ERKEK	65	N				N	N	N		NÖROLOJİ S.	YOK		
20	ERKEK	29	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
21	ERKEK	27	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
22	KADIN	43	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
23	ERKEK	64	N				N	N	N		ENF. S.	VAR		Ü. YOK
24	KADIN	29	N				N	N	N		GÖZ S.	YOK		
25	KADIN	18	N				N	N	N		ENF. S.	YOK		
26	ERKEK	58	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
27	ERKEK	30	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
28	ERKEK	64	N				N	N	N		ENF. S.	YOK		
29	ERKEK	52	N				N	N	N		NÖROLOJİ P	YOK		
30	KADIN	58	N				N	P	N	N	ENF. S.	VAR		Ü. YOK
31	ERKEK	49	N				N	N	N		ENF. S.	YOK		
32	ERKEK	32	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
33	KADIN	50	N				N	N	N		ENF. P.	YOK		
34	ERKEK	52	N				N	N	ZP	N	ENF. S.	YOK		
35	ERKEK	41	N				N	N	N		ROM. P.	YOK		
36	KADIN	44	N				N	N	N		ENF. S.	YOK		
37	KADIN	59	N				N	N	N		ROM. P.	YOK		

(SD: Sınır Değer = ZP: Zayıf Pozitif)

4.4.Kan Kültürü Sonuçları

Kan kültürü isteği yapılan 20 (Grup 1; 6, grup 2; 4, grup 3; 10) hasta örneğinin sadece üçünde üreme oldu. Bu 20 hastanın ikisi polikliniklerden (Romatoloji - Gastroenteroloji), geriye kalan 18'i serviste yatan hastalardan istenmişti. Üreme olan üç örnek de aktif bruselloz grubundaydı; biri İç Hastalıkları servisinde, biri Genel Cerrahi servisinde, biri de Acil servisten gönderilmişti. Üçünün serolojik testlerinin hepsi pozitif, SWT \geq 320 ve AHG'li jel testi titresi 320 idi.

4.5.İstatistiksel Analiz

İstatiksel olarak tüm testlerin % 95 güven aralığında duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD), herhangi bir test sonucu için pozitif olma olasılığı (HTSP)ve herhangi bir test sonucu için negatif olma olasılığı (HTSN) hesaplandı. Testlerin duyarlılıkları Grup 1 ve grup 2 için ayrı ayrı hesaplanarak karşılaştırıldı (Tablo 12-27).

Tablo 11: RB testinin sonuçları.

RB	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	56	0	56
NEGATİF	4	37	41
TOPLAM	60	37	97

Tablo 12: SWT testinde 1/80 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.

SWT (1/80)	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	40	0	40
NEGATİF	20	37	57
TOPLAM	60	37	97

Tablo 13: SWT testinde 1/160 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.

SWT (1/160)	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	22	0	22
NEGATİF	38	37	75
TOPLAM	60	37	97

Tablo 14: SWT ve AHG testi birlikte değerlendirildiğinde 1/80 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.

AHG + SWT (1/80)	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	45	0	45
NEGATİF	15	37	52
TOPLAM	60	37	97

Tablo 15: SWT ve AHG testi birlikte değerlendirildiğinde 1/160 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.

AHG + SWT (1/160)	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	33	0	33
NEGATİF	27	37	64
TOPLAM	60	37	97

Tablo 16: IgM testinin sonuçları.

IgM	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	32	1	33
NEGATİF	28	36	64
TOPLAM	60	37	97

Tablo 17: IgG testinin sonuçları.

IgG	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	48	1	49
NEGATİF	12	36	48
TOPLAM	60	37	97

Tablo 18: IgM ve IgG testi birlikte değerlendirildiğinde sonuçlar.

IgM ve/veya IgG	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	57	2	59
NEGATİF	3	35	38
TOPLAM	60	37	97

Tablo 19: AHG'li Jel tarama testinin sonuçları.

JEL TEST TARAMA	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	59	0	59
NEGATİF	1	37	38
TOPLAM	60	37	97

Tablo 20: AHG'li Jel testinde 1/80 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.

JEL TEST (1/80)	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	43	0	43
NEGATİF	17	37	54
TOPLAM	60	37	97

Tablo 21: AHG'li Jel testinde 1/160 ve üzeri titreler pozitif alındığında sonuçlar.

JEL TEST (1/160)	BRUSELLOZ +	BRUSELLOZ -	TOPLAM
POZİTİF	30	0	30
NEGATİF	30	37	67
TOPLAM	60	37	97

Tablo 22: Tüm hasta örneklerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması.

TEST SONUCU	RB	SWT (1/80)	SWT (1/160)	AHG + SWT (1/80)	AHG + SWT (1/160)	IgM	IgG	IgM + IgG	JEL TEST (TARAMA)	JEL TEST (1/80)	JEL TEST (1/160)
Duyarlılık (%)	93.33	66.66	36.66	75	55	53.33	80	95	98.33	71.66	50
Özgüllük (%)	100	100	100	100	100	97.29	97.29	94.59	100	100	100
PPD (%)	100	100	100	100	100	96.96	97.95	96.61	100	100	100
NPD (%)	90.24	64.91	49.33	71.15	57.81	56.25	75	92.1	97.36	68.51	55.22
HTSP (%)	57.73	41.23	22.68	46.39	34.02	34.02	50.51	60.82	60.82	44.32	30.92
HTSN (%)	42.26	58.76	77.31	53.60	65.97	65.97	49.48	39.17	39.17	55.67	69.07

TABLO 23: Tüm hasta örneklerinden elde edilen sonuçların % 95 güven aralığında karşılaştırılması.

TESTLER (% 95 GÜVEN ARALIĞI)	TEST SONUCU	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)	HTSP (%)	HTSN (%)
RB		93.33	100	100	90.24	57.73	42.26
Düşük limit		82.99	88.28	92.002	75.94	47.28	32.43
Yüksek limit		97.84	100	100	96.82	67.56	52.71
SWT (1/80)		66.66	100	100	64.91	41.23	58.76
Düşük limit		53.20	88.28	89.08	51.05	31.47	48.30
Yüksek limit		77.98	100	100	76.75	51.69	68.52
SWT (1/160)		36.66	100	100	49.33	22.68	77.31
Düşük limit		24.89	88.28	81.50	37.69	15.04	67.48
Yüksek limit		50.15	100	100	61.03	32.51	84.95
AHG + SWT (1/80)		75	100	100	71.15	46.39	53.60
Düşük limit		61.87	88.28	90.20	56.72	36.30	43.23
Yüksek limit		84.89	100	100	82.45	56.76	63.69
AHG + SWT (1/160)		55	100	100	57.81	34.02	65.97
Düşük limit		41.69	88.28	87.01	44.84	24.89	55.57
Yüksek limit		67.66	100	100	69.83	44.42	75.10
IgM		53.33	97.29	96.96	56.25	34.02	65.97
Düşük limit		51.39	84.19	82.48	43.32	24.89	55.57
Yüksek limit		71.36	99.85	99.84	68.41	44.42	75.10
IgG		80	97.29	97.95	75	50.51	49.48
Düşük limit		67.29	84.19	87.76	60.11	40.24	39.25
Yüksek limit		88.80	99.85	99.89	85.89	60.74	59.75
IgM + IgG		95	94.59	96.61	92.1	60.82	39.17
Düşük limit		85.17	80.46	87.25	77.51	50.35	29.57
Yüksek limit		98.69	99.05	99.41	97.93	70.42	49.64
JEL TEST (TARAMA)		98.33	100	100	97.36	60.82	39.17
Düşük limit		89.86	88.28	92.38	84.56	50.35	29.57
Yüksek limit		99.91	100	100	99.86	70.42	49.64
JEL TEST (1/80)		71.66	100	100	68.51	44.32	55.67
Düşük limit		58.35	88.28	89.78	54.3	34.36	45.24
Yüksek limit		82.18	100	100	80.09	54.57	65.63
JEL TEST (1/160)		50	100	100	55.22	30.92	69.07
Düşük limit		36.95	88.28	85.86	42.63	22.14	58.76
Yüksek limit		63.04	100	100	67.21	41.13	77.85

Tablo 24: Grup 1’de (Aktif bruselloz) testlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması.

TEST SONUCU	RB	SWT (1/80)	SWT (1/160)	AHG + SWT (1/80)	AHG + SWT (1/160)	IgM	IgG	IgM + IgG	JEL TEST (TARAMA)	JEL TEST (1/80)	JEL TEST (1/160)
Pozitif	35	32	20	36	31	30	30	36	36	32	26
Negatif	1	4	16	0	5	6	6	0	0	4	10
Duyarlılık (%)	97.22	88.88	55.55	100	86.11	83.33	83.33	100	100	88.88	72.22

Tablo 25: Grup 2’de (Eski / geçirilmiş bruselloz) testlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması.

TEST SONUCU	RB	SWT (1/80)	SWT (1/160)	AHG + SWT (1/80)	AHG + SWT (1/160)	IgM	IgG	IgM + IgG	JEL TEST (TARAMA)	JEL TEST (1/80)	JEL TEST (1/160)
Pozitif	21	8	2	9	2	2	18	21	23	11	4
Negatif	3	16	22	15	22	22	6	3	1	13	20
Duyarlılık (%)	87.5	33.33	8.33	37.5	8.33	8.33	75	87.5	95.83	45.83	16.66

Tablo 26: Grup 1 ve grup 2 birlikte alındığında testlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması.

