

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BRUSELLOZLU ÇOCUKLARDA SERUM HEPsİDİN-25 VE ANJİOGENİN
(RNASE-5) DÜZEYLERİ**

DR. ÜMMÜ SELEME MUMCU

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2023



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BRUSELLOZLU ÇOCUKLARDA SERUM HEPsİDİN-25 VE ANGIOGENİN
(RNASE-5) DÜZEYLERİ**

DR. ÜMMÜ SELEME MUMCU

ORCID: 0000-0003-2079-3434

UZMANLIK TEZİ

Danışman: DOÇ. DR. ÖZGE METİN AKCAN

KONYA, 2023

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşarak bana yol gösteren, benden hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Meram Tıp Fakóltesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine,

Asistanlık dönemim boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, pek çok şey paylaştığım ve benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen kıymetli asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Şubat 2023

Dr. Ümmü Seleme Mumcu

ÖZET

BRUSELLOZLU ÇOCUKLARDA SERUM HEPİDİN-25 VE ANJİOGENİN (RNASE-5) DÜZEYLERİ

DR. ÜMMÜ SELEME MUMCU

UZMANLIK TEZİ, 2023

Bruselloz, brusella cinsi bakterilerin neden olduğu enfekte inek, keçi, koyun, domuz gibi hayvanların idrarı, doğum materyalleri, vücut sıvıları ile temas veya bu hayvanların iyi pişirilmemiş et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara bulaşabilen, dünya çapında en sık karşılaşılan zoonotik hastalıklardandır. Mortalitesi düşük bir hastalık olmasına rağmen özellikle bruselloz açısından endemik olan ülkemizde ve gelişmekte olan ülkelerde hem hayvanlarda hem de insanlarda morbiditesi yüksek olması ve gıda güvenliğini etkilemesinden dolayı önemli bir halk sağlığı sorunu ve ekonomik kayıp sebebi olmaya devam etmektedir. Bu çalışma ile antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal ve antisepsi özelliklerine sahip olan, anjiyogenez, inflamatuvar tepkiler, hücre sinyalleşmesi ve yara iyileşmesi gibi hücre içi süreçlerde, yeni ilaçların araştırılmasında ve geliştirilmesinde yeni adaylar olarak görülen antimikrobiyal peptitlerden (AMP) olan hepsidin-25 ve anjiogeninin (Rnase-5) brusellozlu çocuk hastalarda, sağlıklı çocuklara göre serum düzeylerinde değişiklik olup olmadığını belirlemek ve bu antimikrobiyal peptitlerin brusellozdaki rolünün araştırılması amaçlandı.

Çalışmamıza Kasım 2021-Eylül 2022 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları ile Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniklerine başvuran hastalarda yapılan tetkikler sonucu bruselloz olduğu tespit edilen (hasta grubu) ve kronik herhangi bir hastalığı olmayan, herhangi bir sebeple rutin kan alınacak (kontrol grubu) 36-216 ay arası çocuklar dahil edildi. Hasta grubunda 50 brusellozlu çocuk, kontrol grubunda 40 sağlıklı çocuk olmak üzere toplam 90 çocuk çalışmaya dahil edildi. Hastalardan bu testler için ayrıca kan alınmamıştır. Eğer hastanın tetkiklerinden artan serum örneği yoksa ekstra kan alınmayıp bu hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Tüm hastaların yaş ve cinsiyeti sorgulandı, bunlara ek olarak hasta grubundaki hastaların başvuru şikayetleri, ailede brusella enfeksiyonu varlığı, hayvancılıkla uğraş, almış olduğu brusella enfeksiyonunun tanısı, verilen tedavinin süresi ve tedavi planı incelendi. Hastaların serumlarından hepsidin-25 ve anjiogenin düzeyleri çalışıldı, enfeksiyonun olduğu hastalarda tam kan sayımı, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ile bu antimikrobiyal peptit düzeyleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlandı. Alınan kanlardan kalan serumlar, çalışma sonunda toplu olarak çalışılmak üzere, hepsidin-25 ve anjiogenin çalışılması için santrifüj edilip eppendorf tüplerine aktararak çalışılana kadar -80°C'de saklandı. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 18.0 programı kullanıldı ve istatistiksel anlamlılık için tip-1 hata düzeyi %5 olarak kabul edildi.

Çalışmaya 90 hasta dahil edilmiş olup olguların %60.0'ı erkek (n=54) ve %40.0'ı kız (n=36) idi. Bruselloz tanısı olan hastaların yaş ortalaması 146,56±53,36 aydı. Grupların yaş dağılımı benzer olarak tespit edildi (p=0,074). Hastaların en sık başvuru şikayetleri eklem ağrısı (%76), ateş (%32), kilo kaybı (%18) ve baş ağrısı (%18) idi. Elli bruselloz hastasının %50,0'ında ailede brusella enfeksiyonu öyküsü vardı, %90,0'ının ailesi hayvancılıkla uğraşmaktaydı. Kan kültürü alınan 32 bruselloz hastasının %31,3'ünde (n=10) üreme saptandı. Hastalarda görülen komplikasyonlar %4 (n=2) nörobruselloz, %14 (n=7) relaps, %2 (n=1) epididimoorşit, %2 (n=1) sakroileit idi. Hastaların %80,0'ına (n=40) ikili, %20,0'ına (n=10) üçlü tedavi verildi. Üçlü antibiyotik tedavisi verilen hastalar nörobruselloz, sakroileit ve relapsı olan hastalardı. Nörobrusellozu olan (n=7) hastaların

tedavisine seftriakson da ilave edildi. Hastaların tedavi süreleri %76,0'ısında (n=38) 6 hafta, %18,0'ında (n=9) 8 hafta, %6,0'ında (n=3) 3 aya kadar uzatıldı. Hasta ve kontrol gruplarının hepsidin-25 düzeyleri (p=0,295) ve anjiogenin düzeyleri (p=0,742) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Hepsidin-25 ve anjiogenin düzeyleri ile yaş ve laboratuvar parametreleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi (p>0,05). Çalışmamızdaki komplikasyonu olan (nörobruselloz, epididimoorşit ve sakroileit) dört hasta ile diğer hastalar arasındaki hepsidin-25 (p=0,618) ve anjiogenin (p=0,681) düzeyleri benzerdi. Aynı şekilde relaps olan yedi hasta ile diğer hastaların hepsidin-25 (p=0,614) ve anjiogenin (p=0,815) düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı.

Çalışmamızda sentez yerlerinden birisi karaciğer olan hepsidin-25 ve anjiogenin düzeylerinin brusellozlu ve sağlıklı çocuklar arasında anlamlı bir farkının olmadığı görülmüştür. Bruselloz patogenezinin daha iyi anlaşılmasına yönelik daha fazla hasta sayısının yer aldığı ve diğer antimikrobiyal peptitlerin dahil edildiği daha kapsamlı prospektif çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Brusella, hepsidin-25, anjiogenin (Rnase-5), antimikrobiyal peptit, çocuk

ABSTRACT

SERUM HEPCIDIN-25 AND ANGIOGENIN (RNASE-5) LEVELS IN CHILDREN WITH BRUSELLOSIS

DR. ÜMMÜ SELEME MUMCU

SPECIALTY THESIS, 2023

Brucellosis is one of the most common zoonotic diseases worldwide which can be transmitted to humans by contact with urine, birth materials, body fluids of animals such as infected cows, goats, sheep and pigs due to brucella bacteria, or by consuming undercooked meat, milk and dairy products of these animals. Although it is a disease with low mortality, it continues to be an important public health problem and cause of economic loss, especially in our country which is endemic in terms of brucellosis, and in developing countries, as it has high morbidity in both animals and humans and affects food safety. The aim of this study is to determine whether there is a change in serum levels of Hecpidin-25 and angiogenin in pediatric patients with brucellosis compared to healthy children, which are antimicrobial peptides (AMP), which have antibacterial, antifungal, antiviral, antiprotozoal and antiseptis properties, seen as new candidates in the research and development of new drugs in intracellular processes such as angiogenesis, inflammatory responses, cell signaling and wound healing, and to investigate the role of these antimicrobial peptides in brucellosis.

In our study, as a result of the examinations performed on patients who applied to Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty, Department of Pediatric Diseases and Pediatric Infectious Diseases and Pediatric Health and Diseases polyclinics between

November 2021 and September 2022, children aged 36 to 216 months who were found to have brucellosis (case group) and who did not have any chronic disease and would give routine blood for any reason (control group) were included in our study. A total of 90 children, including 50 children with brucellosis in the case group and 40 healthy children in the control group, were included in the study. No blood was taken from the patients for these tests. If there is no residual serum sample from the patient's tests, extra blood was not taken and these patients were excluded from the study. Age and gender of all patients were questioned, in addition to these, complaints of patients in the case group, presence of brucella infection in the family, dealing with animal husbandry, diagnosis of brucella infection, duration of treatment and treatment plan were examined. Hepcidin-25 and angiogenin levels in the serum of the patients were studied, complete blood count, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESH) and the relationship between these antimicrobial peptide levels were evaluated. The residual Serum from the collected blood were transferred to eppendorf tubes after centrifugation to study hepcidin-25 and angiogenin collectively at the end of the study and stored at -80°C . SPSS for Windows version 18.0 program was used for statistical analysis and type-1 error level was accepted as 5% for statistical significance.

90 patients were included in the study and 60.0% of the cases were male (n=54) and 40.0% were female (n=36). The mean age of the patients diagnosed with brucellosis was 146.56 ± 53.36 months. The age distribution of the groups was found to be similar ($p=0.074$). The most common complaints of the patients were joint pain (76%), fever (32%), weight loss (18%) and headache (18%). Of 50 brucellosis patients, 50.0% had a family history of brucella infection, 90.0% of them were engaged in animal husbandry. Reproduction was detected in 31.3% (n=10) of 32 brucellosis patients whose blood cultures were taken. Complications in the patients were 4% (n=2) neurobrucellosis, 14% (n=7) relapse, 2% (n=1) epididymo orchitis, 2% (n=1) sacroiliitis. Patients given triple antibiotic therapy were those with neurobrucellosis, sacroiliitis and relapse. Ceftriaxone was also added to the treatment of patients with neurobrucellosis (n=7). The duration of treatment was extended to 6 weeks in 76.0% (n=38), 8 weeks in 18.0% (n=9), and up to 3 months in 6.0% (n=3). There was no statistically significant difference between hepcidin-25 levels ($p=0.295$) and angiogenin

levels ($p=0.742$) of the case and control groups. No statistically significant correlation was found between hepcidin-25 and angiogenin levels and age and laboratory parameters ($p>0.05$). Hepcidin-25 ($p=0.618$) and angiogenin ($p=0.681$) levels were similar between the four patients with complications (neurobrucellosis, epididymo orchitis, and sacroiliitis) and the other patients in our study. Similarly, there was no statistically significant difference between hepcidin-25 ($p=0.614$) and angiogenin ($p=0.815$) levels of seven patients who had relapse and the other patients.

In our study, it was observed that hepcidin-25 and angiogenin levels, one of the synthesis sites of which is liver, did not differ significantly between healthy children and those with brucellosis. We believe that more comprehensive prospective studies with a larger number of patients and inclusion of other antimicrobial peptides should be conducted to better understand the pathogenesis of brucellosis.

Keywords: Brucella, hepcidin-25, angiogenin (Rnase-5), antimicrobial peptide, child

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar	xii
ŞEKİLLER	xiii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	1
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 BRUSELLOZ	5
2.1.1 Tanım	5
2.1.2 Tarihçe	5
2.1.3 Epidemiyoloji	6
2.1.4 Sınıflandırma.....	7
2.1.5 Morfoloji ve Antijenik Yapı.....	8
2.1.6 İnsanlara Bulaşma Yolları	12
2.1.7 Patogenez	13
2.1.7 Klinik.....	15
2.1.8 Komplikasyonlar.....	17
2.1.9 Tanı	24

2.1.10 Tedavi.....	37
2.1.11 Korunma ve Kontrol	40
2.1.12 İzlem ve Prognoz	42
2.2 Antimikrobiyal Peptitler	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
İstatistiksel Analiz.....	47
4. BULGULAR.....	48
4.1. Çalışma Grubunun Demografik Verileri	48
4.2. Hastaların Laboratuar Bulguları.....	49
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR.....	59
7. KAYNAKLAR	60

TABLolar

Sayfa no

Tablo 2.1 Brusella türleri, biyovarları ve konakçıları	8
Tablo 2.2 İnsanda enfeksiyon yapan brusellaları ayıran özellikler	9
Tablo 2.3 Brusellozda risk grupları	13
Tablo 2.4 Brusellozun farklı evrelerinde spesifik immünglobulinlerin değerlendirilmesi..	34
Tablo 2.5 Brusellozun ayırıcı tanısında enfeksiyon ve enfeksiyon dışı hastalıkları.....	36
Tablo 2.6 Bruselloz tedavisinde önerilen tedavi.....	39
Tablo 2.7 Antimikrobiyal peptitlerin çeşitli şekillerde sınıflandırılmaları.....	43
Tablo 4.1 Hastaların başvuru şikayetleri.....	48
Tablo 4.2 Hastaların hastalık özelliklerine ilişkin bulgular.....	49
Tablo 4.3 Hastaların bazı laboratuvar parametrelerinin değerleri.....	50
Tablo 4.4 Hasta ve kontrol grubunda hepsidin-25 ve anjiogenin değerlerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.5 Hastaların hepsidin-25 ve anjiogenin düzeylerinin yaş ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisi.....	51
Tablo 4.6 Hastalarda komplikasyon varlığı, komplikasyon türleri ve relaps varlığına göre hepsidin-25 ve anjiogenin değerlerinin karşılaştırılması.....	52

ŞEKİLLER

Sayfa no

Şekil 2.1 Türkiye’de bruselloz vakalarının bölgelere göre dağılımı	7
Şekil 2.2 Kan kültürlerindeki şüpheli üremelerden izolasyon, tanımlama ve Referans merkeze gönderme kriterleri için akış şeması.....	26
Şekil 2.3 Brusellozda oluşan aglütinan (solda) ve blokan (ortada) antikorlar. Blokan antikorların varlığı durumunda ortama anti-human IgG eklenmesi ile aglütinasyon gerçekleşmesi (sağda).....	33

SİMGELER ve KISALTMALAR

ALT: Alanin aminotransferaz

AMP: Antimikrobiyal peptit

ANG: Anjiogenin

AST: Aspartat aminotransferaz

BGD-3: Biyogüvenlik düzeyi 3

BOS: Beyin omurilik sıvısı

CO₂: Karbondioksit

CRP: C-reaktif protein

CT: Coombs testi

DNA: Deoksiribonükleik asit

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

ESH: Eritrosit sedimantasyon hızı

HLA: Human Leucocyte Antigen

HNP: Human nötrofil peptit

H₂S: Hidrojen sülfür

IFN- γ : İnterferon gama

Ig: İmmunoglobulin

İM: İntramuskuler

İV: İntravenöz

KFT: Kompleman fiksasyon testi

KKA: Koyun kanlı agar

LPS: Lipopolisakkarit

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

NBA: Nedeni bilinmeyen ateş

NH: Natif hapten

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

Poly-B: B polisakkaridi

RB: Rose Bengal

RES: Retikuloendotelyal sistem

SAT: Standart/serum aglutinasyon testi

SMZ: Sülfametoksazol

TMP: Trimetoprim

TNF: Tümör nekroz faktör

USG: Ultrasonografi

2-ME: 2-Mercaptoethanol



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bruselloz, brusella cinsi fakültatif hücre içi patojenlerin neden olduğu, enfekte hayvanların idrarı, doğum materyalleri, vücut sıvıları ile temas veya bu hayvanların iyi pişirilmemiş et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara bulaşabilen zoonotik hastalıklardan biridir (Saddique ve ark. 2019). Mortalitesi düşük bir hastalık olmasına rağmen özellikle gelişmekte olan ülkelerde hem hayvanlarda hem de insanlarda morbiditesi yüksek olması ve gıda güvenliğini etkilemesinden dolayı önemli bir halk sağlığı sorunu ve ekonomik kayıp sebebi olmaya devam etmektedir (Çakır ve Yıldırım 2018). Yılda yaklaşık 500.000 insan bruselloz vakası rapor edilmiştir; bununla birlikte, gerçek insidansın yılda 5.000.000 ile 12.500.000 vaka olduğu tahmin edilmektedir (Berger 2019). Tanı yanlışlığı, bildirimlerdeki azlık, halk sağlığı ve veteriner birimleri arasında iyi bilgi aktarımı olmaması gibi nedenlerden dolayı hastalığın gerçek insidansı bilinmemektedir. (Dadar ve ark. 2019).

Ülkemizde bruselloz her yaşta görülebilmektedir; fakat insidans 15-34 yaş aralığında (%54) daha sıktır (Yumuk ve O'Callaghan 2012). Çocuklardaki bruselloz vakalarının çoğunluğunu beş yaşından büyükler oluşturmaktadır. Bu, pastörize edilmemiş süt tüketimi ve hayvan bakımı için çalışma ile yüksek ilişkilidir (Tanir ve ark. 2009).

Brusella deri, gastrointestinal sistem, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra, ilk üremesini bölgesel lenf bezlerinde (mezenterik, servikal, supraklaviküler, aksiller) yaparak hematojen yolla retikuloendotelial sistem (RES) organlarına ve tüm vücuda yayılır (Young 2005, Willke ve ark. 2008). Bu bakteriler fakültatif intrasellüler patojenler olup, konakçının fagositik hücreleri içerisinde çoğalabilirler. İntrasellüler mekanizmalar ile öldürülemeyen bakteriler yerleştiği RES organlarını büyütür. Hücre içerisinde üremekte olan bakteri, aynı zamanda antikor tehdidinden ve kullanılan antimikrobiyal ajanlardan uzun süre korunmuş olur. Bu nedenle tedavinin uzun sürmesi gerekmektedir (Doganay ve Aygen 2003).

Brusellozda belirti ve bulgular nonspesifiktir, herhangi bir organ veya sistemi tutabilir. Spesifik olmayan semptomlar akut ya da sinsi bir şekilde kendini gösterebilir. Klinik altta yatan hastalık olup olmamasına, kişinin bağışıklık durumuna ve bakterinin türüne göre değişir (Mantur ve ark. 2007). Klinik görünüm değişken olabilmekle birlikte hastaların çoğunda ateş, artralji/artrit ve hepatosplenomegali üçlüsü görülür. Bazı hastalar nedeni bilinmeyen ateş (NBA) şeklinde başvurabilir. Diğer semptomlar karın ağrısı, halsizlik/yorgunluk, baş ağrısı, döküntü, ishal, gece terlemeleri, kusma, öksürüktür.

Çocuklarda diğerk sık görülen semptomlar iştahsızlık, kilo alamama ve gelişme geriliğidir (Schutze ve Jacobs 2013).

Konak savunma peptitleri olarak da bilinen antimikrobiyal peptitler (AMP); bakterilerden memelilere kadar tüm organizmalar tarafından üretilen ve geniş bir patojen yelpazesine karşı birincil savunma görevi gören kısa aminoasit dizileridir (Raheem ve Straus 2019). AMP'ler, antimikrobiyal etkilerinin yanında birçok biyolojik proseste sinyalleme, immün modölatör, mitojen gibi multifonksiyonel olarak yer alabilmektedirler (Akar ve Çetin Uyanıkgil 2020). Anjiyogenez, inflamatuvar tepkiler, hücre sinyalleşmesi ve yara iyileşmesi gibi hücre içi süreçlerde, yeni ilaçların araştırılmasında ve geliştirilmesinde yeni adaylar olarak görölmektedir (Zaiou 2007, Kim ve ark. 2015).

Brusellanın temel olarak etkilediğı sistemlerden olan RES organı karaciğerde üretilen AMP'lerden ikisi hepsidin 25 ve anjiogenin (ANG)'dir (Wang 2014). Literatürde bruselloz ile hepsidin-25 ve ANG antimikrobiyal peptitleriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın amacı brusellozlu çocuk hastalarda normal sağlıklı çocuklara göre serum hepsidin-25 ve ANG düzeylerinde değışiklik olup olmadığını belirlemek ve bu antimikrobiyal peptitlerin bruselloz patogenezindeki rolüne ışık tutmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 BRUSELLOZ

2.1.1 Tanım

Bruselloz, brusella cinsi bakterilerin neden olduğu enfekte inek, keçi, koyun, domuz gibi hayvanların idrarı, doğum materyalleri, vücut sıvıları ile temas veya bu hayvanların iyi pişirilmemiş et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara bulaşabilen, dünya çapında en sık karşılaşılan zoonotik hastalıklardan biridir (Saddique ve ark. 2019).

2.1.2 Tarihçe

Bruselloz ilk olarak 1859'da İngiliz Kraliyet Ordusu Tabip Birlikleri doktoru J. A. Marston tarafından Kırım savaşı sırasında Malta'daki birlikler arasında tanımlanmıştır. Malta Ateş Komisyonunu yöneten Tümgeneral Sir David Bruce 1886'da hastalıktan etkilenen bir hastanın dalağından *Brucella melitensis*'i hastalıktan sorumlu organizma olarak tanımladı (Harrison ve Posada 2018).

Bruselloz, ilk kez Malta adasında saptandığından dolayı Malta humması, Akdeniz humması, Gibraltarı humması, tipik ateş seyri nedeniyle dalgalı humma/ondülan ateş, koyunlardan insanlara bulaşması nedeni ile koyun hastalığı veya mal hastalığı olarak tanımlanmıştır (Mirnejad ve ark. 2017).

1905 yılında Sir Themistocles Zammit, enfekte keçilerin sütleriyle bruselloz bulaştırdığını tespit etti (Głowacka ve ark. 2018).

Bang, 1895'te sığırlarda düşüklere sebep olan *Brucella abortus*'u, Traum 1914'te domuzlardan *Brucella suis*'i izole etmiştir. 1918'de Evans bu bakterilerin hepsini Brucella grubu adı ile bir araya toplamıştır. 1953'te koyunlardan *Brucella ovis*, 1957'de ratlardan *Brucella neotomae*, 1966'da köpeklerden *Brucella canis* izole edilmiştir (Bennett ve ark. 2019).