GRUP 1 VE GRUP 2’NİN DUYARLILIKLARI (%)	RB	SWT (1/80)	SWT (1/160)	AHG + SWT (1/80)	AHG + SWT (1/160)	IgM	IgG	IgM + IgG	JEL TEST (TARAMA)	JEL TEST (1/80)	JEL TEST (1/160)
GRUP 1	97.22	88.88	55.55	100	86.11	83.33	83.33	100	100	88.88	72.22
GRUP 2	87.5	33.33	8.33	37.5	8.33	8.33	75	87.5	95.83	45.83	16.66
GRUP 1 + 2	93.33	66.66	36.66	75	55	53.33	80	95	98.33	71.66	50

5-TARTIŞMA VE SONUÇ

Olası bir bruselloz vakasının tanısı, rutin hematolojik ve biyokimyasal laboratuvar testleri, radyolojik tetkikler ve brusellaya özgü testler olmak üzere çeşitli yaklaşımların bir arada değerlendirilmesini gerektirir. Kan, kemik iliği ve doku örneklerinden brusella türleri izole edilmesi altın standart yöntem olarak kabul edilir. Ancak; etyolojik ajanın izolasyon oranı hastalığın evresine, antibiyotik kullanımına etken olan brusella türüne, kültür ortamına ve kullanılan tekniğe bağlı olarak düşüktür. Çalışmamızda 97 hastadan sadece 20'sinde kan kültürü isteği yapılmış ve sadece üçünde üreme saptanmıştır (% 2.91). Bu 20 hastanın ikisi polikliniklerden, 18'i serviste yatan hastalardan istenmiştir. Aktif bruselloz grubunda olan hastalardan sadece altısından kan kültürü istendiği görülmektedir. Üreme saptanan üç örneğin de aktif bruselloz grubundan olduğu dikkate alınırsa, doğru hastadan uygun şekilde kan kültürü alınmasıyla kültürün etkinliği artacaktır (% 50). Bu sonuçlara göre aktif kliniği olan hastalarda daha fazla kan kültürü isteği yapılması önerilir. Rutinde kültürde üremenin az olması nedeniyle brusellozun laboratuvar tanısı çoğunlukla serolojik ve daha az oranda moleküler testlere dayanmaktadır. Klasik aglütinasyon testlerinin, bireysel ve laboratuvarlar arası farklı değerlendirilme olasılığı nedeniyle standardizasyon sorununa karşı kullanılmaya başlanan ve kısa sürede daha çok örnek çalışılabilen Enzimli İmmünolojik test (Enzyme - Linked immunosorbent assay (ELISA) ve Anti insan globulin'li (Anti human Globulin - AHG) jel test gibi alternatif yöntemlerin aglütinasyon testlerinin yerini alıp alamayacağı değerlendirilmelidir.

İnsan brusellozunun laboratuvar tanısında kullanılan serolojik testlerin karşılaştırılması amacıyla 04.07.2012-29.08.2013 tarihleri ve 17.06.2013-29.08.2013 tarihlerinde yapmış olduğumuz çalışmalarda test sonuçlarını değerlendirebilmek doğru değerlendirebilmek için klinik bilgi ve izlem gerektiği sonucuna varılmıştı (1). Bu amaçla, RB testi, SWT, 2ME testi, AHG'li aglütinasyon testi, ELISA IgG ve IgM testi ve AHG'li jel testin birlikte çalışılacağı prospektif bir çalışma planlayarak laboratuvar çalışma koşullarına uygun bir laboratuvar tanı algoritması önermeyi amaçladık.

Bu amaçla yürüttüğümüz çalışmada klinik ön tanısı bruselloz olan 103 hastaya ait serum örnekleri RB, ELISA IgM, ELISA IgG ve AHG'li jel test çalışıldı. RB pozitif örnekler SWT ile çalışıldı. $SWT \geq 1/80$ olanlar 2-ME testi ile çalışıldı. $SWT < 1/80$ olan örnekler AHG testi ile çalışıldı. $SWT < 1/160$ ve ELISA IgM/IgG pozitif ve/veya Jel test $\geq 1/160$ olan örnekler, SWT testindeki düşüklüğün blokan antikorlar nedeniyle mi olduğunu belirlemek için AHG testi ile çalışıldı. RB testi negatif örnekler ELISA IgM ve/veya ELISA IgG testi pozitif ve/veya jel test pozitif olan örnekler, aglütinasyon testi negatifliğinin blokan antikorlar nedeniyle mi olduğunu belirleyebilmek amacıyla AHG testi ile çalışıldı.

Hastaların klinik bilgisi ve laboratuvar bulguları ile öyküsünü kaydetmek için bir olgu rapor formu hazırlandı. Gerekli klinik bilgilerine ulaşılamayan ve/veya gerekli test tekrarı veya AHG testi için yeterli serumu olmayan ve/veya romatolojik hastalığı olan altı hasta değerlendirme dışı bırakıldı. Geriye kalan 97 hastanın 48'i erkek (% 49.48) ve 49'u kadın (% 50,52) ve yaş ortalaması 47.15 (18 yaş - 76 yaş) idi. Çalışmamızın amaçları arasında olmadığından kadın-erkek cinsiyet arasında anlamlı bir fark olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirilmedi.

Hastaların 46'sı Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği, dördü Romatoloji Polikliniği, üçü Gastroenteroloji Polikliniği, ikisi Nefroloji Polikliniği, ikisi Dahiliye Polikliniği ve birer tane Nöroloji, Göğüs Hastalıkları, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, Üroloji ve Ağrı Polikliniklerinden olmak üzere toplam 62'si polikliniklere gelen hastalardan oluşuyordu. Hastaların 19'u Enfeksiyon Hastalıkları Servisi, beşi Dahiliye Servisi, dördü Nöroloji Servisi, üçü Acil Servis ve birer tane Göz Hastalıkları Servisi, Gastroenteroloji servisi, Göğüs Hastalıkları Servisi ve Genel Cerrahi servisi

olmak üzere toplam 35'i servislerde yatan hastalardan oluşuyordu (Tablo 7). En çok hasta örneği başta Enfeksiyon hastaları poliklinik (46 hasta) olmak üzere polikliniklerden (62 hasta) ve Enfeksiyon hastalıkları servisinden (19 hasta) gelmişti. Bunların dışında bruselloz birçok organ veya sistemin tutulduğu, çeşitli klinik tablolar şeklinde görülen, sistemik bir enfeksiyon hastalığı olduğundan; birçok servis ve poliklinikten bruselloz ön tanısıyla hasta takibi yapılmaktadır.

Bruselloz ön tanısıyla çalışmaya alınan 97 hasta örneğinin; 56'sı RB pozitif, 40'ı $SWT \geq 1/80$ (SWT), 22'si $SWT \geq 1/160$, 33'ü IgM pozitif, 49'u IgG pozitif, 59'u jel test tarama testi pozitif, 43'ü jel test $\geq 1/80$ ve 30'u jel test $\geq 1/160$ olarak bulundu (Şema 4).

Ön çalışma sonuçları ve literatür verilerine dayanarak, ELISA IgM ve/veya IgG pozitifliğinin total olarak ELISA pozitif şeklinde değerlendirilmesine karar verildi. Toplam 39 hasta örneğinde AHG testi ile çalışmaya ihtiyaç oldu. Bunlardan 34'ü RB testi pozitif, beşi RB testi negatif idi. RB testi pozitif olan hastalardan 16'sı SWT negatif ($SWT < 1/80$) olduğu için; sekizi $SWT = 1/80$ ve ELISA IgM/IgG testi pozitif olduğu için; onu $SWT = 1/80$ ve ELISA IgM/IgG pozitif ve Jel test $\geq 1/160$ olduğu için AHG testi ile çalışıldı. RB testi negatif olan hastaların beşinde ELISA IgM/IgG testi pozitif olduğu için AHG testi ile çalışıldı (Şema 5).

Tüm tarama testleri (RB, ELISA IgM/IgG, Jel test) negatif olan hasta sayısı 35, Tüm tarama testleri pozitif olan hasta sayısı 51; sadece RB testi pozitif olan hasta yok, sadece RB testi negatif olan hasta sayısı dört; sadece ELISA IgM/IgG testi pozitif olan hasta sayısı iki, sadece ELISA IgM/IgG testi negatif olan hasta sayısı dört; sadece jel test pozitif olan hasta yok, sadece jel test negatif olan hasta sayısı bir olarak bulundu. Bu durumda 86 hastada bruselloz tarama testlerinin tümü tutarlı bulunmuştur (% 88.65).

Hastalar laboratuvar sonuçları ve klinik bulguları ile birlikte değerlendirildikten sonra üç grupta sınıflandırılarak testlerin performansları bu gruplara göre değerlendirildi (Şema 3): Aktif bruselloz/grup 1 (Tablo 9), geçirilmiş bruselloz/grup 2 (Tablo 10) ve bruselloz olmayan/grup 3 (Tablo 11).

Aktif bruselloz olan hasta sayısı 36 olup 17 erkek (% 47.22) ve 19 kadın (% 52.77) hastadan oluşmaktadır (yaş ortalaması 48.83). Geçirilmiş/takipli bruselloz olan hasta sayısı 24 olup 10 erkek (% 41.66) ve 14 kadın (%58.33) hastadan oluşmaktadır (yaş ortalaması 45.16). Bruselloz olmayan hasta sayısı 37 olup 21 erkek (% 56.75) ve 16 kadın (% 43.24) hastadan oluşmaktadır (yaş ortalaması 46.81) (Şema 7). Örneklerin geldikleri poliklinik – servis dağılımı; 62 poliklinik (grup 1; 22, grup 2; 20, grup 3; 20) ve 35 servis (grup1; 14, grup 2; 4, grup 3; 17) şeklindedir (Şema 8). Çalışmamızın amaçları arasında olmadığından gruplardaki kadın-erkek cinsiyet dağılımı ve poliklinik – servis dağılımı arasında ve yaş ortalamaları arasında anlamlı bir fark olup olmadığı değerlendirilmedi.

Testlerin performansları değerlendirilirken duyarlılık ve özgüllük yönünden altın standart veya referans bir test kullanılması uygun bulunmadığından, laboratuvar sonuçları ve klinik bulguları ile birlikte değerlendirilerek bruselloz olan (aktif veya eski/geçirilmiş) ve bruselloz olmayan gruplar baz alınarak analiz yapıldı. Duyarlılığı en yüksek olan tarama testi % 98.33 ile jel test olarak bulundu. Bunu % 95 ile ELISA IgM/IgG % 93.33 ile RB testi takip ediyordu. Aktif (grup 1) ve geçirilmiş (grup 2) grupları içinde testlerin duyarlılıkları ayrı ayrı hesaplandığında ise; aktif brusellozu olan grupta duyarlılığı en yüksek olan tarama testi % 100 ile jel test ve % 100 ile ELISA IgM/IgG testleri bulundu. Bunu % 97.22 ile RB testi takip ediyordu. Geçirilmiş bruselloz grubunda ise duyarlılığı en yüksek olan tarama testi % 95.83 ile jel test iken bunu % 87.5 ile ELISA IgM/IgG ve % 87.5 ile RB testi takip ediyordu.