2007 yılında Ewalt, Ross ve arkadaşları tarafından *Brucella pinnipediae* ve *Brucella ceteace* tanımlanmıştır. Son olarak, 2008 yılında Scholz ve arkadaşları tarafından *Brucella microti* izole edilmiştir (Hördt ve ark. 2020).

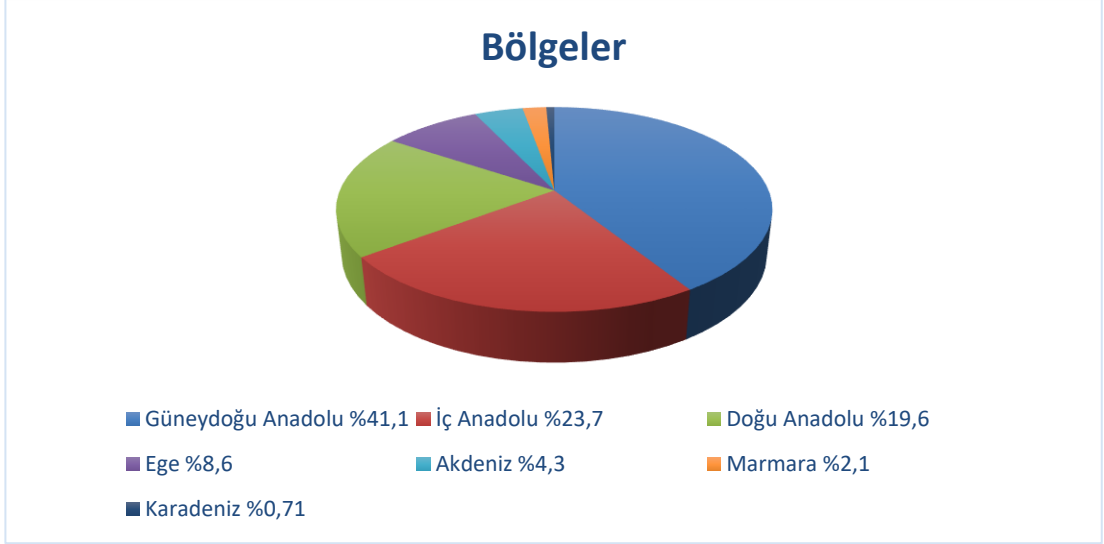
Brusella ülkemizde ilk kez 1915 yılında Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından tespit edilmiştir. 1931-1932 yıllarında sığırlarda ilk izolasyon Berke tarafından,

koyunlarda *B. melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında Bandırma merinos çiftliğinde saptandı. Yine Türkiye’de insan ve hayvanlarda brusellozun serolojik yöntemlerle saptanması Golem tarafından 1943 yılında bildirildi (Çakır ve Yıldırım 2018).

2.1.3 Epidemiyoloji

Bruselloz mortalitesi düşük bir hastalık olmasına rağmen özellikle gelişmekte olan ülkelerde hem hayvanlarda hem de insanlarda morbiditesi yüksek olması ve gıda güvenliğini etkilemesinden dolayı önemli bir halk sağlığı sorunu ve ekonomik kayıp sebebi olmaya devam etmektedir (Çakır ve Yıldırım 2018). Yılda yaklaşık 500.000 insan bruselloz vakası rapor edilmiştir; bununla birlikte, gerçek insidansın yılda 5.000.000 ile 12.500.000 vaka olduğu tahmin edilmektedir (Berger 2019). Tanı yanlışlığı, bildirimlerdeki azlık, halk sağlığı ve veteriner birimleri arasında iyi bilgi aktarımı olmaması gibi nedenlerden dolayı hastalığın gerçek insidansı bilinmemektedir. İnsidans bölgeden bölgeye, ülkeden ülkeye göre ve türler arasında da değişkenlik göstermektedir. Latin Amerika ve Akdeniz ülkelerinde *B. melitensis*, Amerika Birleşik Devletleri ve Kuzey Avrupa’da *B. abortus* daha sık görülen türlerdir. Hastalığın en fazla endemik olduğu yerler ise Basra körfezi, Akdeniz havzası ülkeleri, Meksika, Hindistan, santral ve güney Amerika’nın bir kısmıdır (Dadar ve ark. 2019).

Bruselloz açısından endemik olan ülkemizde hastalık önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (Gül ve ark. 2014). Türkiye’de brusella seropozitiflik oranı %2-6 arasında değişmektedir (Çakır ve Yıldırım 2018). Vakalar özellikle Doğu, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu illerinde yoğunlaşmaktadır. Ülkemizde bruselloz vakalarının çoğunluğunu *B. melitensis* oluştururken, ikinci sırada *B. abortus* bulunmaktadır. Türkiye’de *B. suis* görülme sıklığı ile ilgili bilgi bulunmamaktadır (Yumuk ve O’Callaghan 2012). Türkiye’de bruselloz olgularının bölgelere göre dağılımı Şekil 2. 1’de özetlenmiştir.



Şekil 2.1. Türkiye’de Bruselloz Vakalarının Bölgelere Göre Dağılımı (Yüce ve ark. 2006)

Ülkemizde bruselloz her yaşta görülebilmektedir; fakat insidans 15-34 yaş aralığında (%54) daha sıktır. Türkiye’de hastalık tüm aylarda görülebilmektedir yaz aylarında daha çok ortaya çıkmaktadır. İnsanların kırsal kesimlere seyahat etmeleri, süt ve süt ürünlerinden peynir ve yağları taze olarak elde etmeleri enfeksiyonun yaz mevsiminde dört kat fazla görülmesine neden olmaktadır (Yumuk ve O’Callaghan 2012). Çocuklardaki bruselloz vakalarının çoğunluğunu beş yaşından büyükler oluşturmaktadır. Bu, pastörize edilmemiş süt tüketimi ve hayvan bakımı için çalışma ile yüksek ilişkilidir (Tanir ve ark. 2009). Bruselloz vakalarında cinsiyetler arasında büyük bir fark görülmemiştir (Long ve ark. 2003).

2.1.4 Sınıflandırma

Brusella cinsi bakteriler Proteobacteriaceae’ların Alphaproteobacteria sınıfında Rhizobiales takımında Brucellaceae familyasında bulunurlar (Schurig ve ark. 2002). Yapılan deoksiribonükleik asit (DNA)-DNA hibridizasyon çalışmalarında hepsinin *B. melitensis*’in alt türü olduğu gösterilmiştir (Chain ve ark. 2005). Terminolojide karışıklık olmaması için hepsi eski isimleri ile adlandırılmaya devam edilmektedir (Willke ve ark. 2008, Garcia ve ark. 2009).

Brusella cinsi bakterilerden bilinen 10 tür vardır. *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ceti*, *B. microti*, *B. pinnipedialis* ve *B. inopinata* (Petrović ve Cvetnić 2017). *B. melitensis*, başlıca koyun ve keçilerde; *B. abortus*, sığır ve mandalarda; *B.*

suis domuzlarda; *B. canis* köpeklerde enfeksiyon yapmakta olup, *B. neotomae* ve *B. ovis* dışındakiler insan için patojendir (Corbel 2006). Deniz memelilerinden izole edilen bir tür olan *Brucella maris* henüz sınıflandırmada yerini almamıştır. İnsanlar *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis* türleri ile enfekte olsalar da dünya genelinde en invaziv ve patojen olan *B. melitensis*'tir. Her bir brucella türünün fizyolojik ve biyokimyasal özellikleriyle birbirlerinden ayrılabilen çeşitli biyotipleri vardır. *B. melitensis*'in üç biyotipi, *B. abortus*'un dokuz biyotipi, *B. suis*'in 5 biyotipi ve diğer türlerin ise birer biyotipleri vardır (Willke ve ark. 2008). Brusella türlerinin biyotip düzeyindeki identifikasyonları için başlıca dört ana test uygulanmaktadır. Bunlar karbondioksit (CO₂) gereksinimi, hidrojen sülfür (H₂S) üretimi, bazik fuksin ve tiyonin boyaları ile inhibisyona duyarlılık ve monospesifik A, M ve R serumları ile aglütinasyondur (Erdenliğ 2003). Brusella türleri ve en sık hangi canlılarda enfeksiyon yaptıkları Tablo 2.1'de gösterilmiştir (McDonald ve ark. 2006).

Tablo 2.1 Brusella türleri, biyovarları ve konakçıları (McDonald ve ark. 2006)

Brusella türleri	Biyovarlar	Konakçı(lar)	İnsan için patojenitesi
<i>B. melitensis</i>	1-3	Koyun, keçi	Yüksek
<i>B. abortus</i>	1-6,9	Sığır	Yüksek
<i>B. suis</i>	1,3	Domuz	Yüksek
	2	Vahşi domuz	Yok*
	4	Tavşan	Yüksek
	5	Ren geyiği	Yok
<i>B. neotomae</i>	-	Kemirgenler	Yok
<i>B. ovis</i>	-	Ağaç faresi	Yok
<i>B. canis</i>	-	Koç	Orta
<i>B. ceti</i>	-	Köpek	Bilinmiyor**
<i>B. pinnipedialis</i>	-	Su memelileri	Bilinmiyor**
	-	Yüzgeç ayaklılar	Bilinmiyor
<i>B. microti</i>	-	Çöl faresi, tilki	Yüksek
<i>B. inopinata</i>	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor

*Fransa'da bağışıklık sistemi baskılanmış bir avcıda *B. suis* biovar 2 enfeksiyonu tanımlanmıştır. **İngiltere'de bir laboratuvar kontaminasyonu tanımlanmıştır. İki doğal kazanılmış vaka tanımlanmış, buna rağmen enfeksiyon kaynağının hangi deniz memelisi olduğuna dair köken takibi yapılmamıştır.

2.1.5 Morfoloji ve Antijenik Yapı

Brusella cinsi bakteriler, gram negatif, 0,6-1,5 µm boyunda, 0,5-0,7 µm eninde kokobasil şeklinde, sporsuz ve hareketsiz bakterilerdir. Koloni formu olarak Smooth (S) ve

Rough (R) formu şekllindedirler (Ahmed ve ark. 2016). Taze kültürlerden elde edilen S tipi kolonilerde ince bir kapsülün varlığı saptanmasına rağmen, pasajlar sonrasında ve R koloni formlarında bu kapsülün kaybolduğu dikkati çeker. Bu nedenle etkenler, kapsülsüz olarak kabul edilirler. Brusella türleri aerofilik veya mikroaerofilik özellikte ve katalaz pozitif etkenlerdir. Endospor oluşturmazlar. Üreyi hidroliz etmeleri, bazik fuksin ve tiyonin dirençli olmaları, H₂S üretmelerine göre türlere ayrılmaları Tablo 2.2’de gösterilmiştir. *B. ovis* ve *B. neotomae* dışındaki türler oksidaz pozitifdir. *B. ovis* hariç tüm brusella türleri üreaz pozitifdir. Türlerin hepsi nitratları nitritlere indirgerler (Quinn ve ark. 2002). Karbonhidratlardan asit ve gaz oluşturmada üremekle beraber, glukozu az kullanırlar. Sütte hafif alkali reaksiyon verirler. İndol oluşturmaz ve jelatini eritmezler. VogesProscauer ve metil red testleri negatiftir. *B. suis* biyovar 1 hariç diğer biyovarlar, H₂S üretmemeleri ile diğer türlerden ayrılır (Seleem ve ark. 2010).

Tablo 2.2 İnsanda enfeksiyon yapan brusellaları ayıran özellikler (Willke ve ark. 2008)

Test	<i>B.abortus</i>	<i>B. melitensis</i>	<i>B.suis</i>	<i>B.canis</i>
Boyalara duyarlılık	Dirençli	Dirençli	Duyarlı	Duyarlı
Bazik fuksin	Duyarlı	Dirençli	Dirençli	Dirençli
Tionin				
Üre hidrolizi	>90 dk	>90 dk	<90 dk	<90 dk
H ₂ S oluşumu	2-5 gün	Yok	1-6 gün	Yok
Tb fajı ile lizis	+	-	-	-
Karbondioksite gereksinim	+/-	-	-	-

Tb: Tbilisi.

Brusella türleri fakültatif hücre içi mikroorganizmalar olmaları sebebiyle beslenme gereksinimleri karmaşıktır. Bazı türlerin üreyebilmeleri için besiyerlerine niasin, tiamin, nikotinik asit, biotin ve bazen serum da eklemek gerekir. Üretilmeleri için brucella buyyon ve brucella agar, beyin-kalp infüzyon agar, karaciğer infüzyon agar, trypticase soya agarı, kanlı agar, albimi buyyon ve agar gibi çeşitli besiyerleri kullanılmaktadır. Türlerin en uygun üreme ısıları 37°C olmakla birlikte, 10–40°C arasında da üreyebilirler. Optimal üreme pH’ları 6,7–7,4 arasındadır. Bazı *B. abortus* ve *B. ovis* biyovarları ilk izolasyonlarında %5–10 oranında CO₂’e ihtiyaç duyarlar. Koloniler inkubasyondan 2–3 gün sonra görülebilmekte ve 4–5 gün sonra 2–3 mm çapa ulaşmaktadırlar. Zenginleştirilmiş besiyerlerinde *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis*’ in ilk izolasyondaki kolonileri 3–5 günlük inkubasyon sonunda S formda, düzgün

kenarlı, küçük, konveks, nemli, parlak, mavimtırak ve yarı saydamdır. Koloniler eskidikçe matlaşır (Aydın ve ark. 2006). *B. canis* ve *B. ovis*'in ise ilk izolasyondaki kolonileri R koloni formundadır. Bu koloniler sarımsı, mat, sönük ve kolay dağılılabilen özelliktedir. Bu iki ana S ve R formundan başka, intermedier (I) ve mukoid (M) özellik gösteren koloni varyasyonları da bulunmaktadır. Ayrıca brusellaların antibiyotik ve kimyasal maddelerden etkilenmeleriyle L formları (hücre duvarı olmayan) da meydana gelebilmektedir. Etkenler sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık ve dipte de yumurta akı benzeri tortu oluşturarak yavaş ürerler. R koloni formundakiler, tüp çalkalandığında granüler şekilde ortama dağılma tarzında ürerler (Corbel 2006).

Brusellalar fimbria, kapsül, plazmid, ekzotoksin, sitolizin ve proteaz gibi virulans faktörlerinden yoksundurlar. Türler ve biyotipler; bakterinin enfekte ettiği konakçı, fenotipik karakterleri, koloni görünümüleri, biyokimyasal testler, spesifik kültür ihtiyaçları, CO₂ gereksinimleri, H₂S üretmeleri, boyalara karşı olan duyarlılıkları ve bazı metabolik özelliklerine göre belirlenmektedir (He 2012).

Diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi brusellaların yüzey katmanları en içteki sitoplazma membranı, bunu çevreleyen bir peptidoglikan tabaka ve fosfolipitlipopolisakkarit (LPS) proteinlerini içeren bir dış membrandan oluşur. Hücre duvarı bakterinin stabilizasyonu için fonksiyonel ve anatomik bir bariyer olup, hastalık sırasında konak immunitesi ile ilk karşılaşan kısımdır. Brusellaların antijenik yapıları türlere göre farklılıklar göstermektedir. Farklı suşlarla yapılan çalışmalar, birçok brusella antijeninin tüm suşlarda ortak bulunduğunu, sadece somatik LPS antijenlerinin S tipli koloni oluşturan ve oluşturmayan suşlarda önemli farklılıklar gösterdiğini, dış membran proteinlerinin ise farklı türlerde değişik yapılarda olduğunu göstermiştir. Major antijen olan LPS antijenleri hücre yüzeyinde yer aldıkları halde, protein antijenlerinin büyük kısmı hücre içinde bulunur. S ve R formunda koloni oluşturan suşların çözünebilir ekstreleri incelendiğinde ortaya çıkan en belirgin antijenin LPS'ler (S-LPS ve R-LPS) olduğu görülmektedir. Bu önemli antijenlerin yanı sıra natif haptin (NH) ve B polisakkaridi (poly-B) bulunmaktadır. Bakteride yer alan S-LPS'ler; aglütinasyon, komplement fiksasyon, Rose Bengal (RB) testlerinde rol oynayan major antijenlerdir ve en önemli virülans faktörleridir. S-LPS bakterinin hücreye girişini ve enfekte hücrenin tanınmasını engelleyerek bağışıklık sistemi aracılı öldürülmesini engellemektedir. S-LPS'e sahip olan brusella türleri, R-LPS'e sahip *B. canis*'e göre polimorfonükleer ve mononükleer lökositler içerisinde daha kolay yaşamını sürdürebilir. Bundan dolayı bu türler *B. canis*'e göre

daha virulandır. Bir diğerk önemli virulans faktörü ise bakterinin adenin ve guanin monofosfat üreterek fagolizozom oluşumunu, tümör nekroz faktör (TNF) üretimini, miyeloperoksidaz aktivasyonunu inhibe etmesidir (Uzun ve Ünal 2002, Christopher 2010). NH ve poly-B haptenleri ise, enfekte hayvanları aşılannışlardan ayırt etmede kullanılmaktadır. Brusella türlerinin S tipi koloni oluşturan suşlarında (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*), A (abortus) ve M (melitensis) epitoplarının varlığı saptanmıştır (Corbel 2006). *B. abortus* ve *B. suis*'te A antijeni fazla, M antijeni az; *B. melitensis*'te ise M antijeni fazla A antijeni az miktardadır. Bu miktarlar oran olarak ifade edildiğinde, *B. abortus* ve *B. suis*'te A/M oranı 20/1 iken, *B. melitensis*'te bu oran 1/20'dir. Bu nedenle serolojik metodlar ile *B. melitensis*; *B. abortus* ve *B. suis*'ten ayırt edilebilmekte, ancak *B. abortus*'u *B. suis*'ten ayırmak mümkün olmamaktadır (Aydın ve ark. 2006). S şeklindeki Brusella suşları ile *Escherichia coli* O:116 ve O:157, *Francisella tularensis*, N grubu *Salmonella*'lar, *Pseudomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* O:9 bakterileri arasında çapraz reaksiyonlar saptanmıştır. Bu ilişkiden sorumlu olan kısım, belirtilen tüm bu bakterilerde ortak olarak bulunan, S-LPS'lere bağlı karbonhidratın O zincirindeki 4-6 dideoksi-4-amino-D-mannoz (N-acil-D-perozamin) bölgesidir (Madkour 2008, Dağlar ve Baysan 2014)

Bütün brusella tipleri pastörizasyonla 10–15 dakikada, %1 fenol eriyiğinde 15 dakikada, %2 formalin ve %1 lizol içinde 15 dakikada ölürlür. Türlerin canlı kalma süreleri ortam sıcaklığı, nem ve güneş ışığına bağlıdır. Ahırlarda altı hafta, suda ise on hafta canlı kalabilir. Toprakta on hafta, gübrede iki yıl, 4-8 °C'de saklanan keçi peynirinde ise altı aydan daha uzun süre yaşadığı görülmüştür. Kuru toprakta dört gün veya daha az yaşayabilirken, nemli toprakta bu süre 66 gündür. Aynı şekilde gübrede yazın bir gün, kışın 53 gün hayatta kalabilir. İnsan idrarında en az yedi gün, düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, sütte birkaç gün, enfekte çiğ süttten yapılmış dondurmada 30 gün, çiğ süttten yapılmış buzdolabındaki tuzsuz krema yağında 142 gün, %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, %17 tuz içeren salamura peynirde ise bir ay yaşayabilmektedir. Kültürler ise -20 °C'de altı ay kadar canlılığını koruyabilirler. Bakteri 31°C ve daha düşük güneş ışığı sıcaklığında yaklaşık beş saat, -4°C suda 114 gün canlı kalabilir. Tereyağında dört ayda, oda ısısındaki peynirde ise iki ayda ölmektedirler. Tulum ve kaşar peyniri uzun süre bekletildiği, yoğurt ise asiditesi yüksek olduğu için bu ürünler ile brusella bulaşmamaktadır. İyonize radyasyona ve dezenfektanlara dayanıksızlardır. Hipoklorit solüsyonları, %70'lik etanol, izopropanol, iyot ve fenol içeren dezenfektanlar, formaldehitli antiseptikler etkili dezenfektanlar arasındadır (Doğanay ve Alp

Meşe 2008, Koçoğlu ve ark. 2008, Arda 2011). Brusella; üçüncü kuşak sefalosporinler, streptomisin, trimetoprim/sulfametoksazol, tetrasiklin ve rifampisine duyarlı, penisilin grubu antibiyotiklere dirençlidir (Foster ve ark. 2007).

2.1.6 İnsanlara Bulaşma Yolları

1) Sindirim yolu: Kontamine et, süt ve süt ürünlerinin sindirim yolu ile alınması tüm dünyada en sık karşılaşılan bulaşma yoludur. Çiğ süttten yapılan peynir, krema ve yağ en önemli enfeksiyon kaynaklarıdır (Willke ve ark. 2008).

2) Deri ve mukoza yolu (direkt temas): Enfekte hayvanın doku, kan ve lenfasının veya enfekte laboratuvar materyalinin, bütünlüğü bozulmuş deri, mukoza veya konjonktivaya teması ile bulaşma olabilir. Laboratuvar kaynaklı bruselloz, gelişmekte olan ülkelerde uygun biyogüvenlik önlemleri alınmadığı için risk oluşturmaktadır. Laboratuvar kaynaklı bruselloz insidansı %2'dir. Laboratuvarda çalışan personellere bulaş yolları; direkt temas, deri ve mukozalara enfekte materyalin kontaminasyonu ve inhalasyonudur (Doğanay ve Alp Meşe 2008). Bu durum laboratuvar çalışanları için risk oluşturması ile birlikte, brusella türlerini potansiyel bir biyoterörizm ajanı haline getirmektedir (de Bagues Maria-Pilar ve ark. 2005, D Doganay ve Doganay 2013, de Figueiredo ve ark. 2015).

3) Solunum yolu: Enfeksiyöz aerosollerin inhalasyonu ile bulaşma şeklinde olur. Brusella cinsi bakterilerin enfeksiyözitelerinin yüksek olması nedeniyle laboratuvar çalışanları için risklidir. Bakteri enfekte ahır tozlarının inhalasyonu ile da solunum yolundan bulaşabilir. Bu bulaş yoluyla çiftçiler, hayvan bakıcıları, mezbaha çalışanları ve kasaplar risk altındadır. Enfekte aerosollerin inhalasyon yoluyla bulaşmasıyla salgınlar meydana gelebilir (Corbel 2006, Willke ve ark. 2008).