RB testinin tanı kapasitesi, daha önceden temas veya hastalık öyküsü olmayan yeni bruselloz olgularında mükemmel iken (yüksek duyarlılık ve özgüllük), tekrarlayan temasların varlığında ve geçirilmiş enfeksiyonda düşüktür (156,157). Aktif brusellozlu olgularda yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre RB testinin duyarlılığı ve özgüllüğü %75-100 arasında değişmektedir (75,156-158,164). Ancak, kronik ve komplike olgularda testin duyarlılığı (yüksek yalancı negatiflik) oldukça düşüktür (%33-50) (55,56,74). Yalancı negatif sonuçlar, enfeksiyonun erken ve geç dönemlerinde ortaya çıkar. *B. abortus*, *B. melitensis* ve *B. suis*'in antijenik benzerliği nedeniyle bu kökenlere karşı oluşan antikorlar da bu test ile saptanabilir. *B. canis* ve *B. ovis* enfeksiyonlarında reaksiyon oluşmaz. Bizim sonuçlarımıza göre de aktif brusellozu olan hastalarda RB testinin duyarlılığı (% 97.22), geçirilmiş, kronik, komplike hastalara göre (% 87.5) daha yüksek bulunmuştur. RB testi yalancı negatif olan dört hastanın biri aktif bruselloz grubunda üçü geçirilmiş bruselloz grubundadır.

Aktif olgularda, IgM ELISA testinin duyarlılığı yaklaşık % 80 olarak bildirilirken, IgG ve IgM birlikte çalışıldığında testin duyarlılığının % 90-100 arasında saptandığı bildirilmektedir (9). Bizim sonuçlarımız da buna benzerdir. Aktif brusellozda IgM duyarlılığı % 83.33 iken IgM/IgG duyarlılığı % 100 olarak saptanmıştır. Geçirilmiş bruselloz grubunda ise, IgM pozitifliği % 8.33, IgG duyarlılığı % 75, IgM/IgG duyarlılığı % 87.5 olarak saptanmıştır. Beklenildiği gibi geçirilmiş, kronik brusellozda IgM pozitifliği saptanmamaktadır. Bu hastalarda IgM saptanması, IgM'in uzun süre saptanabilir düzeylerde kalması nedeniyle her zaman akut enfeksiyon lehine değerlendirilmemelidir. Bizim çalışmamızda da geçirilmiş enfeksiyon grubunda değerlendirilen iki hastada IgM pozitifliği vardır. Her iki hastanın da yaklaşık bir – bir buçuk yıl önce aktif bruselloz geçirdiği bilinmektedir. İlginç olarak bu hastalarda ELISA IgG negatiftir.

Eski/geçirilmiş bruselloz olgularda ELISA blokan antikorlardan etkilenmediği için, SWT ve 2-ME aglütinasyona göre ELISA-IgG daha duyarlı bir yöntem olarak görülmektedir (167,173). Bruselloz şüphesinde SWT'inde negatiflik saptandığında; spesifik antikorların gelişmemesi (enfeksiyonun çok erken dönemi veya agammaglobulinemi), blokan (aglütinasyon vermeyen, inkomplet) antikorların varlığı veya prozon fenomeni söz konusu olabilir. Erken/bakteriyemik dönemde SWT titreleri <1:160 olarak bulunabilir (136,158). Bizim sonuçlarımıza göre de geçirilmiş bruselloz grubunda duyarlılıklar; SWT 1/80 titrasyonda % 33.33, SWT 1/160 titrasyonda % 8.33, SWT 1/80 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 37.5, SWT 1/160 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 8.33 olarak saptandı. Aktif bruselloz grubunda ise SWT 1/80 titrasyonda % 88.88, SWT 1/160 titrasyonda % 55.55, SWT 1/80 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 100, SWT 1/160 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 86.11 olarak saptandı. Lübnan'da yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada; RB ve SWT yönteminin basit, güvenilir ve ucuz oldukları için akut bruselloz olgularında kullanılabileceği, kronik ve komplike olgularda ise bu yöntemlerle olguların atlanması nedeniyle ELISA yönteminin tercih edilmesinin daha uygun olduğu vurgulanmıştır (172).

Uygun epidemiyolojik (temas öyküsü) ve klinik bulguların varlığında tek bir serum örneğindeki SWT titresi $\geq 1:160$ akut/aktif brusellozla uyumlu olarak kabul edilir. Ancak, bruselloz tanısında hastalığın doğrulanması için aglütinasyon testindeki tanısal titre henüz netlik kazanmamıştır (74,78,164). Tanısal titre, hastalığın prevalansına (endemisite), hastanın yaşadığı bölgeye (kırsal veya kentsel) ve çalışılan popülasyonun özelliğine (mesleki risk faktörleri gibi) ve hastalık evresine (aktif-inaktif) göre değerlendirilmesi gereklidir (73,75,82). Çoğu sağlıklı bireylerde geçmişteki tekrarlayan maruziyet ve inaparan enfeksiyon nedeniyle 1:80-160 gibi titrelerde aglütininler bulunabilir (testin özgüllüğünün azalması). Bu nedenle çoğu araştırmacı SWT $\geq 1:160$ titreleri akut enfeksiyon göstergesi olarak kabul ederken, 1:80 titre şüpheli olarak kabul etmektedirler (73,77,158). Endemik bölgelerde $\geq 1:320$ titrelerin pozitif kabul edilmesi özgüllüğü artıracaktır (73-75). Bununla birlikte, erken dönemde SWT titrelerinin çok düşük olması nedeniyle en az iki hafta

ara ile alınan çift serum örneğinde brusella SWT titresinin ≥ 4 kat artışı (serokonversiyon) kesin tanı kriteridir (22,74,76,82).

SWT ile aglütininer (IgM, IgG ve IgA) saptanırken, immünglobulin izotipleri belirlenmediği için hastalığın evrelendirilmesi yapılamamaktadır. Immünglobülin izotipleri, redüktan test (2-ME) veya ELISA gibi yöntemlerle saptanabilir (75,125,159,168).

Aktif bruselloz grubunda Jel testte 1/80 titrasyona göre duyarlılık % 88.88 iken 1/160 titrasyona göre duyarlılık 72.22 olarak bulundu. Bu sonuçlar tek başına SWT testinin duyarlılığının jel testten düşük olduğunu AHG ile birlikte değerlendirildiğinde ise daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak; SWT kadar AHG testinin de yoğun emek ve zaman alıcı olması ve AHG testinin rutinde çok fazla kullanılmaması nedeniyle AHG'li jel test daha avantajlı gibi gözükmektedir.

SWT'nin düşük özgüllüğü, kısmen diğer bakteriler ve *V. cholerae* aşısı uygulanması sonucunda gelişen çapraz reaksiyona bağlıdır. *V. cholerae* aşısı veya enfeksiyonuna bağlı 1:160 titreye kadar ulaşabilen SWT titreleri elde edilebilir (41,75,130). Çapraz reaksiyonlardan primer olarak IgM antikolar sorumludur. IgM düzeylerini azaltmak için kimyasal (merkaptan maddeler, EDTA veya Rivanol) ve fiziksel (serumun ısıtılması) yöntemler kullanılabilir (75,125,129,130). Özgüllüğü azaltan bir diğer önemli faktör ise IgM romatoid faktör (IgG'nin Fc kısmına karşı gelişen antikor) aktivitesidir. RF varlığında oluşan immün kompleks yalancı pozitifliğe neden olacaktır. Testin pH'ı düşürülerek immün komplekslerden RF uzaklaştırılabilir (75,125,129,130). Bizim çalışmamızda SWT testinin özgüllüğü % 100 olarak bulunmuştur. Ancak; RB testi negatif olan hastalara SWT testi yapılmadığı dikkate alınmalıdır. Bu da özgüllüğün daha yüksek olmasını sağlamış olabilir.

ELISA testinde de serumdaki romatoid faktör nedeniyle yalancı pozitiflik görülebilir. Yalancı pozitif sonuçların önlenmesi amacıyla *Brucella* IgM antikor testlerinde rutin olarak RF absopsiyonu yapılmalıdır (173,175). Bizim kullandığımız ELISA testinde de RF absorpsiyonu yapılmıştır. Buna rağmen biri IgM biri IgG olmak üzere iki hastada yalancı ELISA pozitifliği nedeniyle ELISA'nın özgüllüğü düşmüştür (IgM % 97.29, IgG % 97,29, IgG/IgM % 94.59). Diğer testlerin özgüllüğü % 100 olarak bulunmuştur. *Brucella* serolojisindeki önemli problemlerden birisi olan OPS yapıya bağlı çapraz reaksiyonlar, S-LPS antijeninin kullanıldığı ELISA yöntemi için de geçerlidir. Bu durum antijen olarak tüm hücrenin kullanıldığı ELISA'da daha az oranda görülmektedir. Son yıllarda diğer bakteriler ile çapraz reaksiyonların azaltılması amacıyla yarışmalı (kompetitif) ELISA yöntemi geliştirilmiştir. Yarışmalı ELISA'da S-LPS'nin O-polisakkaritindeki genel ve tekrarlayan epitoplara karşı monoklonal antikorların (mAb) kullanılması çapraz reaksiyonların sıklığını azaltmıştır. Yarışmalı ELISA IgG'nin duyarlılığı %98,3, özgüllüğü %99,7 olarak bulunmuştur (177). Yüksek duyarlılığı nedeniyle doğrulayıcı veya tarama testi olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

SWT titrelerinin, merkaptanlarla çalışıldığında azalmanın ne kadarının anlamlı olduğu netlik kazanmamıştır. $SWT \geq 1:160$ titrenin merkaptan testlerde 4 kat azalması "anlamlı sonuç" yani aktif enfeksiyon göstergesi olarak kabul edilmektedir (67). Diğer araştırmacılar ise, klinik olarak uyumlu ve SWT titresinin $\geq 1:160$ vakalarda merkaptan testlerde $\leq 1:80$ titrelerin saptanmasının akut bruselloz tanısı için güçlü bir kanıt olduğunu bildirmişlerdir (79). Daha geç dönemde ise merkaptan testlerde, SWT'indeki titrenin bir dilüsyon azalması anlamlı kabul edilmektedir (63,79). SWT titrelerinde, 2-ME testiyle çalışıldığında azalma toplam 15 hastada olmuştur. Bu hastaların hepside grup 1'dedir (aktif bruselloz). Bunların yedisinde, $SWT \geq 1/160$ olup bir kat titre azalması; birinde $SWT \geq 1/160$ olup iki kat titre azalması; birinde $SWT \geq 1/160$ olup üç kat titre azalması olmuştur ($SWT \geq 1/160$ olup, 2-ME testi $\leq 1/80$ olan dört hasta vardı). $SWT = 1/80$ olan hastaların dört tanesinde titre azalması mevcuttu. Bu sonuçlara göre 2-ME testi uygulayarak aktif/inaktif ayrımı

yapılabilen hastalar olduğu gibi büyük bir kısmı atlanmaktadır. Ayrıca tüp aglütinasyon testinin kişisel değerlendirmeye bağlı olması bir kat dilüsyon ayırımı yapmada zorluk yaratmaktadır. Bu da bize 2-ME testinin rutin tanı değerinin düşük olduğunu göstermektedir.