4) Cinsel yolla geçiş: Cinsel yolla geçiş kesin olarak bildirilmemesine rağmen, enfekte insanların semenlerinde brusella bakterileri üretilmiş olduğundan potansiyel bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Literatürde cinsel temas ile bulaştığı öne sürülen iki olgu bildirilmiştir (Meltzer ve ark. 2010).

5) Diğer: Yukarıda bahsedilen bulaş yolları dışında kan transfüzyonu ile, kemik iliği ve doku nakli ile, anneden bebeğe plasenta ile vertikal yolla geçebilmektedir (Young 2005, Corbel 2006, Willke ve ark. 2008).

Brusellozda, bilinen risk grupları Tablo 2.3'te özetlenmiştir (Doğanay ve ark 2011).

Tablo 2.3 Brusellozda risk grupları (Doğanay ve ark 2011)

1) Meslek hastalığı	2) Avcılar
<ul style="list-style-type: none">• Sığır besicileri ve süt hayvancılığı yapan çiftliklerde çalışanlar• Hayvan bakıcıları• Aile hayvancılığı yapanlar• Çobanlar• Sütçüler• Veterinerler• Mezbaha işçileri• Et paketleme işleminde çalışanlar• Süt ürünleri işletmelerinde çalışanlar• Deri ve yün işleri ile uğraşanlar• Föetal buzağı serumu toplayanlar• Laboratuvar çalışanları	3) Aile hayvancılığı yapılması durumunda bütün aile bireyleri
	4) Pastörize olmayan süt ve süt ürünlerini tüketenler
	5) Brusellozun hiperendemik olduğu bölgeler veya ülkelere seyahat edenler

2.1.7 Patogenez

Brusella deri, gastrointestinal sistem, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra, ilk üremesini bölgesel lenf bezlerinde (mezenterik, servikal, supraklaviküler, aksiller) yaparak hematojen yolla retiküloendotelial sistem (RES) organlarına ve tüm vücuda yayılır. Yerleştiği başlıca organlar; karaciğer, dalak, kemik iliği, endokard, böbrek, santral sinir sistemi, testis ve overlerdir (Young 2005, Willke ve ark. 2008).

Brusella cinsi bakteriler fakültatif intrasellüler patojenler olup, konakçının fagositik hücreleri içerisinde çoğalabilirler. Persistan enfeksiyon, bakterinin makrofajlarda bağışıklık sistemine rağmen yaşamasına bağlıdır. Bakteriler konakta değişik yollarla yaşamını sürdürür ve çoğalır. Bunlardan birisi apoptozun engellenmesi, diğeri immün sistem için gerekli olan sitokinlerin salınımının etkilenmesidir. İnterferon gama (IFN- γ); makrofaj aktivasyonu, apoptozun indüksiyonu, sitokin üretimi ve antijen sunan moleküllerin ekspresyonunda artışa sebep olarak bruselloz patogenezinde önemli bir rol almaktadır. Brusellozda IFN- γ düzeyleri artar (Paul ve ark. 2018). Bakterilerin hücre içinde canlı kalabilmeleri, nötrofillerde myeloperoksidaz-hidrojen peroksit sistemini baskılayan, makrofajlarda fagozom-lizozom füzyonunu engelleyen ve oksidatif hasara karşı koruyan bazı maddeler ve enzimler sentez etmelerine bağlıdır. İntrasellüler mekanizmalar ile öldürülemeyen bakteriler yerleştiği RES

organlarını büyütür. Hücre içerisinde üremekte olan bakteri, aynı zamanda antikor tehdidinden ve kullanılan antimikrobiyal ajanlardan uzun süre korunmuş olur. Bu nedenle tedavinin uzun sürmesi gerekmektedir. Savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılamayan bakteriler, granülom oluşumu ile sınırlandırılmaya çalışılır. Özellikle karaciğer, dalak ve kemik iliğinde epiteloid hücreler, plazma hücreleri ve mononükleer hücrelerle çevrili granülomlar, brusellozdaki karakteristik histopatolojik görünümü oluşturur. Granülom *B. abortus* için çok karakteristik bir lezyondur, *B. melinensis*'te ise daha küçük olur ve toksemi daha sık rastlanır. *B. suis*'te ise eklemler ve dalakta kronik apse formasyonu izlenir (Doganay ve Aygen 2003).

Brusella bakterilerinin majör virülans faktörleri S-LPS'dir. Dolayısıyla S-LPS taşımayan *B. canis* ve *B. ovis* suşları, düşük virülansa sahiptirler ve serum antibakteriyel aktivitesine karşı çok hassastırlar. Hastalığın kliniği, sorumlu brusella türüne göre değişmektedir. En virülan tür *B. melitensis*'tir. *B. suis* de invaziv etkilidir ve yerleştiği bölgede fokal nekroz ve süpürasyonlara neden olur. *B. abortus* daha az invazivdir, hafif bir hastalık tablosuna yol açar ve invaze olduğu organda nekroz ve süpürasyon içermeyen granülomlar oluşturur. *B. canis* ise hafif bir hastalık tablosu oluşturur. Brusella enfekte ettiği konakta hem hücrel hem de hümorale immün yanıt oluşturur. Hümorale immünite reenfeksiyona karşı korunmada etkili iken, hücrel immünite bakterisidal fazda daha önemli bir görev yapmaktadır. Enfeksiyonun kontrolü ve eradikasyonu, T lenfositlerden salgılanan lenfokinlerin makrofajları aktive etmesi ile sağlanır. Hastalığın yedi-onuncu günlerinden itibaren duyarlı lenfositlerden salınmaya başlanan lenfokinler makrofajları uyarmakta, intrasellüler mikroorganizma öldürme işlemi hızlanmakta ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılığın da gelişimi ile organ granülomları meydana gelmektedir (Willke ve ark. 2008).

Brusellozda belirlenebildiği kadarı ile hümorale immünite S-LPS'ye karşı gelişmektedir (Nielsen 2002). Brusellozda hümorale cevap olarak immunoglobulin (Ig) M, IgG ve IgA tipi antikorlar oluşur. Akut enfeksiyonda önce IgM sınıfı antikorlar meydana gelir. Bunlar ilk haftada saptanan antikorlardır. IgG sınıfından antikorlar hastalığın ikinci haftasından başlayarak artış gösterirler. IgG sınıfı antikorlar tedavi edilmeyen olgularda en az bir yıl yüksek kalır. Tedaviye yanıt veren olgularda ise tedavi başlangıcından itibaren altıncı aya doğru kaybolurlar ya da minimal düzeye inerler. Bazı olgularda düşük titredeki IgM'ler aktif enfeksiyon olmaksızın aylar ya da yıllarca devam eder. IgG antikorlarının titresindeki hızlı düşüşün tedaviye yanıtın bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Bu antikorların

titrelerinin devam etmesi ya da yeniden yükselerek ortaya çıkması nüksü veya kronik enfeksiyonu akla getirmelidir. Bruselloz relapsında IgG ve IgM titrelerinde artış meydana gelmektedir. Fakat bruselloz reenfeksiyonunda IgM antikorlarının artması tartışmalıdır. Son dönemde yapılan çalışmalarda bruselloz relapsı olan hastalarda IgG'de artma görülürken, IgM'de artış gösterilememiştir (Xu ve ark. 2013). IgA antikorları ise hastalığın erken safhalarında yükselir, ilerleyen aylarda önemli ölçüde azalır (El-Mohammady ve ark. 2012). Hastalığın seyri sırasında görülebilen vaskülit, eritema nodozum ve çeşitli cilt döküntülerinin immun komplekslere bağlı olduğu düşünülmektedir. Bazı hastalarda antinükleer antikor veya romatoid faktör pozitifliği saptanmıştır (Ahmadinejad ve ark. 2016).

2.1.7 Klinik

Bruselloz, gıda ya da hayvan maruziyeti olmayan çocuklarda teşhisi oldukça güç olabilen sistemik bir hastalıktır. Brusellozda belirti ve bulgular nonspesifiktir, herhangi bir organ veya sistemi tutabilir. Spesifik olmayan semptomlar akut ya da sinsi bir şekilde kendini gösterebilir. Klinik altta yatan hastalık olup olmasına, kişinin bağışıklık durumuna ve bakterinin türüne göre değişir (Mantur ve ark. 2007). Hastalığın inkübasyon süresi iki-üç hafta olmakla birlikte, bir hafta ile birkaç ay arasında değişebilir. Klinik görünüm değişken olabilmekle birlikte hastaların çoğunda ateş, artralji/artrit ve hepatosplenomegali üçlüsü görülür. Bazı hastalar nedeni bilinmeyen ateş (NBA) şeklinde başvurabilir. Diğer semptomlar karın ağrısı, halsizlik/yorgunluk, baş ağrısı, döküntü, ishal, gece terlemeleri, kusma, öksürüktür. Çocuklarda diğer sık görülen semptomlar iştahsızlık, kilo alamama ve gelişme geriliğidir (Schutze ve Jacobs 2013).

Herhangi bir organ tutulumunda hastalık fokal veya lokalize olarak tanımlanır. Fokal hastalık akut formun komplikasyonu olarak görülebileceği gibi kronik brusellozun klinik tablosunu oluşturabilir (Willke ve ark. 2008). Fokal bruselloz; genellikle sistemik hastalığın belirli bir organda daha fazla yakınma oluşturması ya da komplikasyonunun göstergesidir (Geyik 2003). Çocukluk çağı brusellozu genellikle akut veya subakut seyretmektedir. Kronik bruselloz ise daha az oranda görülmektedir (Buzgan ve ark. 2010, Yüksek ve Gülhan 2019).

Subklinik seyreden olgular; asemptomatiktir. Düşük titrede serolojik test pozitifliği ve kültür negatifliği vardır. Daha çok hayvancılıkla uğraşan erişkinlerde görülür (Çelebi ve Hacımustafaoğlu 2004).

Akut bruselloz, semptomların iki aydan kısa sürdüğü olgulardır. Hastalık başlangıcı ani olabileceği gibi sinsi de olabilir. Klinik hafiften çok ağır seyirli toksik tabloya kadar değişik bir spektrum gösterebilir. Hastalarda en sık görülen semptomlar ateş, üşüme-titreme, halsizlik, yorgunluk, miyalji, artralji ve baş ağrısıdır. Ateş, üşüme ve titreme ile kademeli olarak 38-39°C'ye yükselebilir ve yine kademeli olarak genellikle gece yarısından sonra terleme ile düşer. Ateş bazen 7-10 gün bu şekilde devam eder ve 3-5 günlük ateşsiz dönemi takiben tekrar başlangıçtaki gibi yükselir. Ondülan ateş olarak tarif edilen bu tablo, brusellozda karakteristik olmasına rağmen etkilenen hastaların çoğunda görülmez. Brusellozda daha çok öğleden sonraları yükselen remittant ve intermitant ateş görülür (Willke ve ark. 2008). En sık bulgusu ateş olan bruselloz vakalarının çoğu NBA olarak takip edilmekte ve akut romatizmal ateş, tüberküloz, enterik ateş, malarya, otoimmün hastalıklar gibi diğer ateşli hastalıklar ile ayırıcı tanıya girmektedir. Fizik muayenede genellikle ya hiçbir bulgu yoktur ya da patognomonik olmayan birkaç bulgusu vardır. Sık rastlanan fizik muayene bulguları splenomegali, hepatomegali, artrit, servikal ve aksiler bölgede hafif lenadenopati. Artralji hastaların %85'inde izlenir. Bazı hastalar ağızlarında garip tattan yakınırılar. İlimli lenfadenopati %10-20 oranında bildirilmiştir ve splenomegali veya hepatomegali olguların %20-30'unda vardır. Hastalarda genellikle lökositoz görülmez; lökopeni, anemi, trombositopeni görülebilir (Mantur ve ark. 2007).

Subakut bruselloz semptomların iki aydan bir yıla kadar uzadığı olgulardır (Çelebi ve Hacımustafaoğlu 2004). Eksik ya da yetersiz antibiyotik tedavisi ve yanlış tanı nedeniyle uygunsuz antibiyotik tedavisi alan hastalarda izlenir. Bu durum, farklı klinik tablolarda karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde NBA tanısı ile takip edilen hastaların çoğunluğunu subakut bruselloz oluşturmaktadır. Semptomlar genellikle hafiftir ve lokal organ yerleşimleri görülebilir (Doğanay ve ark 2011). Ondülan ateş, kas ve iskelet sistemine ait belirti ve bulgular ön plandadır. Tedavi edilmemiş subakut olguların %60'ında ondülan ateş görülürken klinik bulgulara rölatif bradikardi eşlik edebilir. Olguların %5'inde nörolojik semptomlar vardır. Erkeklerde epididimorşit görülebilir (Ertek 2003).

Kronik bruselloz semptomların bir yıldan uzun sürdüğü olgulardır. Hastalık semptomları daha hafiftir. Kan kültür pozitiflik oranı oldukça düşüktür (Doğanay ve ark 2011). Kronik brusellozda IgG antikorunun yüksek titrelere sebat etmesi önemli laboratuvar bulgusudur (Cohen ve Powderley 2004). Kronik brusellozda semptomlar uzun süre sonra tekrar görülebilir. Bazı hastalarda spesifik olmayan şikayetler uzun süre devam edebilir ancak

antikor titresinde artış veya hastalığa ait objektif bulgular yoktur (Mandel ve ark 2010). Vakaların %85'i asemptomatiktir. Relaps ve komplikasyonların mevcut olduğu dönemdir. Erişkinlerde baş ağrısı, uykusuzluk, kronik yorgunluk, emosyonel labilite, halsizlik, depresif ataklar semptomlarıyla seyreden kronik form çocuklarda nadir olarak görülmektedir (Geyik 2003). Hafif lenfadenopati vardır. Bulgular akut veya subakut vakalardaki kadar belirgin değildir. İyileşmedeki gecikmenin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte enfeksiyondan kaynaklanan psikonevroz olabileceğine inanılmaktadır (Doganay ve Aygen 2003, Mandel ve ark 2010). Kronik bruselloz dört şekilde ortaya çıkabilir;

1-Sinsi seyir,

2-Akut hastalık sonrası tekrarlayan relapslar,

3-Kalıcı hastalık,

4-Fokal organ tutulumları (Geyik 2003)

Relaps: Tedaviden sonraki 12 ay içerisinde enfeksiyona ait belirti ve bulguların tekrarlaması, IgG sınıfı antikör düzeyinde artış olması, yeni patolojik radyografik bulguların olması veya yeni kan kültürü, kemik iliği kültürü veya doku kültürü pozitifliğinin olması relaps olarak kabul edilir. Relaps olguların %10 kadarında görülür ve genellikle antibiyotik direncine bağlı değildir. Bruselloz, tam tedavi edilmiş olmasına rağmen hastaların %5-10 kadarında relaps görülebilmektedir. Relaps, çoğunlukla tedaviden sonraki 3-6 ay içinde oluşur (Fedakar ve ark. 2011, Hosseini ve ark. 2019). Relaps için predispozan faktörler; yetersiz tedavi, etkinliği az olan antibiyotik tedavisi, hastalığın başlangıcında pozitif kan kültürü, erkek cinsiyet ve trombositopenidir (Willke ve ark. 2008, Mandel ve ark 2010). Relapsın sebebi bakterilerin fagositler içinde, granülomlarda ve süpüratif odaklarda bulunmasıdır. Yüksek ateş ve daha şiddetli semptomlarla seyredebilir ve temasın devam ettiği riskli grupta reenfeksiyondan ayrılması güçtür (Kara 2016, Kış ve ark. 2020).

2.1.8 Komplikasyonlar

Bruselloz akut sistemik belirtilerin yanında veya bunlar olmadan özgül organ tutulumlarıyla da ortaya çıkabilir. Bu durum lokalize bruselloz ya da komplikasyon olarak da isimlendirilen organ veya sistem tutulumlarıdır. Kas-iskelet sistemi tutulumu, gastrointestinal sistem tutulumu, genitoüriner sistem tutulumu, hematopoetik tutulum, kardiyovasküler

tutulmu, nörolojik sistem tutulumu, deri tutulumu, atipik tablolar şeklinde karşımıza çıkmaktadır (Willke ve ark. 2008).

1) Kas-İskelet Sistemi Tutulumu: Brusellozda en sık görülen komplikasyondur. Nörobruselloz ile birlikte brusellozun asıl morbiditesini oluşturmaktadır. Hastaların ilerleyen dönemlerinde ateş ve terleme azalırken, hareket sistemi bulguları ön plana çıkar. Osteoartikuler tutulumun görülme sıklığı %10-80 olarak rapor edilmektedir (Young 2005, Buzgan ve ark. 2010). En çok *B. melitensis* enfeksiyonları sonucunda ortaya çıkar. Bruselloz tüm eklemleri tutabilmekle birlikte daha çok sakroiliak, kalça, omuz, diz, el ve ayak bileklerini tutar (Mandell ve ark 2010). Kemik ve eklem lezyonları olarak artrit, spondilit, osteomyelit, bursit ve tenosinovit vakaları bildirilmiştir. Sakroileit ve spondilit en sık bildirilen komplikasyonlardır. Çocuklarda artrit ile birlikte ateş, huzursuzluk, kilo kaybı da görülür, bu nedenle juvenil romatoid artrit ile ayırıcı tanısı yapılmalıdır (Long ve ark. 2022).

Çocuklarda osteoartiküler bruselloz prevalansı erişkinlere benzerdir fakat yerleşim yerleri farklılık gösterir. Çocukluk çağında osteoartiküler bruselloz genellikle akut enfeksiyon sırasında görülür ve sıklıkla monoartrit şeklindedir (Tanir ve ark. 2009). Poliartrit formu romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozus (SLE) ile, monoartrit formu ise tüberküloz, septik artrit veya reaktif artrit ile karışabilir (Çelebi ve Hacımustafaoğlu 2004). Brusella artritinde eklem yangısı belirtileri olmaksızın eklem ağrılarında sıklıkla şikayet edilir. Çocuklarda kalça eklemi brusella yerleşimi sonucu yıkıma uğrayabilir. Brusella kalça artritini bulunan çocuklarda, genellikle hareketlerin ağrılı kısıtlanması ve topallama ile kendini gösterir (Tanir ve ark. 2009).

Spinal brusellozda en sık lomber bölge, özellikle L4-L5 vertebra tutulumu görülür. Birden fazla vertebra tutulumu ve komşu olmayan vertebraların aynı anda tutulumu da izlenebilir. Osteoartiküler komplikasyonlarda radyografik bulguların uzun süre sonra ortaya çıktığını da unutmamak gerekir (Doğanay ve ark 2011).

Bazı yayınlarda osteoartiküler komplikasyonların genetik predispozisyonla (Human Leucocyte Antigen (HLA)-B39 gibi) ilişkili olabileceği belirtilmiş olsa da çoğu çalışmada HLA gruplarıyla ilişki bulunamamıştır (Pappas 2005).

Bruselloz endemik olduğu bölgelerde septik artrit önemli bir nedenidir. Brusellozda görülen eklem tutulumu septik veya reaktif olabilir. Septik artrit daha az sıklıkta görülür, ancak daha şiddetli formudur ve sıklıkla monoartrit şeklindedir (McGill 2003). Septik artrit

%50'sinde bakteri ürer, reaktif artrit dolaşan immün komplekslere bağlı olarak oluşur (Çelebi ve Hacımustafaoğlu 2004).

Spondilit genellikle hastalığın bir veya ikinci ayında ortaya çıkar, ateş ile ilgisi yoktur. Spondilit brusellozlu hastaların %10-65'inde görülebilir. Hastalığın seyri sırasında vertebralarda meydana gelen harabiyet abseleşmeye neden olabilir (Mandel ve ark 2010). Spondilodiskit ya da vertebral osteomyelit, intervertebral diskin ve komşu vertebraların inflamasyonudur. Brusella spondiliti omurgayı tutan herhangi bir hastalıkla karışabilir. Tüberküloz spondiliti, intervertebral disk herniasyonu, piyojenik spondilit, metastatik lezyonlar ve spondilozis ayırıcı tanıda yer alır (Mete ve ark. 2012). En sık nedeni diğer piyojenik etkenler olsa da endemik bölgelerde brusella, vertebral osteomyelit için sık bir nedendir (Jaramillo-de la Torre ve ark. 2006). Spondilitin görüntülemesinde direkt grafiler erken dönemde bulgu vermeyebilir, bilgisayarlı tomografide yumuşak doku detaylarını göstermekte yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle görüntüleme tercih edilen yöntem manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'dir (Harman ve ark. 2001). Hastalığa özgü MRG bulguları; özellikle lomber bölgede yerleşim, çevre yumuşak dokuda apse olmaksızın tutulum ve vertebral yapıda belirgin bozulma olmaksızın vertebral osteomyelit olmasıdır (Yılmaz ve ark. 2007).

2) Nörolojik Sistem Tutulumu: Brusellozun en önemli komplikasyonlarından birisi de nörobrusellozdur (Hajive ark. 2008). Çocuklarda prevalansı %0,8-1 olarak bildirilmiştir (Martínez-Chamorro ve ark. 2002). Nöroburuselloz en sık menenjit tablosuyla karşımıza çıkmaktadır (Kaya ve ark. 2006).

Nörolojik tutulumun akut ve kronik olarak iki tipi vardır. Akut formda menenjit, ensefalit ve myelit; kronik formda poliradikülönöropati, diffüz tutulum, meningovasküler sendrom, granülom ve apse görülür. Diffüz tutulum myelit, spastik paraparezi, demiyelinizasyon, serebellar disfonksiyon ve psikiyatrik bulgulara neden olur. Çocuklarda merkezi sinir sistemi tutulumu, etkenin doğrudan yayılımı sonucu akut veya kronik menenjit, ensefalit, beyin apsesi, subaraknoid kanama, Guillain Barré sendromu, myelit, radikülit, serebellar ataksi, kraniyal (akustik sinir paralizi) ve periferik sinir tutulumu şeklinde olabilir (Demiroğlu ve ark. 2011, Young ve ark 2012).

Nörobrusellozda diğer menenjitlerle karşılaştırıldığında mortalite oranı daha düşüktür. Bu oran %0-5,5 arasında değişmekte olup, özellikle sağrlık olmak üzere sekelle iyileşme

görlür (Gul ve ark. 2009). Her vakada ateş, baş ağrısı, ense sertliği, konvüziyon bulguları saptanamayabilir. Hastalar depresyon, unutkanlık, ajitasyon, psikoz, gece terörü ve kişilik değişiklikleri gibi özgül olmayan nöropsikiyatrik bulgular ile karşımıza gelebilirler (Eren ve ark. 2006).

Nörobrusellozda tanı; beyin omurilik sıvısında (BOS) bakterinin üretilmesi, BOS'ta herhangi bir düzeyde brusella antikollarının varlığı ve sıra dışı BOS bulguları (lenfositik pleositoz, glukozda azalma, proteinde artma) ile konulur. BOS brusella Coombs'lu aglütinasyon testinin herhangi bir düzeyde pozitifliğinin tanıda çok değerli olduğu bildirilmiştir (Türel ve ark. 2010, Budnik ve ark. 2012). Gram boyama genellikle negatiftir, vakaların ancak %25'inde kültür üremesi saptanır. Literatürde BOS'unda hücre görülmeyebileceği gibi protein ve glukoz seviyesinin de normal sınırlarda olabileceği bildirilmiştir (Tosun ve ark. 2007).

Nörobrusellozda kranial görüntülemelerde subaraknoid, intraserebral, subtalamik kanama ve serebral venöz tromboz gibi meningovasküler komplikasyonların görüldüğu rapor edilmiştir. Kranial MRG'de beyin parankiminde periventriküler ve subkortikal bölgelerde miyelinizan plaklar, hiperintens alanlar, leptomeningeal kontrastlanma, subdural hematoma ait hiperintens lezyonlar ve nonspesifik değişiklikler görülebilmektedir. Bu plaklar multipl skleroz ile karıştırılabilmekte ve ayırıcı tanıya gidilebilmektedir. Tomografi bulguları normal olabileceği gibi beyin ödemi, bazal ganglionlarda infarkta bağlı hipointens alanlar saptanabilir (Bilen ve ark. 2008, Gul ve ark. 2009).

3) Kardiyovasküler Sistem Tutulumu: Brusellozun kardiyovasküler komplikasyonları endokardit, myokardit, perikardit, ventriküllerde, aortada ve diğer arterlerde mikotik anevrizmalar, aort kapağında apse ve trombofilebittir. Endokardit, olguların %2'sinden azında görülmekle birlikte bruselloza bağlı ölümlerin en sık sebebidir (Mandel ve ark 2010). Endokardite sekonder gelişen progresif konjestif kalp yetmezliği sebebiyle ölüm gerçekleşmektedir. İki-on haftalık bir subakut dönemden sonra gelişir. En sık aort kapağı tutulur, geriye kalan olguları mitral kapak ve prostetik kapak tutulumları oluşturur. Bruselloza bağlı endokardit tanısı klinik bulgular, ekokardiyografide infektif endokardit ile uyumlu bulguların saptanması, kan ya da diğer doku kültürlerinde etkenin izole edilmesi, pozitif aglütinasyon testleri veya polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile konulmaktadır (Kleegman ve ark. 2007).

Ölen bruselloz hastalarının %80'inde endokardit saptanmıştır. Aort kapağı %75'inde tutulmuştur ve etkilenen kapakların %50'si daha önce sağlıklı olan doğal kapaklardır (Ertek ve ark. 2006). Tutulan kapaklar büyük vejetasyonlarla karakterizedir. Miyokarda büyük apselerle beraber ülserasyon, kapaklarda mikro apseler, kapaklarda ve perivalvüler alanda destrüksiyon ve kalsifikasyonlar izlenir ve emboli gibi tehlikeli komplikasyonlara neden olabilir (Hadjinikolaou ve ark. 2001). Aort kapağı endokarditinde ilk bulgu miyokard enfarktüsü olabilir (Ahoub 2001). Süperior mezenterik arter anevrizması, splenik apse ve subklavyan arter trombozu gibi pek çok komplikasyon bildirilmiştir (Colomba ve ark. 2012).

Tedavide antibiyotikle birlikte cerrahi girişimler uygulanmaktadır. Cerrahi endikasyonlar; vejetasyon, emboli, konjestif kalp yetmezliğinin gelişmesi, kapak disfonksiyonu ve hemodinamik bozukluk gelişmesidir (Kleegman ve ark. 2007).

4) Gastrointestinal Sistem Tutulumu: Brusellozlu hastaların %32'sinde gastrointestinal sistem tutulumu vardır ve bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal ve kabızlık gibi semptomlarla kendini gösterir. *B. melinentis*'in neden olduğu kolit tabloları olan hastalarda radyolojik ve histolojik olarak akut ileit kanıtlanmıştır. Gastrointestinal kanama da görülebilir (Doganay ve Aygen 2003, Dean ve ark. 2012). Literatürde bruselloza bağlı kolesistit, spontan peritonit, pankreatit, mezenter lenfadenit sonucu akut batın gelişen vakalar bildirilmiştir (Cesur ve ark. 2004).

RES'in en önemli organı olan karaciğer sıklıkla tutulur. Bununla birlikte karaciğer fonksiyon testlerindeki artışlar yüksek değildir (Willke ve ark. 2008). Hastaların %50'sinde hepatomegali vardır. Brusellozda karaciğer ve dalağın etkilenmesi genelde hafiftir ve antimikrobiyal tedavi ile düzelir. Karaciğerde görülen değişiklikler brusella türüne göre değişir. *B. abortus* enfeksiyonunda granüloamatöz hepatit, *B. melinentis* enfeksiyonunda ise periportal mesafede mononükleer hücre birikimi ve inflamasyon yapması nedeniyle safra akımının bozulmasına bağlı sarılık görülebilir. Diğer olgularda epitelooid granülomlar bildirilmiştir. Bruselloma olarak da tanımlanan granüloamatöz lezyon brusellozun endemik olduğu bölgelerde sık görülür. Klinik ve serolojik bulgularla birlikte bilgisayarlı tomografide lezyon sınırlarının düzensiz olması, kontrast tutulumunun olması ile tanıya gidilir. Tüberküloz, hepatokarsinom, metastatik neoplazmlar ve apse ile ayırıcı tanı yapılmalıdır (Madkour 2008). *B. suis* enfeksiyonunda karaciğer ve dalakta supuratif abse kronikleşince

kalsifiye abse olabilir (Çelebi ve Hacımustafaoğlu 2004). Brusellozun sebep olduğu hepatit antimikrobiyal tedavi ile düzelir (Çelen 2006).

5) Genitoüriner Sistem Tutulumu: Genitoüriner sistem tutulumu hastaların %2-10'unda görülür. Epididimoorşit brusellozun en sık görülen genitoüriner sistem komplikasyonudur ve nadiren ilk başvuru bulgusu olarak görülebilir. (Mandel ve ark 2010). Epididimoorşite ek olarak prostatit, eksüdatif glomerülonefrit, IgA nefropatisi, interstisiyel nefrit de bildirilmiş olup, pyelonefrit ve renal apse nadiren görülür (Stamatiou ve ark. 2009).

Brusella epididimoorşiti genellikle hastalığın akut döneminde görülür. En sık semptomları genelde tek taraflı olan skrotal ağrı, şişlik ve ateştir (Topaktaş ve ark. 2012). Brusella epidimoorşitinin tanısında kanda lökosit sayısı genellikle belirleyici değildir. Bazı çalışmalarda lökositöz brusella epididimoorşitin önemli bir özelliği olarak belirtilirken, bazı çalışmalarda ise lökositöz oldukça az bulunmuştur. Bu nedenle brusella epididimoorşitini, viral ya da bakteriyel epididimoorşitlerden ayırırken lökositöz bir kriter olarak kullanılmamalıdır (Yetkin ve ark. 2005). Ayırıcı tanıda klinik bulgular ve fizik muayene bulgularının yanı sıra; skrotal ultrasonografi (USG) ve renkli doppler USG, testiküler sintigrafi yardımcı olabilir. USG; apse, tümör ve torsiyonu dışlamada oldukça yararlıdır. Brusella epididimoorşiti tedavi edilmezse; nekrotizan orşit, oligospermi, aspermi, infertilite gibi ciddi komplikasyonlar görülebilir (Akıncı ve ark. 2006).

Brusellozun böbrek tutulumunda hematüri, piyüri, proteinüri ve böbrek yetmezliği gelişebilmektedir (Lazcano ve ark. 2005, Ceylan ve ark. 2009).

6) Hematopoetik Sistem Tutulumu: Primer olarak lenforetiküler yapıları ve organları tutan brusellozda hematolojik komplikasyonlar sık görülür. Anemi %74, trombositopeni %28-40, lökositöz %4-15 ve pansitopeni %3-21 sıklığında bildirilmiştir. Hematolojik komplikasyonların ortaya çıkmasına hemofagositoz, hipersplenizm, kemik iliğinin suprese olması, dissemine intravasküler koagülasyon, granülomlar ve immun yanıt sebep olabilir (Yıldırım ve Parlak 2014).

Bruselloz vakalarının %20-40'ında splenomegali görülürken, pansitopeninin eşlik ettiği hastaların %86'sında splenomegali olduğu ve hipersplenizmin pansitopeni nedeni olabileceği bildirilmiştir (Bektaş ve ark. 2013).

Vakaların %75'inde kemik iliğinde granülomlar vardır. *B. melitensis* olgularında diğer türlere göre daha fazla sıklıkta anemi, lökopeni, trombositopeni ve kemik iliğinin granüloamatöz tutulumu sonucunda pansitopeni görülmektedir. Anemi; immün hemoliz, hipersplenizm ve enfeksiyona sekonder demir metabolizmasındaki değişiklikler ile açıklanabilir (Tural Kara ve Kan 2020). Daha nadiren dissemine intravasküler koagülasyon, immün trombositopenik purpura, mikroanjiopatik hemolitik anemi de görülebilir (Özlu 2022). Brusellozda lokalize ya da jeneralize lenfadenopati görülebilir (Sasan ve ark. 2012). Bruselloz seyri sırasında görülen pansitopeninin tedaviye yanıt verdiği, klinik tablo ile birlikte laboratuvar bulgularının da düzeldiği bildirilmektedir (Yaman ve ark. 2015).

7) Pulmoner Sistem Tutulumu: Brusellozda solunum sistemi tutulumu nadirdir (< %5), bununla birlikte bronkopnömoni, akut bronşit, plevral efüzyon, ampiyem ve akciğer apsesi dahil olmak üzere çeşitli pulmoner belirtiler bildirilmiştir. En sık bildirilen semptomlar kuru veya prodüktif öksürük, dispne, göğüs ağrısı ve grip benzeri semptomlar olup %15-30 oranında görülür. En sık görülen klinik grip benzeri şikayetler veya kuru bir öksürüğün hakim olduğu tablodur. Akciğer tutulumu daha çok kontamine aerosollerin inhalasyonu veya bakterilerin akciğerlere bakteriyemi ile yayılımı sonucu ortaya çıkar. *Brucella spp.* nadiren gram boyamada gözlenebilir ya da balgamdan izole edilebilir. *B. melitensis*'in plevral sıvıdan izolasyonu da bildirilmiştir. Pulmoner bruselloza bağlı plevral efüzyonun özellikleri, lenfositik pleositoz, yüksek protein konsantrasyonu, artmış adenin deaminaz seviyeleridir. Plevral tutulumu olan hastaların %15-80'inde pozitif kan kültürü bildirilmiştir. Radyolojik incelemede genellikle spesifik bir bulgu yoktur. Pnömonik konsolidasyon, retikülönodüler infiltrasyon, hiler lenfadenopati, plevral efüzyon, pnömotoraks, apse görülen vakalar bildirilmiştir. Bu hastaların ayırıcı tanısında tüberküloz ve sarkoidoz düşünülmelidir (Ulu Kilic ve ark. 2013).

8) Cilt bulguları: Brusellozlu hastaların %0,4-17'sinde deri tutulumu bildirilmiştir. Brusellozun kutanöz belirtileri direkt inokülasyon, hipersensitivite fenomeni, immün komplekslerin birikmesi, cildin doğrudan invazyonu veya organizma tarafından hematojen yayılım yoluyla gelişebilir. Brusellozda deri bulguları eritem, papül, ürtiker, impetigo, peteşi, egzamatöz döküntü, eritema nodosum, subkutanöz apse ve kutanöz vaskülit olarak karşımıza çıkabilir ve tedaviyle kaybolduğu görülür (Shahcheraghi ve Ayatollahi 2015, Korkmaz ve ark. 2016).

9) Endokrin Sistem Tutulumu: Tiroidit, uygunsuz antidiüretik hormon sendromu, adrenal bez tutulumu görülebilir (Kara ve ark. 2019).

10) Göz ve Kulak Tutulumu: Üveit, optik nörit, endoftalmi, episklerit, kronik iridosiklit, yuvarlak keratit ve multifokal koroidit bruselloz hastalarında bildirilen göz tutulumlarıdır. Vitroz sıvıda brusella izole edilebilir. Bruselloz üveitin nadir nedenlerindedir. Nonenfeksiyöz immun reaksiyon olarak değerlendirilen üveit sistemik kortikosteroidlere iyi yanıt verir ve genelde geç komplikasyon olarak gelişir. Optik nörite bağlı kalıcı görme kaybı da bildirilmiştir (Mohammadi ve ark. 2014, AlMutairi ve ark. 2021).

Brusellozda işitme kaybı gelişebilir, buna endotoksininin oluşturduğu vazospazma bağlı avasküler nöral dokunun veya enfeksiyona bağlı serebral inflamasyonun sebep olduğu ön görülmektedir. Genellikle vestibulokohlear sinir tutulumuna bağlı sensorinöral işitme kaybı görülmekle birlikte mikst tip işitme kaybı görülebilir. İşitme kaybı genellikle tedavi ile düzelir, kalıcı sağırılık nadirdir. Tinnitus ve vertigo da brusellozda görülen bulgulardandır (Oz ve ark. 2013, Mirza ve ark. 2022).

2.1.9 Tanı

Bruselloz tanısı ayrıntılı bir anamnez ve fizik muayene yapıldıktan sonra laboratuvar ve radyolojik bulguların birlikte değerlendirilmesiyle konur. Rutin laboratuvar tetkiklerinde; sıklıkla anemi, lökopeni, lenfomonositoz, trombositopeni, pansitopeni şeklinde hematolojik bozukluklar görülür. Eritrosit sedimantasyon hızı (ESH) artmış olup, ortalama 35-40 mm/h'dir. Karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik görülebilir. İdrar incelemesi genellikle normaldir ancak ateşli dönemde albüminüri, ürobilinojen artışı saptanabilir (Yaylı 2003, Korkmaz ve ark. 2005).

Tanıda direkt ve indirekt tanı testleri kullanılır. Direkt tanı testleri süşun kültürden izolasyonu veya antijenlerinin ve nükleer materyallerinin moleküler yöntemlerle gösterilmesine dayalı yöntemlerdir. İndirekt tanı testleri ise serolojik testlerdir ve bakterinin antijenlerine karşı organizmanın verdiği bağışık yanıt sonucu oluşan antikorların serolojik olarak belirlenmesi; antijenlere karşı organizmada ortaya çıkan aşırı duyarlılığın 'deri testleri' ile araştırılmasıyla yapılan tanı yöntemleridir (Yıldırım ve ark. 2018).

1) Direkt Tanı Yöntemleri:

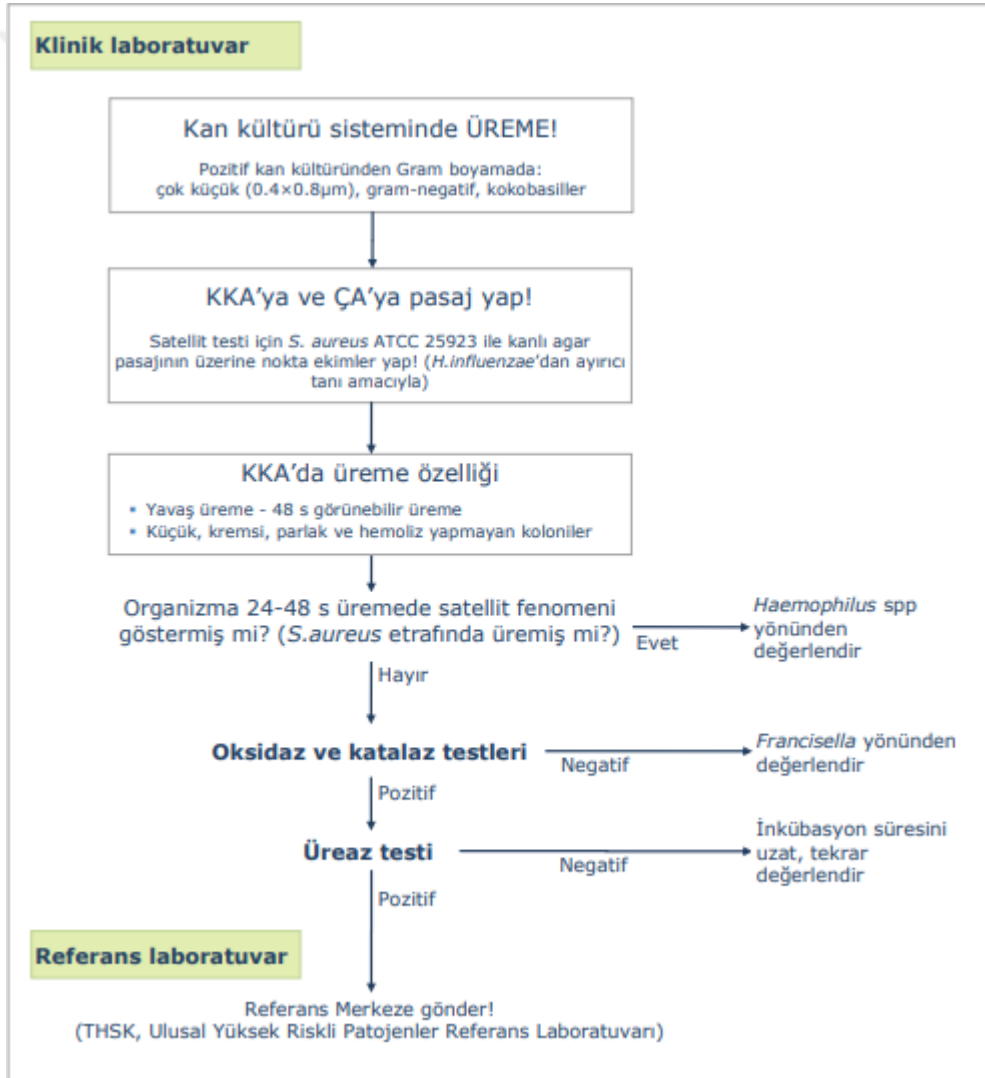
Kültür: Laboratuvar tanısında altın standart yöntem mikroorganizmanın izolasyonudur. Kan, BOS, kemik iliği, eklem sıvısı veya apse aspiratı, karaciğer, dalak ve lenf nodu biyopsileri gibi klinik örneklerin kültürleri yapılabilir ve bakterinin izolasyonu amaçlanır. Kan kültürünün duyarlılığı; kanın alındığı evreye (akut veya kronik hastalık), kullanılan besiyeri yöntemine (otomatik veya konvansiyonel kan kültürü sistemi vb.), örnek almadan önce antibiyotik kullanım durumuna göre değişmekte olup, pozitiflik oranı %15-70 arasındadır. Brusellanın retiküloendotelyal sistemde görece olarak daha yüksek konsantrasyonda olması sebebiyle kemik iliği kültürlerinden izolasyon oranı kan kültürlerine göre %15-20 daha yüksek olabilir. Ancak akut bruselloz vakalarının %5-40'ında relaps geliştiğinden bu olgularda her zaman kültür pozitifliği görülmeyebilir (Adiloğlu ve ark 2015, İrvem ve ark. 2015).

Kültür için alınan örnekler uygun besiyerlerine en geç iki saat içinde ekilmelidir. Eğer bu süre içerisinde ekimlerin yapılması mümkün değilse 2-8°C'de saklanmalıdır. Kan, BOS, kemik iliği ve diğer vücut sıvıları otomatize kan kültürü şişeleri ile inkübe edilebilirler ve inkübasyon süresi bir haftadır. Ancak klinik olarak hastalık şüphesi devam ettiği sürece inkübasyon süresinin uzatılması önerilir. Konvansiyonel kan kültürü şişeleri için bu süre gerektiğinde 6 hafta kadar uzun tutulabilir. Kültürde üreme olmaması tanıyı dışlamaz. Akut enfeksiyonda kültürle izolasyon oranı %40-90 arasında iken komplike vakalarda, kronik ya da fokal enfeksiyonda bu oran %5-20 kadar düşüktür. Yine otomatize kan kültürü sistemlerinden izolasyon oranları konvansiyonel bifazik Ruiz-Castaneda şişelerinden daha yüksektir. Bakterinin kan ve kemik iliğinden izolasyon oranını artırmak için özellikle otomatize sisteme sahip olmayan laboratuvarlara lizis-santrifügasyon kullanımı önerilmektedir. Doku veya apse örnekleri doğrudan %5 koyun kanlı agar (KKA), beyin-kalp infüzyon agar, çikolata agar (ÇA) veya brucella agara ekilebilirler. Bu plaklar 35-37°C'de, %5-10 CO₂'li ortamda en az on gün süre ile inkübe edilmelidirler (Murray ve ark. 2007, Araj 2010, Christopher 2010).

Kan kültürü tanı için kullanılırken, negatif olarak sonuç verilmeden önce iki-üç gün aralıklarla birkaç besiyere kör pasajlar yapılmalı ve her seferinde ayrıca gram boyalı preparat hazırlanarak üreme değerlendirilmelidir. Eğer gram boyamada, gram negatif çok küçük (0,4×0,8µm) kokobasiller gözleniyorsa *Haemophilus* türlerinden ayırıcı tanı amacıyla, KKA pasajı aynı zamanda satellit testi için kullanılmalı ve standart *Staphylococcus aureus* suşu ile

pasaj alanına nokta ekimler yapılmalıdır. KKA'da *Brucella spp.* üremesi 24 saatte tipik "toz benzeri" koloniler, 48 saatte S-tipi, noktasal, hemoliz yapmamış, pigmentsiz koloniler şeklinde görülür. Triptik soya agar ve serum dekstroza agar gibi kan içermeyen besiyerlerinde, 48 saatlik inkübasyondan sonra 0,5-1 mm çapında, konveks, yuvarlak, yüzeyden kabarık, şeffaf (translütent), parlak yüzeyli S-tipi koloniler oluştururlar. *B. canis* R tipi koloniler oluşturur (Araj 2010, Adiloğlu ve ark 2015).