Serolojik testlerin karşılaştırıldığı çalışmalarda ELISA'nın duyarlılık ve özgüllüğü SWT'ne eşit veya daha yüksek bulunmuştur (73,75,125,139,164). Bizim çalışmamızda testlerin duyarlılıkları SWT 1/80'a göre % 66.66, SWT 1/160'a göre, % 36.66, SWT 1/80 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 75, SWT 1/160 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 55, IgM % 53.33, IgG % 80, IgM ve IgG birlikte değerlendirildiğinde % 95 olarak bulunmuştur. Mantur ve ark. (168) hem akut hem de kronik olgularda ELISA'nın SWT'ne göre oldukça yüksek duyarlılığa (akutta %28, kronikte ise %55 daha fazla duyarlılık) sahip olduğunu ve bruselloz tanısında ELISA IgM ve IgG birlikte kullanılmasını gerektiğini bildirmişlerdir. ELISA da daha basit ve daha güvenilir bir şekilde Coombs testinin tüm avantajlarını sağlamak ve test sonuçları klinik bulgularla daha yüksek korelasyon göstermektedir. Genel olarak ELISA klinik şüphe varlığına Coombs testi negatif olsa bile, serolojik tanıda tercih edilecek yöntem kabul edilmektedir (160,167,168,176). Ancak; farklı ELISA testleri ve sistemleri olduğu ve aralarında duyarlılık ve özgüllük yönünden farklar olduğu unutulmamalıdır. Çalışılan popülasyonlara göre PPD ve NPD değişebilmektedir.

İnsan bruselloz'unun tanısında en güvenilir sonuçları elde etmek için iki testin birlikte kullanılması (SWT ve CT veya SWT ve Brucella-capt veya ELISA IgG ve IgM çalışılması önerilmektedir (74,75). Bu yaklaşım, akut dönemde RB ve SWT ve/veya 2-ME yeterli iken, SWT negatifliği durumunda ve/veya kronik, komplike veya fokal olgularda CT, Brucella-capt ve ELISA IgG pozitifliği ile hastalığın farklı evrelerinde antikorların saptanmasına olanak sağlayacağı öne sürülmektedir. Serumdaki blokan antikorların varlığı bir aglütinasyon testi olan Coombs' testi (CT veya AHG) veya Brucella-capt testi ile gösterilebilir. Anti-insan globulin IgG (Coombs' reajeni) eklenmesi veya mekanik (yüksek devirde santrifügasyon) işlem sonrasında blokan antikorların bağlanması indüklenebilir (75,76,82). Bizim çalışmamızda kullandığımız jel testte de AHG bulunmakta ve yüksek devirde santrifüj işlemi uygulanarak blokan antikorların da AHG ile bağlanarak SWT titrelerine göre daha yüksek titreler elde edilmesine olanak sağlamaktadır.

Sonuç olarak: Bizim çalışmamızda, tarama testi olarak en yüksek duyarlılıkta AHG'li jel testi bulunmuştur (% 98.33), eski/geçirilmiş bir bruselloz olgusunu atlamıştır. Bu olguda diğer testler pozitifdir. Duyarlılıkta jel testini % 95 ile ELISA IgM ve/veya IgG testi takip etmektedir. Ancak, ELISA'da hem IgG hem de IgM'in birlikte çalışılması gerekmektedir. Bir hastada ELISA IgM ve bir hastada ELISA IgG yalancı pozitif bulunmuştur. Diğer testlerde yalancı pozitiflik bulunmamıştır. En yaygın tarama testi olarak kullanılan RB, bizim çalışmamızda biri aktif bruselloz, üçü geçirilmiş bruselloz grubunda olmak üzere dört bruselloz hastasını saptayamamıştır (duyarlılık % 93.33).

Bu sonuçlara göre duyarlılığı artırmak için taramada en az iki test önerilmektedir;

AHG'li jel test + RB veya

AHG'li jel test + ELISA (IgM + IgG) veya

ELISA + RB

Sadece bir tarama testi kullanılacaksa; aktif bruselloz grubunda % 100 duyarlılığı olan

ELISA (IgM + IgG) veya

AHG'li jel test seçilebilir

Aktif bruselloz grubunda RB testinin yalancı negatif olduğu bir örnek AHG testiyle pozitif bulunmuştur. Rutin çalışmada her örneğin AHG çalışılması pratik olmayacağı için tek başına RB testiyle olgu atlanabileceği akılda tutulmalıdır. ELISA testinin duyarlılığı yüksek olmakla birlikte hem IgG hem de IgM birlikte çalışılması gerektiğinden maliyet ve iş gücü kaybı dikkate alınmalıdır.

Çalışmamız seçilmiş grup olduğundan PPD'ler yüksek bulunmuştur. Rutin laboratuvar koşullarında gerçek negatif örneklerin daha yüksek olabileceği ve PPD'in düşebileceği öngörülmektedir.

Titrimetrik testlerin ilk taramada yararının yüksek olmadığı görülmektedir. Ancak yüksek titrelerde olursa tanıyı kuvvetle desteklemektedir. Olguların izleminde titrasyon takibi açısından titrimetrik testler kullanılabilir. 2-ME testinin yorumunun da aktif bruselloz olgularında bile zor olduğu görülmektedir. Sonuç olarak duyarlılığı yüksek bir tarama testinin yanı sıra iyi bir klinik değerlendirme şarttır.

6-KAYNAKLAR

- 1.Koçman EE, Erensoy S, Zeytinoğlu A. İnsan brusellozunun serolojik laboratuvar tanısında aglütinasyon testleri ile ELISA IgG ve IgM testlerinin karşılaştırılması. İkinci Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. Poster sunum; 2013 - (PS239).
- 2.Hall WH. Brucellosis. In: Evans AS, Brachman PS, eds. Bacterial Infections of Humans, Epidemiology and Control. 2nd ed. New York: Plenum Publishing Corporation; 1991. p.133-49.
- 3.Özsan K. Brusellalar. Payzın S, Özsan K, Aksoycan N, Ekmen H, Akman M, editörler. Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji II: Özel Mikrobiyoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1968. p.778-815.
- 4.Onul B. Brucellosis. İnfeksiyon Hastalıkları. 4. Baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını; 1971. p.592-603.
- 5.Vassallo MD. The corps disease: Brucellosis and its historical association with the Royal Army Medical Corps. J R Army Med Corps 1992;138(3):140-50.
- 6.Benedek T. Brucellosis therapy: A historical overview. www.antimicrobe.org (Erişim tarihi 01.02.2011).
- 7.Piqueras M. Microbiology: a dangerous profession? Int Microbiol 2007;10(3):217-26.
- 8.Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucellosis: reemerging disease. Vet Microbiol 2010;140(3-4):392-8.
- 9.Wyatt VH. Brucellosis and Maltese goats in the Mediterranean. J Maltese History 2009;1 (2):4-18.
- 10.Enerson D. Sir David Bruce. In: Whonamedit? (online) <http://www.whonamedit.com/doctor.cfm/871.html> (Erişim 07.01.2012)
- 11.Tan SY, Davis C. Medicine in stamps David Bruce (1855-1931): discoverer of brucellosis. Singapore Med J 2011;52(3):138-9.
- 12.Madkour MM. Bruselloz: Brusellozun tarihçesi. Madkour MM, ed. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s.16.
- 13.Skerman VB, McGowan V, Sneath PH. Approved Lists of Bacterial Names. Int J Syst Bacteriol 1980;30:225-420.
- 14.Whatmore AM, Dawson CE, Groussaund P, Koylass MS, King AC, Shankster SJ, et al. Marine mammal Brucella genotype associated with zoonotic infection. Emerg Infect Dis 2008;14(3):517-8.
- 15.Pappas G. The changing Brucella ecology: novel reservoirs, new threats. Int J Antimicrob Agents 2010;36 Suppl 1:S8- 13. 11.
- 16.Euzeby JP. List of prokaryotic names with standing in nomenclature - Genus Brucella. <http://www.bacterio.cict.fr/b/brucella.html>.
- 17.Doğanay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. Int J Infect Dis 2003;7:173-82.
- 18.Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis 2006;6(2):91-9.
- 19.Fiori PL, Mastrandrea S, Rappelli P, Cappuccinelli P. *Brucella abortus* infection acquired in microbiology laboratories. J Clin Microbiol 2000;38(5):2005-6.
- 20.Ruben B, Band JD, Wong P, Colville J. Person to person transmission of *Brucella melitensis*. Lancet 1991;337(8732):14-5.
- 21.Şahin İH, Çalışır C, Güldüren HM, Tekin-Koruk S, Doğrusoy Y. Olgu Sunumu; Anne Sütüyle Bulaşma İzlenen Bir Bruselloz Olgusu. Klimik Dergisi 2011; 24(2): 126-8.
- 22.Corbet MJ. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis 1997;3(2):213-21.
- 23.Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human Brucellosis. Indian J Med Microbiol. 2007;25(3):188–202.
- 24.Pappas, G, P Papadimitriou, N Akritidis, L Christou, EV Tsianos. The New Global Map of Human Brucellosis. *Lancet Infectious Disease*. 2006. 6:91-99.
- 25.Golem SB. Brusellozun memleketimizdeki durumu. Türk Hijyen Tecrubi Biyoloji Dergisi 1949;9(3):32-61.