B. melitensis, *B. abortus*, *B. suis* oksidaz pozitifdir ancak *B. abortus* ve *B. canis*'in bazı kökenleri oksidaz değişkendir. Tüm brusella türleri katalaz ve üreaz pozitifdir. Şekil 2.2'de kan kültürlerindeki şüpheli üremelerden izolasyon, tanımlama ve referans merkeze gönderme kriterleri için akış şeması verilmiştir (Adiloğlu ve ark 2015).



Şekil 2.2 Kan kültürlerindeki şüpheli üremelerden izolasyon, tanımlama ve Referans merkeze gönderme kriterleri için akış şeması (Adiloğlu ve ark 2015)

Materyalin brusella cinsi düzeyindeki hızlı tanısı; hastalığın erken döneminde tedaviye başlanması ve böylece kronikleşmesi ve fokal komplikasyonların önlenmesi açısından çok önemlidir (Kılıç 2012).

Tür düzeyinde tanımlama ve/veya biyotiplendirme ve antijenik tiplendirme işlemleri sadece epidemiyolojik açıdan yararlıdır ve biyogüvenlik düzeyi 3 (BGD-3, Referans) laboratuvarlarda yapılmalıdır. Tanımlama adımlarında brusella şüphesi hemen hekime ve enfeksiyon kontrol komitesine bildirilmeli ve tanı doğrulanarak kesin sonucun hızlı çıkması sağlanmalıdır (Al Dahouk ve Nöckler 2011, Adiloğlu ve ark 2015).

Mikroskopî: Kandan yapılacak mikroskopik incelemelerde yöntemin duyarlılığı çok düşük olduğu için tanısallığı yoktur. Ancak BOS, sinoviyal sıvı ve benzeri örneklerin gram boyama preparatlarında; gram negatif, çok küçük, silik boyanan kokobasiller, ince kum taneleri gibi görülebilir (Araj 2010, Adiloğlu ve ark 2015).

Moleküler Testler: PCR; klinik ön tanının doğrulanması amacıyla kan, serum, vücut sıvıları, kemik iliği vb. örneklerden brusella DNA'sının saptanması esasına dayanan yöntemdir. DNA izolasyonu, amplifikasyon, pürifikasyon ve sekanslama gibi işlemleri içerir. Tüm suşlarda bulunan 31 kDa ağırlığındaki membran proteinini kodlayan DNA bölgesini saptar (Manivannan ve ark. 2021). Bruselloz tanısında PCR, kültür ve serolojik testlerden daha duyarlıdır. PCR, etkenin direkt olarak gösterilmesi dışında tedaviye yanıt ve prognozun takibinde, antibiyotik (rifampisin) direnç geni araştırılmasında, hastalığın aktif ve inaktif ayırımında, relapsların erken tanımlanmasında, aşya bağlı gelişen enfeksiyonların tanımlanmasında, moleküler tiplendirmesi (tür, biyovar tayini ve genotiplerin saptanması) gibi oldukça farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Klinik örnekler dışında gıda (süt, peynir vb.) ve çevresel örneklerde de moleküler yöntemler kullanılabilir. Klinik örneklerde PCR ile pozitif sonuç olası tanı kabul edilir. Diğer yandan PCR kültür izolatlarının doğrulanmasında iyi bir araçtır. Sonuçlar '*Brucella spp.* pozitif veya negatif' olarak rapor edilir. Türe özel Restriction Fragment Length Polymorphism, genusun üyelerini ayırmada kullanılacak moleküler testlerden biridir. Tanı amaçlı kullanımından çok epidemiyolojik çalışmalar ve köken belirleme araştırmaları için uygun bir tekniktir (Dizer ve ark. 2005, Al Dahouk ve Nöckler 2011, Kılıç 2012).

2) İndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler):

Brusellozun tanısında yaygın olarak serolojik yöntemler kullanılır. Kültürden izolasyona göre öncelikli bir alternatiftir. Çünkü seroloji klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın kullanıma uygun, görece kısa sürede sonuç alınabilen ve hastalığı doğrulayabilen bir araçtır. Bruselloz için çok sayıda serolojik tanı testi mevcuttur. Bu testler başlıca bakterinin; hücre antijenlerinin kullanıldığı ve aglütinasyon prensibine dayalı testlerdir, ya da hücre duvarı lipopolisakkaritleri veya dış membran proteinleri gibi parçalanmış hücre ekstraktlarının antijen olarak kullanıldığı solid-faz immünoassaylerdir (Dipstick test vb.) (Al Dahouk ve Nöckler 2011).

Serolojik tanıda; kanda önce IgM antikoruna saptanırken sonraki 10-14 günlük dönemde IgG'nin yükselmeye başladığı görülür. Antikor titrelerinin tedavi ile birlikte düşmesi beklendiğinden; eğer titrelerde sürekli bir yükseklik durumu ya da yineleyen yükselmeler görülürse kronik infeksiyon, vücutta fokal odaklar (abse, endokardit vs.) ve relaps açısından uyarıcı olmalıdır. Başarıyla tedavi edilmiş veya asemptomatik bireylerde %20'ye varan oranlarda antikor titreleri yüksek kalabilmektedir (Şimşek ve Kantürk 2016).

Tanıda kullanılan aglütinasyon testleri "hızlı" ve "yavaş" olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Hızlı aglütinasyon testleri dakikalar içerisinde aglütinasyon sonuçlarının alınabildiği ve renkli antijenlerin kullanıldığı testleri kapsamaktadır. Yavaş aglütinasyon testleri ise 8-24 saatlik inkübasyona ihtiyaç duyan ve temel olarak standart/serum aglütinasyon testi (SAT) ile onun Ig izotiplerini ve blokan antikorları saptayabilmek amacıyla geliştirilen modifikasyonlarını içermektedir. Tanı bu farklı sınıf testlerin kombinasyonu ile elde edilen sonuçların yorumuna dayanır ve kesin tanı koymak mümkündür (Nielsen ve Yu 2010, Al Dahouk ve Nöckler 2011).

A.Hızlı Aglütinasyon Testleri

Rose Bengal (RB) testi: Rose Bengal boyası ile boyanmış *B. abortus*'un S99 veya S1119-3 suşlarının asit tampondaki süspansiyonunun hasta serumu ile aglütinasyon geliştirmesine dayanan ve günümüzde endemik bölgelerde tamponlanmış antijen kart test (Buffered Antigen Plate Agglutination test) ile birlikte bruselloz tanısında tarama testi olarak kullanılan bir lam aglütinasyon testidir. Boyalı antijen, kart veya lam üzerinde serumla karşılaştığında dört dakika içinde aglütinasyon görülmesi pozitif olarak değerlendirilir. Kural olarak dört dakikadan sonra gözlenen pozitiflik değerlendirmeye alınmaz. RB antijeni asidik

bir boya ile hazırlandığı için reaksiyon ortamı asidiktir. Asidik ortam IgM'in aglütinasyon kapasitesini azaltırken, IgG'nin (ve ayrıca blokan IgA antikorlarının da) reaksiyona katılmasını artırmaktadır. Böylece hızlı aglütinasyon testlerinde bakteri yüzeyindeki özellikle S-LPS ile reaksiyona giren IgG ve IgM antikorları (aglütininler) ile aglütinasyon vermeyen antikorlar tespit edilmektedir. Testin inkübasyon süresi uzadığında (dört dakikadan sonra) fibrin pıhtılarının oluşması nedeniyle yalancı pozitif sonuç alınabileceği unutulmamalıdır. RB testinde sonuç pozitif gelmişse hasta serumu SAT testine alınır (Araj 2010, Díaz ve ark. 2011).

Aktif brusellozlu hastalarda yapılan çalışmalara göre RB testinin duyarlılığı ve özgüllüğü %75-100 arasında değişmektedir. Ancak kronik ve komplike vakalarda yüksek yalancı negatiflik oranı sebebiyle testin duyarlılığı oldukça düşüktür (%33-50) (Díaz ve ark. 2011).

RB testinde *Y. enterocolitica* 0:9 ile çapraz reaksiyonlar alınmasına rağmen, *F. tularensis* veya kolera aşısı yapılanlarda çapraz reaksiyonlar görülmez (Kılıç 2012).

Yüksek düzeyde antikor varlığına bağlı (prozon fenomeni) ve kullanılan ticari antijenin özelliğine bağlı olarak yalancı negatif sonuçlar alınabilir. RB testinde bazen daha uzun inkübasyon süresine ihtiyaç olabilir. Blokan antikorlar veya prozon yoksa dört dakika içerisinde test pozitifleşirken, yüksek titrede non-aglütinan antikor (yüksek Coombs testi titresi) varlığında aglütinasyonun gelişmesi sekiz dakikaya uzayabilmektedir (Díaz ve ark. 2011).

Spot Test (ST): Tam kan kullanılarak yapılan lam aglütinasyon testidir. Özellikle kitle taramalarında parmaktan alınan kan ile çalışılması nedeniyle oldukça kullanışlı bir testtir. Gerek RB, gerekse ST'in sonuçları pozitif bulunduğu SAT testi ile kontrol edilmelidir. Bu her iki test de ancak tarama testi olarak kullanılmaktadır (Yaylı 2003, Alışkan 2008).

Kart Test: Esas olarak hayvan serumunu test etmek için hazırlanmış, tamponlanmış, boyanmış bakteri süspansiyonunun kullanıldığı makroskobik bir aglütinasyon testidir (Ducrotoy ve ark. 2018).

B.Tüp Aglütinasyon Testleri

Serum Tüp Aglütinasyon Testi (Wright Testi): Tüp aglütinasyon testi, standart tüp aglütinasyon testi ve Wright testi gibi farklı isimlerle de adlandırılan, 1897 yılında Smith ve

Wright tarafından geliştirilen bu yöntem günümüzde insan brusellozunun serolojisinde en sık kullanılan ve referans olarak kabul edilen yöntemdir (Al Dahouk ve ark. 2003). SAT'nde, özellikle bakterinin yüzeyindeki S-LPS ile reaksiyona giren IgM, IgG ve IgA antikorları saptanır. Ancak, test reaksiyonunun nötral değere yakın bir pH'da gerçekleşmesi sebebiyle, IgM antikorlarını daha fazla saptamaktadır. IgM'in pentamer yapısı aglütinasyon reaksiyonunda iyi kafes formasyonu oluşmasını sağlayarak tüp aglütinasyon testlerindeki duyarlılığın, temel olarak IgG tipi antikorları saptayan RB'e göre daha yüksek olmasına sebep olmaktadır. Ancak, IgM antikorları nedeniyle gelişen çapraz reaksiyonlar (yalancı pozitiflik) SAT'nin özgüllükle ilgili en önemli sorunudur (Araj 2010).

Brusella türleri antijen yapısını hızlı değiştirdikleri için testte antijen olarak standart, iyi aglütinasyon veren kökenlerin S kolonilerinden üretilmiş (ısı ile öldürülmüş, fenollü *B. abortus*'un S99 veya S1119-3 suşları) bakteri süspansiyonları kullanılmalıdır (Şimşek ve Kantürk 2016). Bu test ile bakteriye karşı oluşan tüm antikorların titresi belirlenir. IgG ve IgM ayrımı yapılamadığından, test sonucu pozitif bulunduğunda akut enfeksiyon tanısı için 2-Mercaptoethanol (2-ME) tüp aglütinasyon testi veya Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) yöntemine başvurulmalıdır. Ön tanısı kuvvetle olası düşünülen bruselloz vakalarında SAT'nin negatif bulunması halinde Coombs testi istenmelidir (Nielsen ve Yu 2010).

SAT'inde 1/20 titrede dantela tarzında aglütinasyonun görülmemesi, düğme şeklinde çökme görülmesiyle sonuç negatif olarak değerlendirilir ve bu şekilde raporlanır. 1/20-1/80 titreler arasında aglütinasyon gözlenmiş ise yine negatif olarak değerlendirilir ve sonuç "negatif" olarak raporlanır. Ancak, bu titreler daha önce geçirilmiş bir enfeksiyondan kalma olabileceği gibi enfeksiyonun başlangıcında oluşan düşük titredeki antikorları da gösteriyor olabilir. Hastalığın erken döneminde titreler çok düşük olabildiğinden, özellikle uygun epidemiyolojik ilişki ve klinik belirtilerin varlığında 10-14 gün sonra yeni bir örnekle test tekrarı yapılmalı ve serokonversiyon ya da titre artışı olup olmadığına bakılmalıdır. Çift serum örneğinde brusella SAT titresinin negatiften pozitive değişimi (serokonversiyon) ya da dört kat veya daha fazla artışı kesin tanı kriteridir. 1/160 titrede +2 aglütinasyon ve $\geq 1/160$ titrelerde görülen dantela şeklindeki aglütinasyon pozitif olarak değerlendirilir ve sonuç "pozitif" olarak raporlanır. Uygun epidemiyolojik ilişki (temas öyküsü) ve klinik bulguların varlığında tek bir serum örneğindeki SAT titresi 1:160 akut/aktif brusellozla uyumlu olarak kabul edilir (Al Dahouk ve ark. 2003, Adiloğlu ve ark 2015).

Çoğu sağlıklı insanda geçmişte tekrarlayan maruziyet ve asemptomatik enfeksiyon nedeniyle 1/80-1/160 gibi titrelerde aglütininer bulunabilir. SAT'nde bazı "yalancı negatiflik" nedenleri şunlardır: (a) Enfeksiyonun ilk haftası (erken bakteriyemik dönem <1/160 titreler) (b) Blokan antikorların varlığı (kronik bruselloz?) (c) Hasta serumunda antikor fazlalığı nedeniyle düşük sulandırılarda aglütinasyonun görülmemesi (prozon fenomeni) (d) *B. canis* enfeksiyonu ve (e) Agammaglobulinemi (Kılıç 2012).

Wright testindeki en önemli yalancı negatiflik durumu kronik ve komplike vakalarda görülmektedir. Blokan antikorlar, daha çok kronik brusellozlu olgularda rastlanan ve özgül olarak antijene bağlanabilmesine rağmen aglütinasyona yol açmayan IgG (IgG1 ve IgG2) ve IgA yapısındaki antikorlardır. Blokan antikorların varlığından şüphelenildiğinde (vakaların %0,47-6'sında) serum örneğinden Coombs testi veya ELISA çalışılmalıdır (Akdur ve ark 2004). Bruselloz tanısında prozon fenomeni özellikle 1/160 titreye kadar tüp aglütinasyon testi çalışan laboratuvarlar için sorun oluşturabilir. Prozon fenomeni özellikle subakut ve kronik olgularda olmak üzere akut evrede de görülebilir. Genel olarak, prozon fenomeni yaklaşık %1,5-6 oranında bildirilmiştir. Fenomen sıklıkla düşük titrede ($\leq 1/20$) görülmesine karşın nadiren $>1/80$ dilüsyonlarda da saptanabilir (Araj 2010, Adiloğlu ve ark 2015).

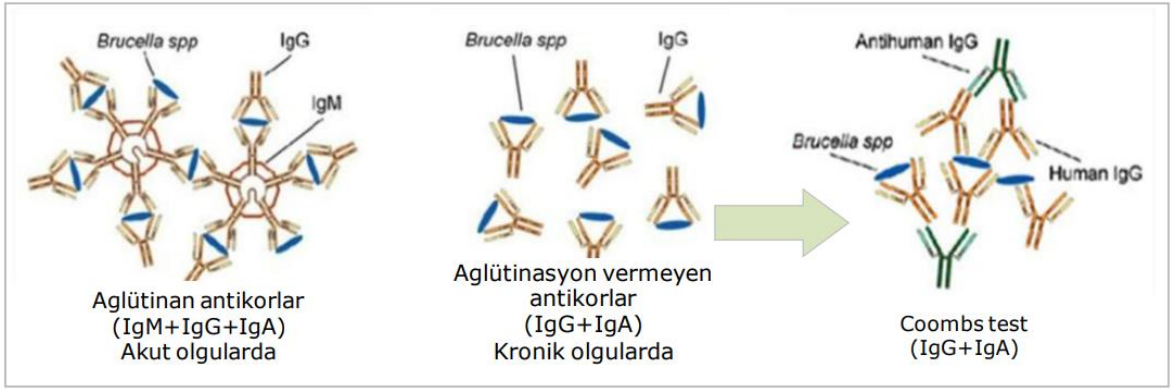
Antijenik benzerliğinden dolayı *E. coli* O:157, *F. tularensis*, *Salmonella*, *Y. enterocolitica* serotip O:9, *Vibrio cholerae* ve *Stenotrophomonas maltophilia* enfeksiyonu geçirenlerde SAT'nde yalancı pozitiflik görülebilmektedir (Al Dahouk ve ark. 2003, Alışkan 2008).

Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) veya 2-Merkaptoetanollü (2-ME) Aglütinasyon Testi: Bu testler SAT'nin bir modifikasyonudur. SAT'nde total antikor saptandığı için immünglobulin izotiplerinin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiştir. SAT'nde serum dilüsyonu için serum fizyolojik yerine merkaptan/redüktan maddeler (2-ME ve dithiothreitol) kullanılması ile yapılır. Serumun merkaptan/redüktan maddelerle işleme tabii tutulmasıyla IgM pentamerinin disülfid bağları indirgenerek aglütinasyon yeteneğini kaybederken ortamdaki IgG etkilenmeden kalır. Böylece serumdaki IgG varlığı indirekt olarak belirlenir. Ancak kalan titrenin sadece IgG'yi değil, IgA varlığını da gösterdiği unutulmamalıdır. Yine bazı vakalarda IgG moleküllerinin redüktan maddelere duyarlı olabileceği ve yalancı negatif reaksiyonların görülebileceği de akılda tutulmalıdır. Merkaptan bazlı testler akut brusellozun tanısı, hastalığın evresinin saptanması ve prognozun

değerlendirilmesinde önemlidir. Rivanol de 2-ME gibi aynı amaçla kullanılabilir, taze hazırlanmış %0,04'lük rivanol çözeltisi kullanılır (Murray ve ark. 2007, Garcia 2010, Adiloğlu ve ark 2015).

Düğme şeklinde çökme görülmesi “negatif”, dantela tarzı aglütinasyonun görülmesi “pozitif” olarak değerlendirilir. 2-ME testinde, aglütinasyon gözlenen antikor titresi rapor edilir. Test için bir tanısal titre verilmemelidir. Merkaptanlarla çalışıldığında SAT titresinde ne kadar azalmanın anlamlı olduğu netlik kazanmamıştır. Akut ve subakut şüpheli olgularda; SAT 1/160 titrenin merkaptan testlerde dört kat azalması “anlamlı sonuç” yani aktif enfeksiyon göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ancak bazı yazarlar da klinik olarak uyumlu ve SAT titresi 1/160 olan vakalarda merkaptan testlerde $\leq 1/80$ titrelerin saptanmasının akut bruselloz tanısı için güçlü bir kanıt olduğunu bildirmişlerdir. Daha geç dönemdeki olgularda ise, merkaptan testlerde tüp aglütinasyon testindeki titrenin bir dilüsyon azalması anlamlı kabul edilmektedir (Adiloğlu ve ark 2015).

Coombs testi (CT): Bruselloz klinik olarak güçlü bir şekilde düşünüldüğü halde yapılan aglütinasyon testlerinin negatif sonuçlanması sık rastlanan bir durumdur. Bu durum antikor-antijen bağları oluşmasına rağmen aglütinasyonu engelleyen bir mekanizmanın varlığı sebebiyle olmaktadır. Bunun ortaya konması bruselloz tanısı için çok önemlidir. Böyle aglütinasyon vermeyen blokan (inkomplet) IgG'lerin gösterilmesinde kullanılan en iyi serolojik test Coombs testidir. Blokan antikorların varlığında Rose Bengal ve SAT negatif ya da düşük titreli pozitif sonuç verebilir (Araj 2010). Blokan antikorlar daha çok kronik brusellozlu olgularda rastlanan ve özgül olarak antijene bağlanabilmesine rağmen aglütinasyona yol açmayan IgA ve IgG (IgG1 ve IgG2) yapısındaki antikorlardır (Şekil 2.3). Blokan antikorların aglütinasyon oluşturmamasının mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Aglütinasyon görülmemesi; menteşe bölgesinin çok esnek olması sebebiyle iki veya daha fazla epitopa optimal çapraz bağlanmayı sağlayacak açığı verememelerine veya antijen molekülünde epitoplara yüzeyden çok derin kısımlarda yer alması ya da epitop dağılımının düzenli olmamasının antikorların bağlanmasını zorlaştırmasına bağlı olduğu öne sürülmüştür (Kılıç 2012, Adiloğlu ve ark 2015).



Şekil 2.3 Brusellozda oluşan aglütinan (solda) ve blokan (ortada) antikorlar. Blokan antikorların varlığı durumunda ortama anti-human IgG eklenmesi ile aglütinasyonun gerçekleşmesi (sağda) (Alışkan 2008).

Brusellozlu hastaların serumlarında blokan antikor görülme sıklığı %0,47-6 arasında bulunmuştur ve bunların varlığı Coombs testi veya 'immuncapture' aglütinasyon testi ile gösterilebilir. Anti-human globulin IgG (Coombs reajeni) eklenmesi veya mekanik işlem (yüksek devirde santrifügasyon) sonrasında blokan antikorların bağlanması indüklenebilir (Díaz ve Moriyón 1989, Nielsen ve Yu 2010).

Dantela şeklinde aglütinasyonun görülmemesi ya da düğme şeklinde çökme görülmesi negatif olarak değerlendirilir. Dantela şeklindeki aglütinasyon "pozitif" olarak değerlendirilir. CT için tanısal titre konusu netlik kazanmamıştır. Yapılan çalışmalarda CT titresi SAT titresinin iki katı ($\geq 1/320$) olarak alınmıştır (Casao ve ark. 2004, Casanova ve ark. 2009). Ancak bazı araştırmacılar SAT ile elde edilen titre değerinde en az dört kat artış olmasını CT için "anlamli sonuç" olarak kabul etmişlerdir (Marrodan ve ark. 2001).

Akut brusellozda, CT titreleri SAT titrelerinden genellikle 4-16 kat, tedavi almamış vakalarda (kronik brusellozda) ise 16-256 kat daha yüksektir (Díaz ve Moriyón 1989). CT kronik seyir ve relaps sırasındaki antikor titresinde gelişen hafif değişiklikleri belirlemek için en uygun serolojik testtir (Casanova ve ark. 2009, Kılıç 2012).

Son yıllarda ülkemizde geliştirilen *Brucella* Coombs jel testi ise (ODAK *Brucella* Coombs Gel Test, Toprak Medikal, İstanbul), aglütinasyon esasına dayanan yeni ve hızlı bir yöntemdir. Bu test, Coombs antikorları (anti-human IgG) içeren jel matriksin bulunduğu kuyucuklarda gerçekleştirilir. Test sırasında yüksek devirde santrifüj ve Coombs serumu muamelesiyle blokan antikorların bağlanması sağlanmakta, sonuçlar iki saat içinde görsel

olarak değerlendirilmektedir (Kocagöz 2014). Brucella Coombs jel testi; *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis* ile reaksiyon verir, Coombs testi ile %99 uyumludur. Hem tarama hem titrasyon amacıyla kullanılabilir hızlı ve ekonomik bir testtir. Testin yönteminin hem Coombs anti-Brucella hem de immunocapture aglütinasyon testleriyle mükemmel uyum gösterdiği; testin uygulamasının pratik olduğu; iki saat gibi kısa bir zamanda sonuç verdiği ve değerlendirmenin görsel açıdan diğer yöntemlere göre daha kolay olduğu belirlenmiştir (İrven ve ark. 2015).

ELISA: Hastalığın tanısında, evrelemede ve takibinde oldukça yararlı olan immünglobülin izotiplerini (IgM, IgG ve IgA) saptayabilen bir testtir. Yüksek özgüllük ve duyarlılıkla immünglobülin izotiplerini hızlı bir şekilde (dört-altı saat içinde) ve kantitatif olarak saptayabilir. Özellikle nörobruselloz şüphesinde, BOS’nda antikor incelemesinde ELISA yöntemi tanıya yardımcıdır. Bu test yeterli sayıda vaka biriktiğinde çalışılan bir test olduğu için en çok bruselloz serosürveyansında tercih edilmektedir (Araj 2010).

ELISA testi ile antikor profiline göre hastalığın dönemi hakkında yorum yapmak mümkündür (Tablo 2.4). Ancak antikor profili her zaman klinik ile korele olmayabilir ve titrelerin uzun süre pozitif kalabileceği unutulmamalıdır (Al Dahouk ve ark. 2003).

Tablo 2.4. Brusellozun farklı evrelerinde spesifik immünglobulinlerin değerlendirilmesi (Al Dahouk ve ark. 2003)

Bruselloz evresi	IgM	IgG	IgA
Akut	↑↑↑↑	↑↑↑ (IgG1 ve IgG3)	↑
Kronik	-	↑(IgG1 ve IgG4)	↑↑
Relaps	-	↑↑	↑

SAT sonucunun negatif veya düşük titrede pozitif bulunduğu durumlar genellikle kronik bruselloz hastalarında görülmektedir. IgA ve IgG’nin brusellozda yüksek düzeylerde uzun süre kalabilmesi ve blokan antikorların aglütinasyonlara göre hastalığın daha ileri dönemlerinde açığa çıkmasından dolayı, özellikle kronik bruselloz şüphesinde SAT’ne ek olarak CT ya da ELISA testi yapılmalıdır. Akut brusellozda blokan antikorlar nadir olduğu için CT’nin yapılması her zaman gerekli değildir (Al Dahouk ve Nöckler 2011). CT yerine ticari ‘immunocapture’ aglütinasyon testleri de kullanılabilir (Al Dahouk ve ark. 2003).

Brucellacapt Testi (İmmuncapture Aglütinasyon Testi): Son yıllarda geliştirilen bir hemaglütinasyon yöntemidir. Kuyucuklar insan kaynaklı IgG, IgM ve IgA antikorlarına karşı antikorlarla (Coombs antikorları) kaplıdır. Kuyucuklarda sulandırılan hasta serumu üzerine boyalı *B. abortus* antijeni damlatılır ve 24 saat 37°C’de inkübasyon sonrasında reaksiyon değerlendirilir. Brusellaya karşı oluşan her üç antikoru ve blokan antikorları da tespit ettiği için saptadığı titreler SAT ve Coombs yöntemine göre daha yüksektir, duyarlılık ve özgüllüğü de bu yöntemlere göre daha fazladır (Dizer ve ark. 2005, Alışkan 2008).

Kompleman fiksasyon testi (KFT): Bu test en duyarlı ve en özgül konvansiyonel serolojik yöntem olması sebebiyle tanıda doğrulama testi olarak kabul görmektedir. SAT sonuçlarının yetersiz kaldığı veya negatif olduğu inkübasyon dönemi, geç kronik evre veya aşılmalarda KFT önemli bir tanı yöntemidir. Bu test ile ≥ 64 titreler aktif hastalık olarak kabul edilir (Al Dahouk ve ark. 2003, Alışkan 2008).

Brucella Dipstick Testi: IgM sınıfı antikorların tespiti için faydalıdır. Hastalığın ortaya çıkışından iki hafta sonra alınan serumlarda bu testin sensitivitesi %89, spesifitesi %98,6 olarak bulunmuştur. Hastalık öyküsü kısa olan akut bruselloz vakalarında kullanılır, hastalık öyküsü uzun olan vakalarda özgül IgM yanıtı azalacağı için, dipstick testi negatif sonuç verebilir. Uygun laboratuvar şartları olmayan yerlerde hızlı tanı testi olarak kullanılabilir (Alışkan 2008).

Brusellergen Deri Testi: Brusella cinsi bakterilerin proteinlerinden elde edilerek saflaştırılan nükleoprotein kompleksi (Brusellergen), deri içine enjekte edilir. Testin uygulandığı ciltte 24 saat sonrasında kızarıklık, ödem ve endurasyon oluşumu ile test sonucunun pozitif olduğu rapor edilir. Epidemiyolojik çalışmalarda tarama testi olarak kullanılabilir (Topçu ve ark. 2002).

Bruselloz; kedi tırnığı hastalığı, tularemi, tifoid ateş ve histoplazmozis, blastomikozise bağlı fungal enfeksiyonlar gibi diğer enfeksiyonlarla karışabilir. Bruselloza benzer klinikle karşımıza çıkabilen diğer hastalıklar *Mycobacterium tuberculosis*, atipik mikobakteriler, riketsiya ve yersinia nedeniyle oluşan enfeksiyonlardır (Çelebi ve ark. 2011). Brusellozun ayırıcı tanısında öncelikle düşünülmesi gereken hastalıklar Tablo 2.5’te verilmektedir.

Tablo 2.5. Brusellozun ayırıcı tanısında enfeksiyon ve enfeksiyon dışı hastalıklar (Doğanay ve ark 2011)

Enfeksiyon Hastalıkları	Enfeksiyon Dışı Hastalıklar
Tüberküloz	Sarkoidoz
Enfeksiyöz mononükleoz	Lösemiler
Sepsis	Lenfomalar
Sifiliz	Hepatoma
Sıtma	Romatolojik hastalıklar
Tifo	
Kala azar	

Brusellozda sevk kriterleri şunlardır:

1. Akut bakteriyemik bruselloz; yüksek ateş, toksik görünüm ve semptomları şiddetli olan hastalar
2. Nörobruselloz şüphesi olan hastalar; bilinç değişikliği, meningeal irritasyon bulguları olan, nöbet geçiren, kranial sinir tutulumu, parezi veya paralizisi olan hastalar
3. Brusella endokarditi düşünülen hastalar; kalp protezi, kalp kapak hastalığı, kalp yetmezliği, kalpte üfürümü olan, konjunktivalarda peteşiyel kanamaları olan, periferde bakteriyel tromboemboliyi düşündüren bulguları olan hastalar
4. Osteoartiküler tutulum düşünülen hastalar
5. Protezi (eklem protezleri veya diğer) olanlarda gelişen enfeksiyon
6. Kronik hastalığı olanlarda gelişen bruselloz; malignitesi olan, kronik karaciğer veya böbrek hastalığı olan, diyabeti olan hastalar
7. Kemoterapi veya diğer immünosüpresif tedavi alan hastalar
8. Edinilmiş bağışıklık yetmezlik sendromu olan hastalar
9. Gebeler
10. Daha önce bruselloz tanısı ile tedavi almış ve semptomları tekrarlayan hastalar (Doğanay ve ark 2011).

2.1.10 Tedavi

Brusellozda tedavi antibiyoterapi, istirahat, semptomatik tedavi ve destek tedavisi olarak dört ana bölüme ayrılır. Ateş düşene kadar yatak istirahati önerilir. Akut ağır seyirli bruselloz vakaları kesinlikle hastaneye yatırılarak tedavi edilmelidir. Kas-iskelet sistem belirti ve bulguları olan hastalarda nonsteroid antiinflatuar ilaçların kullanılması semptomatik rahatlamayı sağlar. Özellikle ağır seyirli vakalarda bozulan sıvı-elektrolit dengesi mutlaka korunmalı, malnütrisyon durumlarında protein, enerji ve vitamin gereksinimleri yerine konulmalıdır. Destek tedavisi antimikrobik tedaviye yanıtı kolaylaştırıp, iyileşmeyi hızlandırarak hasta konforunun artırılmasını sağlar. Antimikrobiyal tedavi şikayetleri hafifletir, hastalığın seyrini kısaltır, çoğu kez yaşamı da tehdit edebilen komplikasyonların görülme sıklığını ve şiddetini azaltır (Ural 2005, Young 2005).

Brusellanın intrasellüler bir mikroorganizma olması, mikroapseler yapması ve granülomlar oluşturması tedavi sırasında klinisyeni oldukça zorlamaktadır. İn vitro çalışmalarda birçok antibiyotik brusella suşlarına etkili olmasına rağmen, bu bakterilerin makrofaj ve RES hücrelerine yerleşmeleri sebebiyle klinik deneyimde tedavide sorunlarla karşılaşmaktadır. Bu nedenle hücrelerin içinde yüksek konsantrasyonlara ulaşamayan antibiyotiklerle yapılan tedavinin başarısız olması kaçınılmazdır. Bu yüzden verilen antibiyotiğin mutlaka makrofajlar içine girebilmesi, özellikle de intralizozomal düşük pH'da inaktive olmaması ve tercihen bakterisid olması şarttır. Tedavideki başarı, uygun ilaçların kombinasyonu ve tedavi süresinin uzun tutulmasına bağlıdır (Çelebi ve Hacımustafaoğlu 2004, Young 2005).

Tedavi rejiminin seçimi ve antimikrobiyal tedavinin süresi hastanın yaş, alerji gibi özelliklerine ve lokal hastalığın varlığına göre düzenlenmelidir. Brusellaya in vivo ortamda etkili antibiyotikler; tetrasiklinler, ko-trimoksazol, rifampisin, aminoglikozidler ve florokinolonlardır. İn vitro ortamda etkili olmalarına karşın penisilinler, kloramfenikol, eritromisin, I. ve II. kuşak sefalosporinler in vivo ortamda etkisiz olduklarından tedavide kullanılması önerilmez (Ural 2005).

Brusellozda tedavi, Dünya Sağlık Örgütü'nün de önerdiği şekilde ikili, bazı durumlarda da üçlü kombinasyon şeklinde yapılmalıdır. Tekli antibiyotik kullanımı, hızlı direnç gelişimi ve bakterinin intrasellüler çoğalabilmesi nedeni ile yetersiz kalarak tedavi başarısızlığına ve relaps gelişmesine neden olmaktadır (Sözen 2002, Pickering ve ark. 2012).

Tedavide ana hedef, Brusellaya en etkili antibiyotik olan tetrasikline (özellikle doksisisiklin ve minosiklin) yer verebilmektir (Yousefi-Nooraie ve ark. 2012). Tetrasiklin monoterapisiyle yüksek oranda relaps görüldüğü için bu antibiyotikler, ikinci bir antibiyotikle desteklenmelidir. Trimetoprim/sulfametoksazol (kotrimoksazol, TMP-SMX) ve kinolonlar, ikinci tercih ilaçlardır; bunlar da ikinci bir antibiyotikle beraber kullanılır (Corbel 2006).

Çocuklarda bruselloz tedavisi yaşa, tutulan organ veya sisteme göre belirlenir. Brusella türleri hücre içi mikroorganizmalar olduğundan ve monoterapi ile nüks oranları arttığından dolayı tedavide uzun süreli kombinasyon rejimleri önerilmektedir (Tanir ve ark. 2009, Ramin ve MacPherson 2010). Çocuklarda yapılan bir çalışmada kür oranı altı haftalık tedavi ile %89,1 sekiz haftalık tedavi ile %95,5 olarak bildirilmiştir (Roushan ve ark. 2006). Genel olarak kabul edilen tedavi süresi altı haftadır (Tanir ve ark. 2009). Tedavi rejimi ve süreye göre relaps oranları %0-85 arasında değişmektedir (Yoldas ve ark. 2015). Relapsta etkili olan faktörler arasında yetersiz ve uygun olmayan tedavi, tedaviye uyumsuzluk ve maruziyetin devam etmesi sayılabilir (Soner ve ark. 2016).

Sekiz yaşından büyük çocuklarda brusellozun en uygun tedavisi, doksisisiklin (2-4 mg/kg/gün oral; maksimum 200 mg/gün) ile rifampisin (15-20 mg/kg/gün oral; maksimum 900 mg/gün) veya gentamisin (3-5 mg/kg/gün intramuskuler veya intravenöz) ya da streptomisin (15-30 mg/kg/gün intramuskuler; maksimum 1 gr/gün) arasındaki geleneksel kombinasyonlardır. Tetrasiklin veya doksisisiklin, dişlerde lekelenme riski nedeniyle sekiz yaşından küçük çocuklar için önerilmemektedir (Pickering ve ark. 2009). Beş günlük gentamisin ve altı haftalık kotrimoksazol (Trimetoprim-TMP 10 mg/kg/gün oral; maksimum 480 mg/gün ve sülfametoksazol-SMZ 50 mg/kg/gün oral; maksimum 2,4 gr/gün) veya altı haftalık kotrimoksazol ve rifampisin, sekiz yaşından küçük çocuklar için önerilen iki yaygın tedavi rejimidir (Young ve ark 2012). Beş günlük gentamisin ve altı haftalık kotrimoksazol ile deneyimler çok sınırlıdır. Gentamisin ve 2-etilheksil sülfosüksinat sodyumdan oluşan bir iyon kompleksinin kullanımı, bruselloz tedavisi için patent almıştır (Al-Tawfiq ve Memish 2013).

Çocukluk çağı brusellozunda hastaların yaşına göre kotrimoksazol ve rifampisin veya doksisisiklin ve rifampisin ile altı haftalık kombinasyon tedavisi, düşük nüks oranları ile etkili bir tedavidir (Pickering ve ark. 2009, Roushan ve Amiri 2013). Sekiz yaşından büyük hastalarda iki-üç hafta streptomisin veya yedi gün gentamisin ile 45 gün doksisisiklin bruselloz tedavisinde en iyi tedavi rejimidir (Solera ve ark. 2004, Roushan ve ark. 2006).

Komplikasyonlu, yani bir enfeksiyon odağı saptanan hastalardan bazılarında (örn. sakroileit) standart altı haftalık tedavi uygulanabilir. Spondilit ve osteomyelitte tedavi süresi sekiz haftaya veya daha uzun bir süreye çıkarılabilir. Absesler drene edilmelidir. Endokarditin tedavisi tartışmalıdır; sekiz hafta boyunca doksisiklin + aminoglikozit + rifampin/kotrimoksazol verilebilir; cerrahi yöntem tedaviye dahil edilecekse antibiyotiklerin ameliyattan sonra birkaç hafta daha devam edilmesi önerilmektedir. Nörobrusellozda altı-sekiz hafta boyunca doksisiklin, streptomisin ve rifampin veya kotrimoksazol şeması uygulanabilir (Corbel 2006, Franco ve ark. 2007). Doksisiklin en faydalı antimikrobiyal ajandır ve bir aminoglikozid ile birleştirildiğinde en az relaps ile ilişkilidir (Tablo 2.6).

Tablo 2.6 Bruselloz tedavisinde önerilen tedavi (Gordon ve Richard 2016)

Yaş ve Durum	Antimikrobiyal Ajan	Doz	Verilme Şekli	Süre
8 yaş ve üzeri	Doksisiklin	2-4 mg/kg/gün (maksimum 200 mg/gün)	Oral	6 hafta
	+			
	Rifampisin	15-20 mg/kg/gün (maksimum 900 mg/gün)	Oral	6 hafta
	Alternatif; Doksisiklin	2-4 mg/kg/gün (maksimum 200 mg/gün)	Oral	6 hafta
	+			
	Streptomisin	15-30 mg/kg/gün (maksimum 1 gr/gün)	IM*	2-3 hafta
Veya				
	Gentamisin	3-5 mg/kg/gün	IM/IV**	1-2 hafta
< 8 yaş	Kotrimoksazol	TMP 10 mg/kg/gün (maksimum 480 mg/gün) SMZ 50 mg/kg/gün (maksimum 2,4 gr/gün)	Oral	4-8 hafta
	+			
	Rifampisin	15-20 mg/kg/gün (maksimum 900 mg/gün)	Oral	6 hafta
Menenjit, osteomyelit, endokardit	Doksisiklin	2-4 mg/kg/gün (maksimum 200 mg/gün)	Oral	4-6 ay
	+			
	Gentamisin	3-5 mg/kg/gün	İV	1-2 hafta

±

Rifampisin	15-20 mg/kg/gün (maksimum 900 mg/gün)	Oral	4-6 ay
------------	------------------------------------------	------	--------

*intramuskuler

**intravenöz

Nörobruselloz hastalarında sekiz yaş üzeri için, ilk dört-altı hafta seftriakson (100 mg/kg/gün iki dozda; maksimum 4 gr/gün) ile birlikte her ikisi de en az 12 hafta olmak üzere rifampisin ve doksisisiklin, sekiz yaş altında doksisisiklin yerine kotrimoksazol en az 12 hafta olmak üzere kullanılması da önerilmektedir (Gul ve ark. 2008, Erdem ve ark. 2012).

2.1.11 Korunma ve Kontrol

Bruselloz insanlara, enfekte hayvanlarla direk veya dolaylı temas ile bulaşır. Bu yüzden insanlarda enfeksiyonun önlenmesi ve kontrolü de bu temas zincirinin kırılması ve hayvan rezervuarlarında enfeksiyonun kontrolü ve eliminasyonuna bağlıdır. Hayvanlarda bu enfeksiyonun kontrolü ve eliminasyonu enfeksiyon kontrol programları gerektirir. Bu programların uygulanması için eğitilmiş personel ve önemli miktarda mali kaynak gerekmektedir. Bu açıdan toplumun, ülkemizde sık görülen zoonotik hastalıkların bulaşı ve önlenmesi konusunda bilinçlendirilmesi önemlidir. Hayvanlar için etkili canlı bakteri aşılı; *B. abortus* (suş 19) ve *B. melitensis* (suş Rev-1) türlerine karşı hazırlanmıştır. Bu aşılar ülkemizde de uygulanmaktadır. *B. suis* veya *B. canis*'e karşı geliştirilmiş aşı yoktur. Bu aşılar insanlarda uygulanmaz (Doğanay ve ark 2011). Hayvanların kitle halinde aşılması, insanları da brusellozdan korur (Yagupsky 2012).

Ülkemizde brusellozun büyük çoğunluğunun meslek hastalığı olarak veya gıda kaynaklı bulaştığı görülmektedir. Buna yönelik birtakım önlemler şunlardır:

Hayvan bakıcıları, sütçüler, çobanlar, mezbaha çalışanları, suni tohumlama yapan teknisyenler ve veterinerler; enfekte hayvanların doku (plasenta veya düşük ürünleri gibi) veya enfekte sıvıları (kan, idrar veya süt gibi) ile deri veya mukozalarının temasından kaçınılmalıdır. Bu meslek grupları bruselloz, bulaşma yolları ve önlemler hakkında devamlı bilgilendirilmelidir. Ayrıca; mezbahaların uygun yapılandırılması, periyodik temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin usulüne uygun yapılması, çevre temizliği ve kontamine atıkların usulüne uygun şekilde yok edilmesi için gerekli önlemler alınmalıdır. Risk grupları kontamine materyalle uğraşırken gerekli hijyen kurallarına uymalıdır. Potansiyel olarak kontamine

hayvansal materyallerle temas durumunda, çalışanlar uygun koruyucu giysiler giymelidir. Materyalin özelliğine göre; su geçirmeyen eldiven, yüz koruyucu maske, gözlük, su geçirmeyen önlük, aerosol oluşturan bir iş ise respiratör kullanılmalıdır. İş bittikten sonra eller mutlaka yıkanmalıdır. Eğer vücudun herhangi bir yerine kontamine materyal bulaştıysa, bol su ile yıkanmalıdır. Gözlere herhangi bir materyal sıçradığında yine konjunktivalar bol su ile yıkanmalıdır (Doğanay ve ark 2011).

Bruselloz, en sık bildirilen laboratuvarla ilişkili bakteri enfeksiyonudur (İnsan brusellozu vakalarının %2'si) (Pickering ve ark. 2012). Mikroorganizmayla çalışma konusunda deneyimsiz olma, analiz için gelen örneklerin bilinmeyen veya tanımlanmamış olması, brusella izolatıyla kapalı yerde çalışmamak ve BGD-3 koşullarını yerine getirmemek maruziyet için risk faktörleridir (Choudhary ve ark. 2012). Bulaşa neden olan eylemler bakteriyolojik kültürlerin inhalasyonu, bütünlüğü bozulmuş ciltle doğrudan temas etmek, pipetlemeyi ağızla yapmak, ağıza, göze veya buruna sprej şeklinde materyal gelmesidir. Brusella izolatıyla çalışan, bir kültür plağını açan veya koklayan, örnek materyalinden ağızla pipetleme yapan, BGD-3 önlemlerini almadan çalışan kişiler ve bu kişilerle 1,5 metrelik mesafenin içinde bulunan kişilere temas sonrası önlemlerin uygulanması gerekir. Bu kişiler için üç hafta boyunca günde iki kez 100 mg doksisisiklin ve günde tek doz 600 mg rifampisin profilaksisi verilir. Doksisisiklin verilmesi kontrendike olan kişilere kotrimoksazol verilmelidir. Maruziyeti izleyen 0, 6, 12, 18 ve 24. haftalarda serolojik test yapılır. Kişi, kendisini 24 hafta boyunca enfeksiyon belirtileri yönünden izlemelidir. *B. canis* ve RB51 (aşı suşu) teması için serolojik kontrol mümkün değildir. Bir buçuk metrelik mesafenin dışında kalan kişiler için son üç madde uygulanmalıdır; bu kişiler gebe veya bağışıklık yetmezliği varsa temas sonrası profilaksi uygulanması gündeme gelebilir (Öncel 2016).