- İzmir: Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları; 2009. s.475-88.
47. http://www.pixgood.com/pix_galleries/Brucella_image_2/Brucella_melitensis
48. Francisella ve Brucella. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, eds. Başustaoğlu AC, ed. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık Tic Ltd Şti; 2010. s.357-63.
49. Washington W, Allen S, William J, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. Miscellaneous fastidious Gram-negative bacilli, Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. p.429- 548.
50. Madkour MM. Bruselloz: Genel Bakış. Madkour MM, ed. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s.3.
51. Rajashekara G, Eskra L, Mathison A, Petersen E, Yu Q, Harms J, et al. Brucella: functional genomics and host-pathogen interactions. Anim Health Res Rev. 2006 ;7(1- 2):1-11.
52. Fugier E, Pappas G, Gorvel JP. Virulence factors in brucellosis: implication for aetiopathogenesis and treatment. Expert Rev Mol Med 2007;9(35):1-10.
53. Jimenez de Bagues MP, Dudal S, Dornand J, Gross A. Cellular bioterrorism: how Brucella corrupts macrophage physiology to promote invasion and proliferation. Clin Immunol 2005;114(3):227-38.
54. Ficht TA. Intracellular survival of Brucella: defining the link with persistence. Vet Microbiol 2003;92(3):213-23.
55. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. 14. Brucella: a pathogen without classic virulence genes. Vet Microbiol 2008;129(1-2):1-14.
56. Celli J, Gorvel JP. Organelle robbery: brucella interactions with the ER. Curr Opin Microbiol. 2004;7(1):93-7.
57. Celli J, de Chastellier C, Franchini DM, Pizarro-Cerda J, Moreno E, Gorvel JP. Brucella evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum. J Exp Med 2003;198 (4):545-56.
58. Sola-Landa A, Pizarro-Cerdá J, Grilló MJ, 17. Moreno E, Moriyón I, Blasco JM, et al. A two-component regulatory system playing a critical role in plant pathogens and endosymbionts is present in Brucella abortus and controls cell invasion and virulence. Mol Microbiol 1998; 29(1):125-38.
59. Comerci DJ, Martínez-Lorenzo MJ, Sieira R, Gorvel JP, Ugalde RA. Essential role of the VirB machinery in the maturation of the Brucella abortus-containing vacuole. Cell Microbiol. 2001;3(3):159-68.
60. Pizarro-Cerda J, Meresse S, Parton RG, van der Goot G, Sola-Landa A, Lopez-Goni I, et al. Brucella abortus transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. Infect Immun 1998;66(12):5711- 24.
61. Ugalde RA. Intracellular lifestyle of Brucella spp. Common genes with other animal pathogens, plant pathogens, and endosymbionts. Microbes Infect 1999;1(14):1211-9.
62. Gomez G, Adams LG, Rice-Ficht A, Ficht TA. Host-Brucella interactions and the Brucella genome as tools for subunit antigen discovery and immunization against . doi:10.3389/fcimb.2013.00017.
63. Fernandez-Prada CM, Zelazowska EB, Nikolich M, Hadfield TL, Roop RM 2nd, Robertson GL, et al. Interactions between Brucella melitensis and human phagocytes: bacterial surface O-Polysaccharide inhibits phagocytosis, bacterial killing, and subsequent host cell apoptosis. Infect Immun 2003;71(4): 2110-9.
64. Sieira R, Comerci DJ, Sanchez DO, Ugalde RA. A homologue of an operon required for DNA transfer in Agrobacterium is required in Brucella abortus for virulence and intracellular multiplication. J Bacteriol 2000;182 (17): 4849-55.
65. Sangari FJ, Seoane A, Rodriguez MC, Agüero J, García Lobo JM. Characterization of the urease operon of Brucella abortus and assessment of its role in virulence of the bacterium. Infect Immun 2007;75(2):774-80.

66. Madkour MM. Bruselloz: Bruselloz immünolojisi. Makrofajlar. Madkour MM, ed. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p.41 .
67. Nicoletti P. Vaccination against brucella. *Adv biotechnical processes*. 1990;13:147-168
68. Georgios Pappas MD, Nikolaos Akritidis MD, Mile Bosilkovski MD, and Epameinondas Tsianos, M.D. *N Engl J Med* 2005; 352:2325-2336.
69. Oliveira SC, Splitter GA. CD8+ type 1 CD44hi CD45 RBlo T lymphocytes control intracellular *Brucella abortus* infection as demonstrated in major histocompatibility complex class I and class II deficient mice. *Eur J Immunol* 1995; 25(9):2551-7.
70. Ottones F, Liautard J, Gross A, Rabenoelina F, Liautard JP, Favero J. Activation of human V γ 9 δ 2 T cells by a *Brucella suis* non-peptidic fraction impairs bacterial intracellular multiplication in monocytic infected cells. *Immunology* 2000;100(2):252-8.
71. Bertotto A, Gerli R, Spinozzi F, Muscat C, Scalise F, Castellucci G, et al. Lymphocytes bearing the gamma delta T cell receptor in acute *Brucella melitensis* infection. *Eur J Immunol* 1993;23(5):1177-80.
72. Elzer PH, Jacobson RH, Nielsen KH, Douglas JT, Winter AJ. BALB/c mice infected with *Brucella abortus* express protracted polyclonal responses of both IgG2a and IgG3 isotypes. *Immunol Lett*. 1994;42(3):145-50.
73. Diaz R, Moriyon I. Laboratory techniques in the diagnosis of human brucellosis. In: Young EJ, Corbel MJ, eds. *Brucellosis: clinical and laboratory aspects*. CRC Press, Boca Raton, FL; 1989. p.73-83.
74. Araj GF. Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36 Suppl 1:S12-7
75. Nielsen K. Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet Microbiol* 2002;90(1-4):447-59.
76. 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.
77. Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992;14(1):131-40.
78. Young EJ. Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature. *Rev Infect Dis* 1991;13(3):359-72.
79. Buchanan TM, Faber LC. 2-mercaptoethanol *Brucella* agglutination test: usefulness for predicting recovery from brucellosis. *J Clin Microbiol* 1980;11(6):691-3.
80. Araj GF. Profiles of *Brucella*-specific immunoglobulin G subclass in serum of patients with acute and chronic brucellosis. *Serodiag Immunother Infect Dis* 1988;2:401-10.
81. Gazapo E, Gonzalez Lahoz J, Subiza JL, Banquero M, Jil J, de la Concha EG. Changes in IgM and IgG antibody concentration in brucellosis over time: importance for diagnosis and follow-up. *J Infect Dis* 1989;159(2): 219-25.
82. White RG. Immunoglobulin profiles of the chronic antibody response: discussion in relation to brucellosis infections. *Postgrad Med J* 1978;54(635): 595-602.
83. Almuneef M, Memish ZA. Prevalence of *Brucella* antibodies after acute brucellosis. *J Chemother* 2003;15(2):148-51.
84. Roushan MR, Amiri MJ, Laly A, Mostafazadeh A, Bijani A. Follow-up standard agglutination and 2- mercaptoethanol tests in 175 clinically cured cases of human brucellosis. *Int J Infect Dis* 2010;14(3):e250-3.
85. Araj GF, Kaufman AF. Determination of *Brucella* specific IgG, IgM and IgA by ELISA in sera of patients with brucellosis against *B. melitensis* major outer membrane proteins (MOMP) and whole cell heat killed (HK) antigens. *J Clin Microbiol* 1989;27(8):1909-12.
86. Morrodan T, Paliakova RN, Rubio M, Ariza J, Clavijo E, Smits HL, et al. Evaluation of three methods to measure anti-*Brucella* IgM antibodies and interference of IgA in the interpretation of mercaptan- based tests. *J Med Microbiol*

- 87.** Young EJ. *Brucella* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. Philadelphia: Churchill, Livingstone; 2010. p.2921-25.
- 88.** Gotuzzo E, Carillo C. *Brucella*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious Diseases*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998. p.1837-45.
- 89.** Doğanay M, Alp Meşe E. Bruselloz. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editorler. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p.897-909.
- 90.** Madkour MM. Bruselloz: Genel Bakış. Madkour MM, ed. *Bruselloz*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 1-14.
- 91.** Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sanchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M et al. Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases. *Medicine (Baltimore)* 1996;75(4):195-211.
- 92.** Corbel MJ. *Clinical Manifestation. Brucellosis in Humans and Animals*. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2006. p.3-10.
- 93.** Spink WW: What is chronic brucellosis? *Ann Intern Med* 1951;35(2):258-74.
- 94.** Cluff LE. Medical aspects of delayed convalescence. *Rev Infect Dis* 1991;13(Suppl 1): S138-40.
- 95.** Colmenero JD, Reguera JM, Fernandez-Nebro A, Cabrera-Franquelo F. Osteoarthricular complications of brucellosis. *Ann Rheum Dis* 1991;50(1):23-26.
- 96.** Ariza J, Pujol M, Valverde J, Nolla JM, Rufi G, Viladrich PF, et al. Brucellar sacroiliitis: findings in 63 episodes and current relevance. *Clin Infect Dis* 1993;16(6):761-5.
- 97.** Solera J, Lozano E, Martínez-Alfaro E, Espinosa A, Castillejos ML, Abad L Brucellar spondylitis: review of 35 cases and literature survey. *Clin Infect Dis* 1999; 29(6):1440-9.
- 98.** Ozaksoy D, Yücesoy K, Yücesoy M, Kovanli- kaya I, Yüce A, Naderi S. Brucellar spondylitis: MRI findings. *Eur Spine J* 200;10(6): 529-33.
- 99.** Ariza J, Servitje O, Pallares R, Fernandez Viladrich P, Rufi G, Peyri J, et al. Characteristic cutaneous lesions in patients with brucellosis. *Arch Dermatol* 1989;125(3):380-3.
- 100.** Metin A, Akdeniz H, Buzgan T, Delice I. Cutaneous findings encountered in brucellosis and review of the literature. *Int J Dermatol* 2001;40 (7):434-8.
- 101.** Crosby E, Llosa L, Quesada M, Miro Quesada M, Carrillo C, Gotuzzo E. Hematologic changes in brucellosis. *J Infect Dis* 1984; 150(3):419-24.
- 102.** Akdeniz H, Irmak H, Seçkinli T, Buzğan T, Demiröz AP. Hematological manifestations in brucellosis cases in Turkey. *Acta Med Okayama* 1998;52(1):63-5.
- 103.** Dilek İ, Durmuş A, Karahocagil MK, Akdeniz H, Karsen H, Baran Aİ et al. Hematological Complications in 787 Cases of Acute brucellosis in eastern Turkey. *Turk J Med Sci* 2008;38(5):421-4.
- 104.** Al Eissa YA, Assuhaimi SA, Al Fawaz IM, Higgy KE, Al Nasser MN, Al Mobaireek KF. Pancytopenia in children with brucellosis: Clinical manifestations and bone marrow findings. *Acta Haematol* 1993;89(3):132-6.
- 105.** Al-Harhi SS. The morbidity and mortality patterns of *Brucella* endocarditis. *Int J Cardiol* 1989;25(3):321-4.
- 106.** Karahocagil MK, Karanfil A, Uyar ME. Combined *Brucella melitensis* and *Staphylococcus aureus* endocarditis in a patient with a prosthetic aortic valve with fatal outcome. *Eur J Intern Med* 2005;16(7):534.
- 107.** Al-Kasab S, Al-Fagih MR, Al-Yousef S, Ali Khan MA, Ribeiro PA, Nazzal S, et al. *Brucella* infective endocarditis. Successful combined medical and surgical therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988;95(5):862-7.
- 108.** Hatipoglu CA, Bilgin G, Tulek N, Kosar U. Pulmonary involvement in brucellosis *Infect* 2005;51(2):116-9.
- 109.** Ibrahim AI, Awad R, Shetty SD, Saad M, Bilal NE. Genito-urinary complications of brucellosis. *Br J Urol* 1988;61(4):294-8.

- 110.**Khan MS, Humayoon MS, Al-Manee MS. Epididymo-orchitis and brucellosis. *Br J Urol* 1989;63(1):87-9.
- 111.**Güneş M, Geçit İ, Bilici S, Demir C, Özkal A, Ceylan K, et al. Brusellar epididimi-orşit: on-beş olgu sunumu. *Van Tıp Derg* 2010;17(4): 131-5.
- 112.**Khan MY, Mah MW, Memish ZA. Brucellosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 2001; 32(8):1172-7.
- 113.**Kurtoğlu M, Adali E, Kurdoglu Z, Karahocagil MK, Kolusari A, Yildizhan R, et al. Brucellosis in pregnancy: a 6-year clinical analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2010;281(2):201-6.
- 114.**Giannacopoulos I, Eliopoulou MI, Ziambaras T, Papanastasiou DA. Transplacentally transmitted congenital brucellosis due to *Brucella abortus*. *J Infect* 2002;45(3):209-10.
- 115.**Celebi G, Kulah C, Kilic S, Ustundag G. Asymptomatic *Brucella* bacteraemia and isolation of *Brucella melitensis* biovar 3 from human breast milk. *Scand J Infect Dis* 2007;39(3):205-8.
- 116.**Petrella R, Young EJ. Acute brucella ileitis. *Am J Gastroenterol* 1988;83(1):80-2.
- 117.**Aziz S, Al-Anazi AR, Al-Aska AI. A review of gastrointestinal manifestations of brucellosis. *Saudi J Gastroenterol* 2005;11(1):20-7.
- 118.**Akdeniz H, Irmak H, Anlar O, Demiroz AP. Central nervous system brucellosis: presentation, diagnosis and treatment. *J Infect* 1998;36(3):297-301.
- 119.**Mclean DR, Russell N, Khan MY. Neurobrucellosis: Clinical and therapeutic features. *Clin Infect Dis* 1992;15(4):582-90.
- 120.**Sirmatel F, Ünal S, Baydar İ, Namıduru M. Bruselloz olgularında psikolojik semptomlar. *İnfeksiyon Derg* 1993;7(1-2):69-71.
- 121.**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. *Clin Infect Dis* 2008;46(9):1338-45.
- 122.**Karahocagil MK, Demirok A, Kiliç A, Cinal A, Caksen H, Yasar T. Brucellosis and uveitis. *Ann Ophthalmol (Skokie)* 2008;40(1):48-50.
- 123.**Elidan J, Michel J, Gay I, Springer H. Ear involvement in human brucellosis. *J Laryngol Otol* 1985;99(3):289-91.
- 124.**Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, Mulimani MS, Veerappa, Karihulu P, et al. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years' experience in an endemic area. *J Med Microbiol* 2006;55(Pt7):897-903.
- 125.**Nielsen K, Yu WL. Serological diagnosis of brucellosis. *Prilozi* 2010;31(1):65-89.
- 126.**Zygmunt MS, Dubray G, Limet JN, Cloeckart A, Jacques I, TK-O VO. Antigenic structure of *Brucella*: Protective and diagnostic antigens. In: Tümbay E, Hilmi S, Ang O, eds. *Brucella and Brucellosis in Man and Animals*. Izmir: Ege University Press; 1991. p.27-37.
- 127.**Goldbaum FA, Leoni J, Wallach JC, Fossati CA. Characterization of an 18-kilodalton *Brucella* cytoplasmic protein which appears to be a serological marker of active infection of both human and bovine brucellosis. *J Clin Microbiol* 1993;31(8): 2141-5.
- 128.**Morion I, Lopez-Goni I. Structure and properties of the outer membranes of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. *Int Microbiol* 1998;1(1):19-26.
- 129.**Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris: OIE; 2008.
- 130.**Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Techniques for the Brucellosis Laboratory*. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France, 1988.
- 131.**Roop RM 2nd, Preston-Moore D, Bagchi T, Schurig GG. Rapid Identification of smooth *Brucella* species with a monoclonal antibody. *J Clin Microbiol* 1987;25(11):2090-3.
- 132.**Yagupsky P. Detection of brucellae in blood cultures. *J Clin Microbiol* 1999;37(11):3437-42.
- 133.**Mantur BG, Mulimani MS, Bidari LH, Akki AS, Tikare NV. Bacteremia is as unpredictable as clinical manifestations in human brucellosis. *Int J Infect Dis* 2008;12(3):303-7.
- 134.**Gamazo C, Vitas AI, López-Gofi I, Díaz R, Moriyón I. Factors affecting detection of *Brucella melitensis* by BACTEC NR730, a nonradiometric system for hemocultures. *J Clin Microbiol* 1993;31(12):3200-3.

- 135.**Memish Z, Mah MW, Al Mahmoud. S, Al Shalan M, Khan MY. Brucella bacteraemia: clinical and laboratory observations in 160 patients. *J Infect* 2000;40(1):59-63
- 136.**Espinosa BJ, Chacaltana J, Mulder M, Franco MP, Blazes DL, Gilman RH, et al. Comparison of culture techniques at different stages of brucellosis. *Am J Trop Med Hyg* 2009;80(4):625-7.
- 137.**Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2007;7(12): 775-86.
- 138.**Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis—a review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. *Clin Lab* 2003;49(9-10):487-505.
- 139.**Asaad AM, Alqahtani JM. Serological and molecular diagnosis of human brucellosis in Najran, Southwestern Saudi Arabia. *J Infect Public Health* 2012;5(2):189-94.
- 140.**Baysallar M, Aydogan H, Kilic A, Kucukkaraaslan A, Senses Z, Doganci L. Evaluation of the BacT/ALERT and BACTEC 9240 automated blood culture systems for growth time of *Brucella* species in a Turkish tertiary hospital. *Med Sci Monit* 2006;12(7):BR235-8.
- 141.**Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis—the value of bone marrow culture. *J Infect Dis* 1986;153(1):122-5.
- 142.**Mantur BG, Bidari LH, Akki AS, Mulimani MS, Tikare NV. Diagnostic yield of blood clot culture in the accurate diagnosis of enteric fever and human brucellosis. *Clin Lab* 2007;53(1-2):57-61.
- 143.**Al Dahouk S, Neubauer H, Tomaso H. *Brucella*. In: Liu D, eds. *Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens* (Chapter 54). Taylor & Francis CRC Press, Boca Raton, FL, USA; 2011. p.629- 46.
- 144.**Yu WL, Nielsen K. Review of detection of *Brucella* spp. by polymerase chain reaction. *Croat Med J* 2010;51(4):306-13.
- 145.**Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4(1):115-23.
- 146.**Zerva L, Bourantas K, Mitka S, Kansouzidou A, Legakis NJ. Serum is the preferred clinical specimen for diagnosis of human brucellosis by PCR. *J Clin Microbiol* 2001;39(4):1661-4.
- 147.**Al-Attas RA, Al-Khalifa M, Al-Qurashl AR, Badawy M, Al-Gualy N. Evaluation of PCR, culture and serology for the diagnosis of acute human brucellosis. *Ann Saudi Med* 2000;20(3-4):224-8.
- 148.**Colmenero JD, Queipo-Ortuno MI, Reguera JM, Baeza G, Salazar JA, Morata P. Real time polymerase chain reaction: a new powerful tool for the diagnosis of neurobrucellosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76(7):1025-7.
- 149.**Kattar MM, Zallou PA, Araj GF, Samaha-Kfoury J, Shbaklo H, Kanj SK, et al. Development and evaluation of real-time polymerase chain reaction assays on whole blood and paraffin-embedded tissues for rapid diagnosis of human brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(1):23-32.
- 150.**Navarro E, Segura JC, Castaño MJ, Solera J. Use of real-time quantitative polymerase chain reaction to monitor the evolution of *Brucella melitensis* DNA load during therapy and post-therapy follow - up in patients with brucellosis. *Clin Infect Dis* 2006;42(9):1266-73.
- 151.**Maas KS, Méndez M, Zavaleta M, Manrique J, Franco MP, Mulder M, et al. Evaluation of brucellosis by PCR and persistence after treatment in patients returning to the hospital for follow-up. *Am J Trop Med Hyg* 2007;76(4): 698-702.
- 152.**Morata P, Queipo-Ortuno MI, Reguera JM, Garcia-Ordonez MA, Pichardo C, Colmenero JD. Post-treatment follow-up of brucellosis by PCR assay. *J Clin Microbiol* 1999;37(12): 4163-6.
- 153.**Castano MJ, Solera J. Chronic brucellosis and persistence of *Brucella melitensis* DNA. *J Clin Microbiol* 2009;47(7):2084-9.
- 154.**Lucero NE, Bolpe JE. Buffered plate antigen test as a screening test for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 1998;36(5): 1425-7.