Enfekte koyun, sığır ve diğer süt veren hayvanların sütlerinde ve bu sütlerden elde edilen krema veya peynir gibi ürünlerde de bakteri konsantre olarak bulunur. Kaynatılmadan elde edilen yumuşak peynirlerde bakteri konsantrasyonu oldukça fazladır. Bu peynirler altı ay bekletilmeden tüketilmemelidir. Katı peynirler, laktik asit fermentasyonu ile elde edildiklerinden daha az bulaştırıcıdır. Süt ve süt ürünleri ile bruselloz bulaşını önlemenin en pratik yolu, sütün pastörize edilerek veya kaynatılarak kullanılmasıdır. Her yerde sütün pastörize edilme olanağı olmayabilir. Bu durumda süt en az 80-85°C'nin üstünde birkaç dakika (minimum beş dakika) kaynatılmalıdır. Kaynatma, karıştırılarak yapılmalıdır. Süt ürünlerinin de kaynatılmış veya pastörize edilmiş süttten yapılması sağlanmalıdır. Bakteri, et

dokusunda daha düşük konsantrasyonda bulunur. Enfekte etin işlemleri sırasında, mutfak ortamı ve malzemeleri kontamine olabileceği gibi, ayrı ve uygun şekilde paketlenmediğinde diğer gıdalar da kontamine olur. Etin kurutulması, tuzlanması, tütsüleme bakteriyi öldürmek için uygun değildir. Benzer şekilde, etin buzdolabı veya derin dondurucuda saklanması da bakterinin canlılığını devam ettirmesini sağlar. Bu nedenle et ve et ürünleri iyi pişirilmeden tüketilmemelidir (Doğanay ve ark 2011).

2.1.12 İzlem ve Prognoz

IgG yapısındaki antikorlar tedaviye yanıtı gösterir. Tedavinin başarısını kısa vadede klinik yerine antikorlarda düşme beklentisiyle izlemek doğru değildir; ancak çok uzun süren veya titreleri artan IgG antikorları, yineleyen hastalığın habercisi olabilir (Franco ve ark. 2007, Choudhary ve ark. 2012).

Tedavi edilmeyen enfeksiyon kronikleşebilir ve şikayetlerle bulgular yıllarca sürebilir. Genellikle ilk yıl içinde gelişen ve ilk enfeksiyondan daha hafif geçen relaps oral tedavilerde %4-24, oral-parenteral tedavilerde %5-8 oranındadır (Yagupsky 2012).

Osteoartiküler tutulum, tedaviden önceki semptom süresinin on günden az olması, yüksek ateş, kan kültüründe üreme olması, ikinci tercih antimikrobiyal rejimleri, erkek cinsiyet ve trombositopeni relaps ihtimalini artıran etmenlerdir (Choudhary ve ark. 2012).

Brusellozda mortalite %2'den düşüktür (Koruk ve ark. 2012). Endokardit ve konjestif kalp yetmezliğiyle birlikte olan perikardiyal efüzyon, brusellozda mortaliteyi artıran etmenlerdir (Franco ve ark. 2007, Choudhary ve ark. 2012).

2.2 Antimikrobiyal Peptitler

Konak savunma peptitleri olarak da bilinen AMP'ler; bakterilerden memelilere kadar tüm organizmalar tarafından üretilen ve geniş bir patojen yelpazesine karşı birincil savunma görevi gören kısa aminoasit dizileridir (Raheem ve Straus 2019).

İlk tanınan AMP, 1922'de Alexander Fleming tarafından keşfedilen; sebze, hayvan dokuları ve salgılarında saptanan ve bakteriyolitik aktiviteye sahip olduğu gösterilen lizozimdir (Tornesello ve ark. 2020). Sonrasında 1939 yılında Dubos, *Bacillus brevis* tarafından üretilen antimikrobiyal bir ajan olan gramisidini topraktan izole etti ve gramisidinin

fareleri pnömokok enfeksiyonundan koruyabildiğini, yaraların ve ülserlerin topikal tedavisinde etkili olduğunu gösterdi (Van Epps 2006, Tornesello ve ark. 2020).

Lökin ve fagositin, 1956'da tavşan lökositlerinden izole edilen memelilerdeki ilk hayvan kaynaklı AMP'lerdir (Tornesello ve ark. 2020). Birkaç yıl sonra, insan lökositlerinin lizozomlarında "bakterisidal bazik proteinlerin" biriktiği gösterilmiştir. 1985 yılında Lehrer grubu *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli*'yi öldürdüğü gösterilen "defensinler" olarak adlandırılan insan nötrofillerinden üç küçük peptidi (HNP-1, HNP-2 ve HNP-3) izole etmiştir (Lehrer 2004, Guaní-Guerra ve ark. 2010, Tornesello ve ark. 2020). Geçtiğimiz yıllarda, çok sayıda doğal ve sentetik AMP karakterize edilmiştir ve sırasıyla doğal AMP'lerin listesini, AMP ailelerinin sınıflandırmasını ve AMP klinik uygulamalarını içeren halka açık veritabanları kurulmuştur (Waghu ve ark. 2016, Wang ve ark. 2016, Kang ve ark. 2019).

Şimdiye kadar tanımlanmış yaklaşık 5000 kadar AMP mevcuttur (Akar ve Çetin Uyanıkgil 2020). Genel olarak AMP'ler, 12 ila 50 L-amino asit içerir, 1 ila 10 kDa arasında değişen moleküler ağırlıklara sahiptir, arginin ve lizin kalıntıları açısından zengindir ve nötr pH'ta +2 ila +9 arasında değişen net bir pozitif yüke sahiptir (áde la Torre 2016, Piotrowska ve ark. 2017).

Antimikrobiyal peptitler; elde edildikleri biyolojik kaynak, sentezlendikleri bölge, hidrofobik karakterleri, sekonder yapıları, moleküler hedefleri ve net yüklerine göre sınıflandırılabilirler. Sınıflandırma özet olarak Tablo 2.7'de verilmiştir (Akar ve Çetin Uyanıkgil 2020).

Tablo 2.7 Antimikrobiyal peptitlerin çeşitli şekillerde sınıflandırılmaları (Akar ve Çetin Uyanıkgil 2020)

Sentezledikleri Bölge	Moleküler Hedefleri	Biyolojik Fonksiyonlarına Göre
Ribozomal	Hücre yüzeyi	Antibakteriyel
Non-ribozomal	Hücre içi moleküller	Antiviral
Sekonder Yapıları	Elde Edildikleri Biyolojik Kaynak	Antifungal
α -helix yapılı	Bakteriyel	Antiparazitik
β -helix yapılı	Bitkisel	İnsektisidal
$\alpha\beta$ yapılı	Hayvansal	Kemotaktik
Düzensiz	Hidrofobik Karakterleri	Yara İyileştiren
		Büyümeyi Uyaran

Net Yükleri	Hidrofobik
Katyonik	Amfipatik
Nötral	Hidrofilik
Anyonik	

AMP'ler, memelilerde nötrofillerin granülleri içerisinde ve deri mukozal yüzeylerini örten epitel hücrelerinin salgılarında bulunur (Lai ve Gallo 2009). AMP'lerde net yük, negatif yüklü hücre membranları ile etkileşim için ana faktördür. Net yük değiştirilerek konakçı hücre üzerinde herhangi bir antimikrobiyal veya hemolitik etkiye sahip olmadan direkt olarak mikroorganizmalar hedeflenebilir (Bahar ve Ren 2013).

AMP'ler, antimikrobiyal etkilerinin yanında birçok biyolojik proseste sinyalleme, immün modülatör, mitojen gibi multifonksiyonel olarak yer alabilmektedirler (Akar ve Çetin Uyanıkgil 2020). Anjiyogenez, inflamatuvar tepkiler, hücre sinyalleşmesi ve yara iyileşmesi gibi hücre içi süreçlerde, yeni ilaçların araştırılmasında ve geliştirilmesinde yeni adaylar olarak görülmektedir (Zaiou 2007, Kim ve ark. 2015).

Bir konağın antimikrobiyal peptitlerinin öldürücü etkilerine karşı koyma yeteneği, patojenlerin virülansı ile ilgili çok önemli bir faktördür. Bir çalışmada, AMP'lere karşı direncin, Brusellanın in vivo ortamda hayatta kalmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Wang ve ark. 2016). Brusellanın temel olarak etkilediği sistemlerden olan RES organı karaciğerde üretilen AMP'lerden ikisi hepsidin 25 ve ANG'dir (Wang 2014). AMP'ler, geleneksel antibiyotik tedavisinin başarısız olduğu bulaşıcı hastalıkların tedavisi için de alternatif bir strateji sunar. İnsan serumu, endojen AMP'ler için zengin bir kaynaktır. Bundan yola çıkarak oluşturulan sentetik ANG molekülünün hücre içinde yaşayan *Mycobacterium tuberculosis*'in ve hızlı büyüyen patojenler olan *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin büyümesini sınırladığı tespit edilmiştir (Noschka ve ark. 2021). Çeşitli in vitro çalışmalar, hepsidini *S. pneumoniae*, *M. tuberculosis*, *Salmonella typhimurium* gibi birkaç mikrobiyal türe karşı antimikrobiyal özelliklere sahip bir peptit olarak tanımlamıştır. Hepsidin'in indüklenmesi nedeniyle plazma demir içeriğindeki azalmanın, çeşitli enfeksiyonlara karşı ana etki şekli olduğu varsayılmaktadır (Rauf ve ark. 2020).

Hepsidin 25; Hepsidin 25 (hep 25), ilk olarak insan idrarında ve kan ultrafiltratında keşfedilen ve karaciğerde sentezlendiği bulunan 25 amino asitli bir β -defensin benzeri

peptittir (Park ve ark. 2001). Karaciğerde sentezlenen bu peptit, 25 kalıntılı bir peptitte dört disülfid bağına yol açan sisteinler (%32) açısından özellikle zengindir (Jordan ve ark. 2009). Bu antimikrobiyal peptit demir kullanımında önemli bir rol oynar ve bu moleküldeki tek kalıntı mutasyonları, aşırı demir yüklenmesinin genetik bir hastalığı olan ciddi juvenil hemokromatozis ile ilişkilidir (Pigeon ve ark. 2001, Roetto ve ark. 2003). Hep 25, insan vücudunda demir regülasyonundaki görevine ek olarak, memeli hücrelerinde sitotoksositeye neden olmadan gram pozitif bakterilere (örneğin; *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*), gram negatif bakterilere (örneğin; *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii*) ve mantarlara (*Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiate* gibi) karşı geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip bir AMP'dir (Park ve ark. 2001, Jiang ve ark. 2017, Chen ve Lan 2020)

RNase 5; RNase 5, kan plazmasının yanı sıra dolaşımdaki çeşitli bağışıklık hücreleri ve epitel dokularında yapısal olarak ifade edilir (Schwartz ve ark. 2018). Zayıf RNase aktivitesine sahip insan RNase 5 aynı zamanda ANG olarak da bilinir, özellikle anjiyogenezde görev alır. RNase 5 tümör oluşumu, üreme ve doku rejenerasyonu dahil olmak üzere bir dizi fizyolojik süreçle ve aynı zamanda HIV-1 replikasyonunun inhibe edilmesiyle ilişkilendirilmiştir (Cocchi ve ark. 2012). RNase 5'in immünomodülasyondaki rolü geniş çapta araştırılmıştır. Kulka ve diğerleri, RNase 5'in mast hücreleri tarafından üretildiğini ve endotoksin LPS tarafından indüklendiğini keşfetmiştir. RNase 5'in nanomolar konsantrasyonlarda polimorfonükleer hücrelerin degranülasyonunu inhibe ederek bir immünomodülatör olarak hizmet ettiği bildirilmiştir (Tschesche ve ark. 1994, Abtin ve ark. 2009). RNase 5 ayrıca lökositleri, proinflamatuvar sitokinler IL-6 ve TNF α üretmeleri için uyarma kabiliyetine sahiptir (Shcheglovitova ve ark. 2003). RNase 5'in *S. pneumoniae* ve *C. albicans*'a karşı toksisite gösterdiği bulunmuştur (Sheng ve Xu 2016, Schwartz ve ark. 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Kasım 2021-Eylül 2022 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları ile Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniklerine halsizlik, iştahsızlık, gece terlemesi, kilo kaybı, artralji ve baş ağrısı semptomları ile başvuran hastalarda yapılan tetkikler sonucu brusella SAT testi $\geq 1:160$, Coombs veya brusella immuncapture testi $\geq 1:320$ antikor titresi olan (hasta grubu), Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniklerine rutin kontrol için başvuran, kronik herhangi bir rahatsızlığı olmayan, rutin kan alınacak (kontrol grubu) 36-216 ay arası çocuklar dahil edildi. Hasta grubunda 50, kontrol grubunda 40 olmak üzere toplam 90 çocuk çalışmaya dahil edildi. Hastalardan bu testler için ayrıca kan alınmadı. Eğer hastanın tetkiklerinden artan serum örneği yoksa ekstra kan alınmayıp bu hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hasta grubunda bruselloz dışında kronik hastalığı olanlar ve kontrol grubunda herhangi bir kronik hastalığı olan veya aktif bir şikayetle başvuran çocuklar çalışma dışı bırakıldı. Bu çalışmayla brusella enfeksiyonu olan hastalarda, enfeksiyonun olmadığı hastalara göre hepsidin-25 ve ANG düzeylerindeki değişikliğin değerlendirilmesi, enfeksiyonun olduğu hastalarda tam kan sayımı, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ile bu antimikrobiyal peptit düzeyleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Çalışmamıza dahil edilen tüm hastaların yaş ve cinsiyeti sorgulandı, bunlara ek olarak hasta grubundaki hastaların başvuru şikayetleri, ailede brusella enfeksiyonu varlığı, hayvancılıkla uğraş, almış olduğu brusella enfeksiyonunun tanısı, verilen tedavinin süresi ve tedavi planı incelendi. Hasta grubunda poliklinik başvurusunda alınmış olan tam kan sayımı, ALT, AST, CRP, ESH ve kan kültürü alınanlarda üreme olup olmadığı incelendi. Hepsidin-25 ve ANG düzeyleri çalışılincaya kadar artan serum örnekleri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda (Nüve DF 590) saklandı. Serum hepsidin-25 düzeyinin ölçümü için Human Heps25 ELISA BT-Lab (E3096 Hu Bioassay Technology Laboratory Inc., Zhejiang, Çin) kiti, serum ANG düzeyinin ölçümü için Human Angiogenin ELISA BT-Lab (E3399 Hu Bioassay Technology Laboratory Inc., Zhejiang, Çin) kiti kullanıldı. Tüm hastalardan artan serum örneklerinden hepsidin-25 ve ANG düzeyleri Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda ELISA yöntemi ile ölçüldü. Yıkama işlemi mikroplate yıkacı (Human Diagnostics Worldwide, Wiesbaden, Germany) ile yapıldı. Hepsidin-25 ve anjiogeninin 450-630 nanometre dalga boyları arasındaki absorbans değerleri spektrofotometrik olarak mikroplate

okuyucu (Chromate awareness technology, Inc, Amerika Birleşik Devletleri) ile değerlendirildi.

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığınca 19 Kasım 2021 tarihinde 2021/3491 sayılı karar ile onaylandı. Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü desteğiyle yürütüldü (Proje No: 221418002).

İstatistiksel Analiz

Veri girişi ve istatistiksel analiz SPSS for Windows version 18.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelendi. Sayısal verilerin değerlendirilmesinde aritmetik ortalama, standart sapma, ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek); kategorik verilerin özetlenmesinde frekans dağılımları ve yüzdeler kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki-kare(χ^2) testi kullanıldı. Normal dağılmayan sayısal verilerle kategorik verilerin karşılaştırılması Man-Whitney U testi ile değerlendirildi. Normal dağılmayan sayısal değişkenlerin korelasyonları Spearman korelasyon katsayısı ile analiz edildi. Spearman Korelasyon katsayılarının değerlendirilmesinde 0,19'un altı ilişki yok, 0,20-0,39 arası düşük düzeyde ilişki, 0,40-0,69 arası orta düzeyde ilişki, 0,70-0,89 arası yüksek düzeyde ilişki, 0,90 ve üzeri çok kuvvetli ilişki olarak kabul edildi. İstatistiksel anlamlılık için tip-1 hata düzeyi %5 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunun Demografik Verileri

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılan bu çalışmaya 50 (%55,6) brusella enfeksiyonu tanısı alan hasta, 40 (%44,4) sağlıklı çocuk dahil edildi. Hasta grubunun %74,0'ı (n=37) erkek, %26,0'ı (n=13) kız, kontrol grubunun %42,5'i (n=17) erkek, %57,5'i (n=23) kız idi. Bruselloz tanılı hastaların yaş ortalaması 146,56±53,36, yaş ortancası 159,00 (1.çeyrek:113,75-3.çeyrek:188,25) ay, kontrol grubunun yaş ortalaması 128,32±52,12, yaş ortancası 129,50 (1.çeyrek:91,75-3.çeyrek:176,50) aydı. Grupların yaş dağılımı benzer olarak tespit edildi (p=0,074).

Çalışmaya dahil edilen 50 bruselloz hastasının başvuru şikayetleri Tablo 4.1'de gösterildi. Tablo 4.2'ye göre hastaların %76,0'ının (n=38) eklem ağrısı, %32,0'ının (n=16) ateş, %18,0'ının (n=9) kilo kaybı, %18,0'ının (n=9) baş ağrısı, %8,0'ının (n=4) halsizlik, %8,0'ının (n=4) karın ağrısı, %6,0'ının (n=3) iştahsızlık şikayetleri ile başvurduğu belirlendi.

Tablo 4.1. Hastaların başvuru şikayetleri

Başvuru Şikayetleri *	Hasta Grubu (n=50)	
	n	%
Eklem ağrısı	38	76,0
Ateş	16	32,0
Kilo kaybı	9	18,0
Baş ağrısı	9	18,0
Halsizlik	4	8,0
Karın ağrısı	4	8,0
İştahsızlık	3	6,0
Tarama	2	4,0
Kusma	1	2,0
Çift görme	1	2,0
Epididimoorşit	1	2,0

**Hastalarda birden fazla başvuru şikayeti bulunmaktadır.*

Çalışmaya dahil edilen 50 bruselloz hastasının %50,0'ında (n=25) ailede brusella enfeksiyonu öyküsü vardı. Hastaların %90,0'ının ailesi hayvancılıkla uğraşmaktaydı. Hastaların %64,0'ından (n=32) kan kültürü alındığı tespit edildi. Kan kültürü alınan 32 hastanın %31,3'ünde (n=10) üreme olduğu, %68,8'inde (n=22) üreme olmadığı belirlendi. Hastaların tamamının (%100) brusella immuncapture testi sonuçlarında 1/320-1/5120 arasında pozitiflik saptandı. Hastaların yapılan tetkikler sonunda, %4,0'ının (n=2) nörobruselloz, %14,0'ının (n=7) relaps, %2,0'ının (n=1) epididimoorşit, %2,0'ının (n=1)

sakroileit tanısı aldığı tespit edildi. Hastaların %80,0'ına (n=40) ikili, %20,0'ına (n=10) üçlü tedavi verildiği belirlendi. Hastaların tedavi sürelerinin %76,0'ısında (n=38) 6 hafta, %18,0'ında (n=9) 8 hafta, %6,0'ında (n=3) 3 ay olduğu tespit edildi. Hastaların hastalık özelliklerine ilişkin bulgular Tablo 4.2'de gösterildi.

Tablo 4.2. Hastaların hastalık özelliklerine ilişkin bulgular

Özellik		Hasta Grubu (n=50)	
		n	%
Ailede brusella öyküsü	Yok	25	50,0
	Var	25	50,0
Ailede hayvancılıkla uğraşma	Yok	5	10,0
	Var	45	90,0
Kan kültüründe üreme*	Yok	22	68,8
	Var	10	31,3
Tanı	Nörobruselloz	2	4,0
	Relaps	7	14,0
	Epididimoorşit	1	2,0
	Sakroileit	1	2,0
Tedavi planı	İkili	40	80,0
	Üçlü	10	20,0
Tedavi süresi	6 hafta	38	76,0
	8 hafta	9	18,0
	3 ay	3	6,0

*Kan kültürü alınan 32 hasta üzerinden değerlendirilmiştir.

4.2. Hastaların Laboratuvar Bulguları

Brusella enfeksiyonu tanısı alan 50 hastanın bakılan bazı laboratuvar parametrelerine ait değerler Tablo 4.3'te gösterildi.