- 155.**Diaz 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 Negl Trop Dis* 2011;5(4): e950.
- 156.**Araj GF, Brown GM, Haj MM, Madhavan NV. Assessment of brucellosis card test in screening patients for brucellosis. *Epidemiol Infect* 1988;100 (3):389-98.
- 157.**Ruiz-Mesa JD, Sanchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martin L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(3):221-5.
- 158.**Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, Yilmaz M, Kurt C, et al. The sensitivity and specificity of *Brucella* agglutination tests. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;46(4):241-3.
- 159.**Osoba AO, Balkhy H, Memish Z, Khan MY, Al-Thagafi A, Al Shareef B, et al. Diagnostic value of *Brucella* ELISA IgG and IgM in bacteremic and non-bacteremic patients with brucellosis. *J Chemother* 2001;13 Suppl 1:54-9.
- 160.**Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the *Brucella* Standard Agglutination Test with the ELISA IgG and IgM in patients with *Brucella* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44(2):129-32.
- 161.**Casao MA, Navarroa E, Solerab J. Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis. *J Infect* 2004;49(2):102-8.
- 162.**Orduna A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Dueñas A, et al. Evaluation of Immuncapture Agglutination test (*Brucella*Capt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2000;38(11):4000-5.
- 163.**Casanova A, Ariza J, Rubio M, Masuet C, Díaz R. *Brucella*Capt versus classical tests in the serological diagnosis and management of human brucellosis. *Clin Vaccine Immunol* 2009;16(6):844-51.
- 164.**Gomez MC, Nieto JA, Rosa C, Geijo P, Escribano MA, Munoz A, et al. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15(6):1031-3.
- 165.**Bosilkovski M, Katerina S, Zaklina S, Ivan V. The role of *Brucella*capt test for follow-up patients with brucellosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2010;33(5):435-42.
- 166.**Serra J, Velasco J, Godoy P, Mendoza C. Can the *Brucella*capt test be substituted for the Coombs test in the diagnosis of human brucellosis? *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001;19(5): 202-5.
- 167.**Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. *J Hyg (Lond)* 1986;97(3):457-69.
- 168.**Mantur B, Parande A, Amarnath S, Patil G, Walvekar R, Desai A, et al. ELISA versus conventional methods of diagnosing endemic brucellosis. *Am J Trop Med Hyg* 2010;83(2): 314-8.
- 169.**Araj GF, Lulu AR, Khateeb MI, Saadah MA, Shakir RA. ELISA versus routine tests in the diagnosis of patients with systemic and neurobrucellosis. *APMIS* 1988;96(2):171-6.
- 170.**Baldi PC, Miguel SE, Fossati CA, Wallach JC. Serological follow-up of human brucellosis by measuring IgG antibodies to lipopolysaccharide and cytoplasmic proteins of *Brucella* species. *Clin Infect Dis* 1996;22(3): 446-55.
- 171.**Pellicer T, Ariza J, Foz A, Pallares R, Gudiol F. Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. *J Infect Dis* 1988;157(5): 918-24.
- 172.**Araj GF, Kattar MM, Fattouh LG, Bajakian KO, Kobeissi SA. Evaluation of the PANBIO *Brucella* immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human brucellosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12(11): 1334-5.
- 173.**Araj GF. Enzyme-linked immunosorbent assay, not agglutination, is the test of choice for the diagnosis of neurobrucellosis. *Clin Infect Dis* 1997;25(4):942.
- 174.**Prince HE, Lopez J, Yeh C, Tablante J, Morgan J, Kaneko B, et al. Performance characteristics of the Euroimmun enzyme-linked immunosorbent assay kits for *Brucella* IgG and IgM. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 65(2):99-102.

- 175.** Sharma R, Chisnall C, Cooke RP. Evaluation of in-house and commercial immunoassays for the sero-diagnosis of brucellosis in a non-endemic low prevalence population. *J Infect* 2008;56(2):108-13.
- 176.** Araj GF, Awar GN. The value of ELISA vs negative Coombs findings in the serodiagnosis of human brucellosis. *Serodiag Immunother Infect Dis* 1997;8:169-72.
- 177.** Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K. Competitive enzyme immunoassay for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 1999;37(10):3245-8.
- 178.** Smits HL, Abdoel TH, Solera J, Clavijo E, Dial R. Immunochromatographic *Brucella*-specific immunoglobulin M and G lateral flow assay for rapid serodiagnosis of human brucellosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10(6): 1141-6.
- 179.** Zeytinoğlu A, Turhan A, Altuğlu I, Bilgiç A, Abdo-el TH, Smits HL. Comparison of *Brucella* immunoglobulin M and G flow assays with serum agglutination and 2-mercaptoethanol tests in the diagnosis of brucellosis. *Clin Chem Lab Med* 2006;44(2): 180-4.
- 180.** Mizanbayeva S, Smits HL, Zhalilova K, Abdoel TH, Kozakov S, Ospanov KS, et al. The evaluation of a user-friendly lateral flow assay for the serodiagnosis of human brucellosis in Kazakhstan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65(1):14-20.
- 181.** Pappas G, Akritidis N, Basilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005;352(22): 2325-36.
- 182.** Ariza J, Bosilkovski M, 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.
- microbiological and clinical studies. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(1):22-33.
- 183.** Yagupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg Infect Dis* 2005;11(8):1180-5.
- 184.** World Health Organization. Brucellosis in humans and animals. WHO publication. WHO/CDS/EPR/2006.7 <http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.Pdf>
- 185.** Varun Goel, Sumati A. Hogade, Shankar G. Karadesai. Case Report: A case of pediatric systemic brucellosis presenting with urinary symptoms. India. *Saudi Journal for Health Sciences - Vol 2, Issue 2, May-Aug 2013 p.130-131.*
- 186.** [Http://www.biology.missouristate.edu/Chapter 15 and 16/Immunochemical methods and serologic diagnosis](http://www.biology.missouristate.edu/Chapter_15_and_16/Immunochemical_methods_and_serologic_diagnosis)
- 187.** [Http://www.toprakmedikal.com/Katalog/ODAK *Brucella* Coombs Gel Test/Döküman](http://www.toprakmedikal.com/Katalog/ODAK_Brucella_Coombs_Gel_Test/Döküman)
- 188.** [Http://en.vircell.com/product/ELISA/single test/Brusella ELISA IgG.](http://en.vircell.com/product/ELISA/single_test/Brusella_ELISA_IgG)

ÖZET

Ülkemizde endemik olan bruselloz, çoğunlukla süt ve süt ürünleri ile bulaşan, etkeni brusella cinsi bakteriler olan zoonotik bir hastalıktır. Tıp tarihinde bilinen en eski hastalıklardan biridir. Bruselloz prevalansı ülkemizde yaşam şekli ve bölgelere göre değişiklik gösterir. Bruselloz, vücuttaki tüm organları tutabildiğinden çok çeşitli klinik tablolara yol açmaktadır. Olası bir bruselloz vakasının tanısı, rutin hematolojik ve biyokimyasal laboratuvar testleri, radyolojik tetkikler ve brusellaya özgü testler olmak üzere çeşitli yaklaşımların bir arada değerlendirilmesini gerektirir. Kan, kemik iliği ve doku örneklerinden brusella türleri izole edilmesi standart yöntem olarak kabul edilir. Etyolojik ajanın izolasyon oranı hastalığın evresine, antibiyotik kullanımına etken olan brusella türüne, kültür ortamına ve kullanılan tekniğe bağlı olarak düşüktür. Bu nedenle, brusellozun laboratuvar tanısı çoğunlukla serolojik ve daha az oranda moleküler testlere dayanmaktadır. Kültürün düşük duyarlılığı, PCR yönteminin standardizasyonunun henüz sağlanamamış olması nedeniyle bruselloz tanısında yaygın olarak antikör testleri kullanılır. Klasik aglütinasyon testlerinin, bireysel ve laboratuvarlar arası farklı değerlendirilme olasılığı nedeniyle standardizasyon sorununa karşı kullanılmaya başlanan ve kısa sürede daha çok örnek çalışılabilen Enzyme - Linked immunosorbent assay (ELISA) ve Anti Human Globulin'li (AHG) jel test gibi alternatif yöntemlerin aglütinasyon testlerinin yerini alıp alamayacağı değerlendirilmelidir.

İnsan brusellozunun laboratuvar tanısında kullanılan serolojik testlerin karşılaştırılması amacıyla 04.07.2012-29.08.2013 tarihleri ve 17.06.2013-29.08.2013 tarihlerinde yapmış olduğumuz ön çalışmalarda test sonuçlarını doğru değerlendirebilmek için klinik bilgi ve izlem gerektiği sonucuna varılmıştı (1). Bu amaçla, RB testi, SWT, 2ME testi, AHG'li aglütinasyon testi, ELISA IgG ve IgM testi ve AHG'li jel testin birlikte çalışılacağı prospektif bir çalışma planlanarak laboratuvar çalışma koşullarına uygun bir laboratuvar tanı algoritması önerilmesi amaçlandı.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne 07.01.2014 - 28.01.2015 tarihleri arasında başvuran ve klinik ön tanısı bruselloz olan 103 hastaya ait serum örnekleri brusella serolojik testleri için çalışmaya alındı. Hastaların klinik bilgisi ve laboratuvar bulguları ile öyküsünü kaydetmek için bir olgu rapor formu hazırlandı. Gerekli klinik bilgilerine ulaşılamayan ve/veya gerekli test tekrarı veya AHG testi için yeterli serumu olmayan ve/veya romatolojik hastalığı olan altı hasta değerlendirme dışı bırakıldı. Hastalar laboratuvar sonuçları ve klinik bulguları birlikte değerlendirilerek üç gruba ayrıldı: Aktif bruselloz (grup 1), geçirilmiş bruselloz (grup 2) ve bruselloz olmayan (grup 3).

Bruselloz ön tanısıyla çalışmaya alınan 97 hasta örneğinin; 56'sı RB pozitif, 40'ı $SWT \geq 1/80$, 22'si $SWT \geq 1/160$, 33'ü IgM pozitif, 49'u IgG pozitif, 59'u jel test tarama testi pozitif, 43'ü jel test $\geq 1/80$ ve 30'u jel test $\geq 1/160$ olarak bulundu. Tüm tarama testleri (RB, ELISA IgM/IgG, Jel test) negatif olan hasta sayısı 35, Tüm tarama testleri pozitif olan hasta sayısı 51; sadece RB testi pozitif olan hasta yok, sadece RB testi negatif olan hasta sayısı dört; sadece ELISA IgM/IgG testi pozitif olan hasta sayısı iki, sadece ELISA IgM/IgG testi negatif olan hasta sayısı dört; sadece jel test pozitif olan hasta yok, sadece jel test negatif olan hasta sayısı bir olarak bulundu. Bu durumda 86 hastada bruselloz tarama testlerinin tümü tutarlı bulunmuştur (% 88.65).

İstatiksel olarak tüm testlerin % 95 güven aralığında duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD), herhangi bir test sonucu için pozitif olma olasılığı (HTSP) ve herhangi bir test sonucu için negatif olma olasılığı (HTSN) hesaplandı. Testlerin duyarlılıkları Grup 1 ve grup 2 için ayrı ayrı hesaplanarak karşılaştırıldı.

Duyarlılığı en yüksek olan tarama testi % 98.33 ile jel test olarak bulundu. Bunu % 95 ile

ELISA IgM/IgG % 93.33 ile RB testi takip ediyordu. Aktif brusellozu olan grupta duyarlılığı en yüksek olan tarama testi % 100 ile jel test ve % 100 ile ELISA IgM/IgG testleri bulundu. RB testinin duyarlılığı % 97.22 bulundu. Geçirilmiş bruselloz grubunda ise duyarlılığı en yüksek olan tarama testi % 95.83 ile jel test iken bunu % 87.5 ile ELISA IgM/IgG ve % 87.5 ile RB testi takip ediyordu. Aktif brusellozda IgM duyarlılığı % 83.33 iken IgM/IgG duyarlılığı % 100 olarak saptandı. Geçirilmiş bruselloz grubunda ise, IgM duyarlılığı % 8.33, IgG duyarlılığı % 75, IgM/IgG duyarlılığı % 87.5 olarak saptandı. Aktif bruselloz grubunda SWT 1/80 titrasyonda % 88.88, SWT 1/160 titrasyonda % 55.55, SWT 1/80 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 100, SWT 1/160 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 86.11 olarak saptandı. Geçirilmiş bruselloz grubunda; SWT 1/80 titrasyonda % 33.33, SWT 1/160 titrasyonda % 8.33, SWT 1/80 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 37.5, SWT 1/160 AHG ile birlikte değerlendirildiğinde % 8.33 olarak saptandı.

Sonuç olarak tarama testi olarak en az iki test ; AHG’li jel test + RB veya AHG’li jel test + ELISA (IgM + IgG) veya ELISA + RB, sadece bir tarama testi kullanılacaksa; aktif bruselloz grubunda % 100 duyarlılığı olan ELISA (IgM + IgG) veya AHG’li jel test kullanılması önerilmiştir. Titrimetrik testlerin ilk taramada yararının yüksek olmadığı görülmektedir. Ancak yüksek titrelerde olursa tanıyı kuvvetle desteklemektedir. Olguların izleminde titrasyon takibi açısından titrimetrik testler kullanılabilir. 2-ME testinin yorumunun da aktif bruselloz olgularında bile zor olduğu görülmektedir. Sonuç olarak duyarlılığı yüksek bir tarama testinin yanı sıra iyi bir klinik değerlendirme şarttır.

SUMMARY

Being endemic in our country, brucellosis is a zoonotic disease infected mostly by dairy products and caused by brucella type of bacteria. It is one of the oldest diseases known in medical history. Brucellosis prevalence varies according to the life style and areas in our country. Brucellosis causes many different clinical profiles as it can develop in all organs in the body. Diagnosis of a probable brucellosis case requires the mutual evaluation of different approaches such as routine haematological and biochemical laboratory tests, radiological examinations and brucella tests. Isolating brucella types from blood, bone marrow and tissue samples is accepted as the standard method. Isolation rate of the etiological agent is low depending on the phase of the disease, brucella type requiring antibiotic usage, culture media and the technique used. For this reason, laboratory diagnosis of brucellosis depends mostly on serologic and less on molecular tests. Due to the low sensitivity of the culture, as the PCR system standardization has not been provided yet, antibody tests are used commonly in brucellosis diagnosis. As the classical agglutination tests can be evaluated differently individually or among the laboratories, the possibility of alternative methods such as Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) and Anti Human Globulin (AHG) gel test started to be used against the standardization problem and in which more samples can be studied in short time taking the place of agglutination tests should be evaluated.

In the preliminary studies made between 04.07.2012-29.08.2013 and 17.06.2013-29.08.2013 in order to compare the serological tests used in laboratory diagnosis of human brucellosis, a conclusion stating that clinical information and observation is required in order to correctly evaluate the test results. For this reason, planning a prospective study in which RB test, SWT, 2ME test, agglutination test with AHG, ELISA IgG and IgM test and gel test with AHG can be studied together and proposing a suitable laboratory diagnosis algorithm for laboratory study conditions were aimed.

Serum samples of 103 patients who applied to Ege University Faculty of Medicine Hospital between 07.01.2014 - 28.01.2015 and had a clinical pre-diagnosis of brucellosis were studied for brucella serological tests. A case report form was prepared in order to record the clinical information and laboratory findings of the patients together with their medical history. Six patients whose necessary clinical information couldn't be reached and/or who didn't have satisfactory serum for AHG test and/or have a rheumatologic disease were not included in the study. Patients were separated into three groups after evaluating laboratory results and clinic findings: Those who have active brucellosis (group 1), who had brucellosis before (group 2) and those who don't have brucellosis (group 3).

Among 97 patient samples included in the study with brucellosis pre-diagnosis , 56 had RB positive, 40 had $SWT \geq 1/80$, 22 had $SWT \geq 1/160$, 33 had positive IgM, 49 had positive IgG, 59 had positive gel test scanning test, 43 had gel test $\geq 1/80$ and 30 had gel test $\geq 1/160$. 35 of the patients had negative results in all scanning tests (RB, ELISA IgM/IgG, Gel test), 51 had positive results in all scanning tests; there were no patients who had positive results only in RB test, four patients had negative results in the RB test only; two patients had positive results only in ELISA IgM/IgG test, four patients had negative test only in ELISA IgM/IgG test; one patient had negative result only in the gel test. In 86 patients all of the brucellosis scanning tests were found consistent (88.65%).

Sensitivity in 95% confidence interval, specificity, positive predictive value (PPD), negative predictive value (NPD), probability of being positive for any test result (PBPT) and probability of

being negative for any test result was calculated for all tests statistically. Sensitivity of the tests were compared after being calculated separately for Group 1 and Group 2.

The scanning test with highest sensitivity was found as the gel test with 98.33%. ELISA IgM/IgG with 95% and RB with 93.33% followed this. The scanning test which had the highest sensitivity in the group with active brucellosis was found as gel test with 100% and ELISA IgM/IgG tests with 100%. Sensitivity of RB test was found 97.22%. While scanning test with highest sensitivity was the gel test with 95.83% sensitivity in the group which had brucellosis before, ELISA IgM/IgG with 87.5% and RB test with 87.5% followed this. While IgM sensitivity was 83.33% in active brucellosis, IgM/IgG sensitivity was determined as 100%. In the group which had brucellosis before, IgM sensitivity was determined as 8.33%, IgG sensitivity as 75% and IgM/IgG sensitivity as 87.5%. In active brucellosis group, it was determined as 88.88 % in SWT 1/80 titration, 55.55% in SWT 1/160 titration, %100 when SWT 1/80 was evaluated with AHG and 86.11% when SWT 1/160 was evaluated with AHG. In previous brucellosis group, it was determined as 33.33% in SWT 1/80 titration, 8.33% in SWT 1/160 titration, %37,5 when SWT 1/80 was evaluated with AHG and 8.33% when SWT 1/160 was evaluated with AHG.

As a result if at least two tests will be used as scanning test; gel test with AHG + RB or gel test with AHG + ELISA (IgM + IgG) or ELISA + RB, if only one scanning test will be used, ELISA (IgM + IgG) with 100% sensitivity in brucellosis group or gel test with AHG is suggested. It is observed that titrimetric tests don't have high advantage in the first scanning. But it strongly supports the diagnosis in high titres. Titrimetric tests can be used in titration follow-up in case observation. It is also observed that 2-ME test interpretation is hard even in active brucellosis cases. As a result in addition to a scanning test with high sensitivity, a good clinic evaluation is a must.

KISALTMALAR

ABD : Amerika Birleşik Devletleri	mAb : Monoklonal antikor
AHG : Anti Human Globulin	MÖ : Milattan önce
BİV : Brusella içeren vakoul	MRG : Manyetik rezonans görüntüleme
BOS : Beyin omurilik sıvısı	N : Negatif
BPAT : Buffered antigen plate agglutination test	NK : Negatif kontrol
BT : Bilgisayarlı tomografi	NPD : Negatif prediktif değer
Bv : Biyovar	OD : Optik dansite
CK : Cut off kontrol	OPS : Oligopolisakkarit
CT : Coombs test	P : Pozitif
DİC : Dissemine intravasküler koagülasyon	PBS : Phosphate buffer saline
DSÖ : Dünya sağlık örgütü	PCR : Polimeraz chain reaction
DTT : Dithiothreitol	PK : Pozitif kontrol
EIA : Enzyme immunosorbent assay	PPD : Pozitif prediktif değer
EEA : Erken endozomal antijen	PSYP : Herhangi bir pozitif sonuç için pozitif olma olasılığı
ELISA : Enzyme linked immunesorbent assay	RB : Rose Bengal
ER : Endoplazmik retikulum	RES : Retikuloendotelyal sistem
FPA : Floresan polarizasyon assay	RF : Romatoid faktör
GİS : Gastrointestinal sistem	RIA : Radio immune assay
GNB : Gram negatif bakteri	RT : Real time
Gr - : Gram negatif	SD : Sınır değer
Gr + : Gram pozitif	SF : Serum Fizyolojik
HTSP : Herhangi bir test sonucu için negatif olma olasılığı	SOD : Süperoksit dismutaz
HTSN : Herhangi bir test sonucu için negatif olma olasılığı	SSS : Santral sinir sistemi
IFA : İndirect immune floresan antikor testi	SWT : Standart Wright Testi
KBT : Kompleman birleşme testi	TC : Türkiye Cumhuriyeti
Kc : Karaciğer	THSK : Türk Halk Sağlığı Kurumu
LAMP-1 : Lizozomal associated membrane glycoprotein 1	TH1 : T helper 1
LFA : Lateral flow assay	TMB : Trimetilbenzidin
LPS : Lipopolisakkarit	TMP/SMZ : Trimetoprim sulfometaksazol
	T4SS : Tip IV sekresyon sistemi
	UK : United Kingdom
	ZP : Zayıf pozitif
	2-ME : 2 Merkapto ethanol