Tablo 4.3. Hastaların bazı laboratuvar parametrelerinin değerleri

Parametreler	Hasta Grubu (n=50)		
	Ortalama±SS	Ortanca (1-3. Çeyrek)	Referans değerleri
Lökosit (/mm ³)	6840,20±1753,42	6710,00 (5632,50-	4000-10000

Nötrofil (/mm ³)	3110,80±1263,04	7792,50) 3095,00 (2172,50-3487,50)	1500-7300
Lenfosit (/mm ³)	3111,80±1175,16	2915,00 (2517,50-3895,00)	3000-5500
Hemoglobin (g/dL)	13,13±1,74	13,30 (12,17-14,32)	12,1-17,2
Platelet (/mm ³)	301,02±85,80	290,00 (249,50-332,00)	
Eritrosit sedimentasyon hızı (mm/h)	20,27±15,15	18,50 (6,00-28,00)	0-20
C-reaktif protein (g/dL)	14,84±16,09	9,75 (2,33-20,05)	0-5
Aspartat aminotransferaz (U/L)	30,50±17,60	24,55 (19,30-36,00)	0-33
Alanin aminotransferaz (U/L)	30,53±26,79	19,80 (13,87-38,87)	0-32

Hasta grubundaki çocuklarda bakılan hepsidin-25 düzeyi ortalaması 0,13±0,05 ortancası 0,11 (1.çeyrek:0,10-3.çeyrek:0,14), kontrol grubunda yer alan çocukların ise hepsidin-25 düzeyi ortalaması 0,14±0,05 ortancası 0,12 (1.çeyrek:0,10-3.çeyrek:0,15) idi. Hasta ve kontrol gruplarının hepsidin-25 düzeyleri benzer tespit edildi (p=0,295). Çalışmaya dahil edilen kişilerde ölçülen ANG değeri hastalarda ortalama 0,30±0,15, ortanca 0,24 (1.çeyrek:0,21-3.çeyrek:0,34), kontrol grubunda ise ortalama 0,29±0,10, ortanca 0,25 (1.çeyrek:0,22-3.çeyrek:0,34) idi. Hasta ile kontrol grubu arasında ANG değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (p=0,742). Hasta ve kontrol grubuna ait hepsidin-25, ANG ve karşılaştırılmaları Tablo 4.4'te gösterildi.

Tablo 4.4. Hasta ve kontrol grubunda hepsidin-25 ve anjiogenin değerlerinin karşılaştırılması

	Hasta Grubu (n=50)		Kontrol Grubu (n=40)		p*
	Ortalama±SS Ortanca (1-3. Çeyrek)	Min-Maks	Ortalama±SS Ortanca (1-3. Çeyrek))	Min-Maks	
Hepsidin-25 (abs ^{**})	0,13±0,05 0,11 (0,10-0,14)	0,034-0,318	0,14±0,05 0,12 (0,10-0,15)	0,073-0,354	0,295
Anjiogenin (abs)	0,30±0,15 0,24 (0,21-0,34)	0,145-0,843	0,29±0,10 0,25 (0,22-0,34)	0,154-0,642	0,742

*Mann Whitney-U testi

**Absorbans değerleri

Hastalarda ölçülen hepsidin-25 ve ANG değerlerinin yaş ve bakılan diğer laboratuvar parametreleri ile ilişkisi Tablo 4.5'te gösterildi. Tablo 4.5'e göre hepsidin-25 ve ANG düzeyleri ile yaş ve laboratuvar parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.5. Hastaların hepsidin-25 ve anjiogenin düzeylerinin yaş ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisi

	Hasta Grubu (n=50)			
	Hepsidin-25 (abs)		Anjiogenin (abs)	
	r	p*	r	p*
Yaş (/ay)	-0,140	0,332	0,052	0,721
Lökosit (/mm ³)	0,206	0,151	0,106	0,463
Nötrofil (/mm ³)	0,016	0,913	0,044	0,760
Lenfosit (/mm ³)	0,190	0,187	0,051	0,725
Hemoglobin (g/dL)	0,034	0,814	0,189	0,190
Platelet (/mm ³)	0,118	0,415	0,025	0,861
Eritrosit sedimentasyon hızı (mm/h)	0,032	0,824	-0,083	0,567
C-reaktif protein (g/dL)	-0,063	0,665	0,055	0,703
Aspartat aminotransferaz (U/L)	0,153	0,290	0,039	0,790
Alanin aminotransferaz (U/L)	0,092	0,523	0,194	0,177

*Spearman korelasyon testi

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundan, komplikasyonu olanların (nörobruselloz, epididimoorşit ve sakroileit) hepsidin-25 değeri ortancası 0,12 (0,10-0,21), komplikasyonu olmayanların hepsidin-25 değeri ortancası 0,11 (0,10-0,15) idi. Komplikasyon olan ve olmayanlarda hepsidin-25 değerleri benzerdi ($p=0,618$). ANG değer ortancası ise komplikasyon olanlarda 0,24 (0,23-0,50), komplikasyon olmayanlarda 0,24 (0,21-0,34) olarak belirlendi. Komplikasyon olan ve olmayanlar arasından ANG düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu ($p=0,681$). Hastalarda komplikasyon varlığı, komplikasyon türleri ve relaps varlığına göre hepsidin-25 ve ANG değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4.6'da gösterildi.

Tablo 4.6. Hastalarda komplikasyon varlığı, komplikasyon türleri ve relaps varlığına göre hepsidin-25 ve angiogenin değerlerinin karşılaştırılması

	Hasta ve Kontrol Grubu (n=90)				
	n	Hepsidin-25 (abs) Ortanca (1-3. Çeyrek)	p*	Angiogenin (abs) Ortanca (1-3. Çeyrek)	p*
Komplikasyon					
Var	4	0,12 (0,10-0,21)	0,618	0,24 (0,23-0,50)	0,681
Yok	86	0,11 (0,10-0,15)		0,24 (0,21-0,34)	
Nörobruselloz					
Var	2	0,11 (0,09)	0,577	0,23 (0,22)	0,577
Yok	88	0,11 (0,10-0,15)		0,25 (0,21-0,34)	
Epididimoorşit					
Var	1	0,12	0,822	0,25	0,956
Yok	89	0,11 (0,10-0,15)		0,24 (0,21-0,34)	
Sakroileit					
Var	1	0,24	0,133	0,58	0,111
Yok	89	0,11 (0,10-0,15)		0,24 (0,21-0,33)	
Relaps					
Var	7	0,11 (0,11-0,21)	0,614	0,23 (0,21-0,43)	0,815
Yok	83	0,11 (0,10-0,15)		0,25 (0,22-0,34)	

*Mann Whitney-U testi

5. TARTIŞMA

Bruselloz, brusella cinsi bakterilerin neden olduğu enfekte inek, keçi, koyun, domuz gibi hayvanların idrarı, doğum materyalleri, vücut sıvıları ile temas veya bu hayvanların iyi pişirilmemiş et, süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara bulaşabilen, dünya çapında en sık karşılaşılan zoonotik hastalıklardan biridir (Saddique ve ark. 2019). Yılda yaklaşık 500.000 insan bruselloz vakası rapor edilmiştir; bununla birlikte, gerçek insidansın yılda 5.000.000 ile 12.500.000 vaka olduğu tahmin edilmektedir (Berger 2019). Hastalığın en fazla endemik olduğu yerler Basra körfezi, Akdeniz havzası ülkeleri, Meksika, Hindistan, santral ve güney Amerika'nın bir kısmıdır (Dadar ve ark. 2019).

Bruselloz açısından endemik olan ülkemizde hastalık önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (Gül ve ark. 2014). Türkiye'de brusella seropozitiflik oranı %2-6 arasında değişmektedir (Çakır ve Yıldırım 2018). Vakalar özellikle Doğu, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu illerinde yoğunlaşmaktadır. Ülkemizde bruselloz vakalarının çoğunluğunu *B. melitensis* oluştururken, ikinci sırada *B. abortus* bulunmaktadır. Türkiye'de *B. suis* görülme sıklığı ile ilgili bilgi bulunmamaktadır (Yumuk ve O'Callaghan 2012). Çocuklardaki bruselloz vakalarının çoğunluğunu beş yaşından büyükler oluşturmaktadır. Bu, pastörize edilmemiş süt tüketimi ve hayvan bakımı için çalışma ile yüksek ilişkilidir (Tanir ve ark. 2009). Okur ve arkadaşlarının (2012) 147 brusellozlu çocuk hastada yapmış olduğu retrospektif çalışmada yaş ortalaması 9-12 yıl, Bosilkovski ve arkadaşlarının (2015) 317 çocuk hastada yapmış olduğu çalışmada ortalama yaş 9 yıl saptanmıştır. İsrail'de yapılan 252 vakanın olduğu çalışmada 5-19 yıl arasındaki hasta oranı %77 bulunmuştur (Fruchtman ve ark. 2015). Buzgan ve arkadaşlarının (2010) erişkinleri de içeren 1028 vakalı çalışmasında 3-24 yıl arası hasta oranı %32,5 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da yayınlanmış diğerk çocuk bruselloz vakalarına benzer şekilde yaş ortalaması 8-16 yıl arasındaydı (Giannakopoulos ve ark. 2006, Karadağ-Öncel ve ark. 2011, Soner ve ark. 2016).

Brusellanın insanlarda en sık karşılaşılan bulaşma yolu kontamine et, süt ve süt ürünlerinin sindirim yolu ile alınmasıdır (Willke ve ark. 2008). Enfekte hayvanın doku, kan ve lenfasının veya enfekte laboratuvar materyalinin, bütünlüğü bozulmuş deri, mukoza veya konjonktivaya direkt teması ile bulaşma olabilir (Doğanay ve Alp Meşe 2008). İran'da brusellozlu çocuklarla yapılan bir çalışmada 460 hastanın %43'ünde pastörize edilmemiş süt

ürünleri tüketim öyküsünün olduğu, %81’inde hayvanlarla temasının olduğu bulundu (Khazaei ve ark. 2016). Özdem ve arkadaşlarının (2022) brusellozlu 189 çocuk hastada yaptığı çalışmada %84 oranında çiğ süt veya ürünleri tüketimi, %61 oranında hayvancılıkla uğraş ve %37 oranında ailede bruselloz öyküsü vardı. Ahmetagić ve arkadaşlarının (2015) 246 brusellozlu çocukta yaptığı araştırmada hayvancılıkla uğraş oranı %67, ailede bruselloz öyküsü %58 oranında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda 50 brusellozlu hastanın %90’ında hayvancılıkla uğraş, %50’sinde ailede bruselloz öyküsü mevcuttu. Bu oranlar brusella için endemik olan ülkemizde gerek enfekte hayvanlarla temas, gerekse bunlardan elde edilen süt ve süt ürünlerinin tüketilmesine yönelik önlemlere daha fazla önem verilmesi gerektiğini göstermektedir.

Bruselloz, gıda ya da hayvan maruziyeti olmayan çocuklarda teşhisi oldukça güç olabilen sistemik bir hastalıktır. Brusellozda belirti ve bulgular nonspesifiktir, herhangi bir organ veya sistemi tutabilir. Spesifik olmayan semptomlar akut ya da sinsi bir şekilde kendini gösterebilir. Klinik altta yatan hastalık olup olmamasına, kişinin bağışıklık durumuna ve bakterinin türüne göre değişir (Mantur ve ark. 2007). Klinik görünüm değişken olabilmekle birlikte hastaların çoğunda ateş, artralji/artrit ve hepatosplenomegali üçlüsü görülür. Bazı hastalar nedeni bilinmeyen ateş (NBA) şeklinde başvurabilir. Diğer semptomlar karın ağrısı, halsizlik/yorgunluk, baş ağrısı, döküntü, ishal, gece terlemeleri, kusma, öksürüktür. Çocuklarda diğer sık görülen semptomlar iştahsızlık, kilo alamama ve gelişme geriliğidir (Schutze ve Jacobs 2013). Bizim çalışmamızda da hastaların başvuru şikayetleri sıklıklarına göre 38 hastada (%76) eklem ağrısı, 16 hastada (%32) ateş, dokuz hastada (%18) kilo kaybı, dokuz hastada (%18) baş ağrısı, dört hastada (%8) halsizlik, dört hastada (%8) karın ağrısı, üç hastada (%6) iştahsızlık, bir hastada (%2) kusma, bir hastada (%2) çift görme ve bir hastada (%2) testiste şişlik ve ağrıydı. Hastalarımızın ikisi (%4) ise aile taraması sırasında tespit edildi. Bosilkovski ve arkadaşlarının (2015) 317 vakalık çalışmasında %78 ateş, %72 eklem ağrısı, %64 terleme, %60 halsizlik, %33 baş ağrısı ve %10 kilo kaybı şikayeti vardı. Gündeşlioğlu’nun (2019) 148 çocuk hastada yapmış olduğu çalışmadaki başvuru şikayetleri sıklık sırasında göre %59 ateş, %41 eklem ağrısı, %38 bacak ağrısı, %25 halsizlik, %17 kilo kaybı, %15 terleme, %13 baş ağrısı, %11 karın ağrısı, %1 testis ağrısıydı. Van ilinde yapılan 496 brusellozlu çocuk hastaların başvuru şikayetleri %46 eklem ağrısı, %32 ateş, %17 karın ağrısı, %11 baş ağrısı, %10 halsizlik, %4 bulantı ve kusma, %3 iştahsızlık, %3 öksürük, %2 terleme, %2 baş dönmesi, %1 ishal şeklindeydi (Parlak ve ark. 2015).

Brusellozda en sık görülen komplikasyon kas-iskelet sistemi tutulumudur. Nörobruselloz ile birlikte brusellozun asıl morbiditesini oluşturmaktadır. Osteoartikuler tutulumun görülme sıklığı %10-80 olarak rapor edilmiştir (Young 2005, Buzgan ve ark. 2010). Diğer komplikasyonları gastrointestinal sistem tutulumu, genitoüriner sistem tutulumu, hematopoetik tutulum, kardiyovasküler tutulum ve deri tutulumudur (Willke ve ark. 2008). Kemik ve eklem lezyonları olarak artrit, spondilit, osteomyelit, bursit ve tenosinovit vakaları bildirilmiştir. Sakroileit ve spondilit en sık bildirilen komplikasyonlardır (Long ve ark. 2022). Brusella artritinde eklem yangısı belirtileri olmaksızın eklem ağrılarında sıklıkla şikayet edilir. Çocuklarda kalça eklemi brusella yerleşimi sonucu yıkıma uğrayabilir. Brusella kalça artritini bulunan çocuklarda, genellikle hareketlerin ağrılı kısıtlanması ve topallama ile kendini gösterir (Tanir ve ark. 2009). Bosna-Hersek'te 2000-2013 yılları arasında brusellozlu çocuklarda yapılan çalışmada %26 hastada komplikasyon geliştiği görülmüş, bunlar %6 monoartrit, %6,5 poliartrit, %3,2 sinovit, %0,8 spondilit, %3,2 sakroileit, %1,2 spondilodiskit, %0,4 endokardit, %3,6 pnömoni, %2 epididimoorşit ve %2 dalak absesidir (Ahmetagić ve ark. 2015). Bizim çalışmamızda hastaların en sık başvuru nedeni %76 oranında eklem ağrısıydı. Bunların %2 si sakroileit tablosuyla komplike olmuştu. Hastalarımızda görülen diğer komplikasyonlar %4 nörobruselloz ve %2 epididimoorşit idi.

Çocukluk çağı brusellozunda hastaların yaşına göre kotrimoksazol ve rifampisin veya doksisisiklin ve rifampisin ile altı haftalık kombinasyon tedavisi, düşük nüks oranları ile etkili bir tedavidir (Pickering ve ark. 2009, Roushan ve Amiri 2013). Sekiz yaşından büyük hastalarda iki-üç hafta streptomisin veya yedi gün gentamisin ile 45 gün doksisisiklin bruselloz tedavisinde en iyi tedavi rejimidir (Solera ve ark. 2004, Roushan ve ark. 2006). Komplike hastalardan bazılarında (örn. sakroileit) standart altı haftalık tedavi uygulanabilir. Spondilit ve osteomyelitte tedavi süresi sekiz haftaya veya daha uzun bir süreye çıkarılabilir. Endokarditin tedavisi tartışmalıdır; sekiz hafta boyunca doksisisiklin + aminoglikozit + rifampin/kotrimoksazol verilebilir; cerrahi yöntem tedaviye dahil edilecekse antibiyotiklerin ameliyattan sonra birkaç hafta daha devam edilmesi önerilmektedir. Nörobrusellozda altı-sekiz hafta boyunca doksisisiklin, streptomisin ve rifampin veya kotrimoksazol şeması uygulanabilir (Corbel 2006, Franco ve ark. 2007). Doksisisiklin en faydalı antimikrobiyal ajandır ve bir aminoglikozid ile birleştirildiğinde en az relaps ile ilişkilidir (Gordon ve Richard 2016). Çalışmamızda da hastaların yaşlarına uygun olarak antibiyotik seçimi yapılmış olup %80 oranında doksisisiklin + rifampisin veya kotrimoksazol +

rifampisin, %20 oranında doksisisiklin + rifampisin + gentamisin tedavisi verilmiştir. Nörobruselloz hastalarında sekiz yaş üzeri için, ilk dört-altı hafta seftriakson (100 mg/kg/gün iki dozda; maksimum 4 gr/gün) ile birlikte her ikisi de en az 12 hafta olmak üzere rifampisin ve doksisisiklin, sekiz yaş altında doksisisiklin yerine kotrimoksazol en az 12 hafta olmak üzere kullanılması da önerilmektedir (Gul ve ark. 2008, Erdem ve ark. 2012). Bizim çalışmamızda da iki nörobruselloz hastamıza bu üçlü antibiyotik tedavisinin yanında seftriakson tedavisi ilave edilmiştir. Tedavi süresi %76 hastamızda altı hafta, %18 hastamızda sekiz hafta ve %6 hastamız da üç aya kadar tamamlanmıştır. Üç aya tamamlanan hastalarımız iki nörobruselloz ve bir sakroileti olan vakalardı.

Laboratuvar tanısında altın standart yöntem mikroorganizmanın izolasyonudur. Kan, BOS, kemik iliği, eklem sıvısı veya apse aspiratı, karaciğer, dalak ve lenf nodu biyopsileri gibi klinik örneklerin kültürleri yapılabilir ve bakterinin izolasyonu amaçlanır. Kan kültürünün duyarlılığı; kanın alındığı evreye (akut veya kronik hastalık), kullanılan besiyeri yöntemine (otomatik veya konvansiyonel kan kültürü sistemi vb.), örnek almadan önce antibiyotik kullanım durumuna göre değişmekte olup, pozitiflik oranı %15-70 arasındadır. Brusellanın retikuloendotelial sistemde görece olarak daha yüksek konsantrasyonda olması sebebiyle kemik iliği kültürlerinden izolasyon oranı kan kültürlerine göre %15-20 daha yüksek olabilir. Ancak akut bruselloz vakalarının %5-40'ında relaps geliştiğinden bu olgularda her zaman kültür pozitifliği görülmeyebilir (Adiloğlu ve ark 2015, İrvem ve ark. 2015). Kültürde üreme olmaması tanıyı dışlamaz. Akut enfeksiyonda kültürle izolasyon oranı %40-90 arasında iken komplike vakalarda, kronik ya da fokal enfeksiyonda bu oran %5-20 kadar düşüktür (Murray ve ark. 2007, Araj 2010, Christopher 2010). Özdem ve arkadaşlarının (2022) yapmış olduğu çalışmada 189 brusellozlu çocuk hastanın %59,8'inin kan kültüründe üreme saptanmazken %40,2'sinin kan kültüründe üreme görülmüştür. Ahmetagić ve arkadaşlarının (2015) Bosna-Hersek'te yapmış olduğu brusellozlu çocuk hastaların da %25,6'inde kan kültüründe üreme tespit edildi. Çalışmamızda 50 bruselloz hastasının 32'sinden kan kültürü alındığı ve bunların %31,3'ünde üreme olduğu görüldü.

Konak savunma peptitleri olarak da bilinen AMP'ler; bakterilerden memelilere kadar tüm organizmalar tarafından üretilen ve geniş bir patojen yelpazesine karşı birincil savunma görevi gören kısa aminoasit dizileridir (Raheem ve Straus 2019). AMP'ler, memelilerde nötrofillerin granülleri içerisinde ve deri mukozal yüzeylerini örten epitel hücrelerinin salgılarında bulunur (Lai ve Gallo 2009). AMP'lerde net yük, negatif yüklü hücre

membranları ile etkileşim için ana faktördür. Net yük değiştirilerek konakçı hücre üzerinde herhangi bir antimikrobiyal veya hemolitik etkiye sahip olmadan direkt olarak mikroorganizmalar hedeflenebilir (Bahar ve Ren 2013).

AMP'ler, antimikrobiyal etkilerinin yanında birçok biyolojik proseste sinyalleme, immün modülatör, mitojen gibi multifonksiyonel olarak yer alabilmektedirler (Akar ve Çetin Uyanıkgil 2020). Anjiyogenez, inflamatuvar tepkiler, hücre sinyalleşmesi ve yara iyileşmesi gibi hücre içi süreçlerde, yeni ilaçların araştırılmasında ve geliştirilmesinde yeni adaylar olarak görülmektedir (Zaiou 2007, Kim ve ark. 2015). Bir konağın antimikrobiyal peptitlerinin öldürücü etkilerine karşı koyma yeteneği, patojenlerin virülansı ile ilgili çok önemli bir faktördür. Bir çalışmada, AMP'lere karşı direncin, brusellanın in vivo ortamda hayatta kalmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Wang ve ark. 2016). Arayan ve arkadaşlarının (2018) farelerde yapmış olduğu *Helicobacter pylori* ribozomal protein L1'in analogu olan modifiye edilmiş bir antimikrobiyal peptit olan HPA3P'nin immunmodülatör etkisiyle *B. abortus* enfeksiyonunu kısıtladığı gösterilmiştir. Sağmak Tartar ve arkadaşlarının (2019) yapmış olduğu bir çalışmada hücre içi *M. tuberculosis*'e karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren dermcidin isimli anyonik AMP'nin serum düzeyinin brusellozlu hastalarda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak daha düşük bulunduğu saptanmıştır. Özellikle kronik hastalarda ve tedaviye yetersiz yanıt veren hastalarda dermcidin peptitinin yeni bir tedavi alternatifi olabileceği veya insan aşılama çalışmalarına rehberlik edebileceği öne sürülmüştür.

AMP'ler, geleneksel antibiyotik tedavisinin başarısız olduğu bulaşıcı hastalıkların tedavisi için de alternatif bir strateji sunar. İnsan serumu, endojen AMP'ler için zengin bir kaynaktır. Noschka ve arkadaşlarının (2021) yapmış olduğu bir çalışmada antimikrobiyal aktiviteye sahip ANG'nin biyolojik aktif türevi olan Angie1 üretilmiş olup, bu peptitin hücre dışı ve hücre içi *M. tuberculosis*'in ve hızlı büyüyen patojenler olan *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*'nin büyümesini sınırladığı tespit edilmiştir. Çeşitli in vitro çalışmalar, hepsidini *S. pneumoniae*, *M. tuberculosis*, *S. typhimurium* gibi birkaç mikrobiyal türe karşı antimikrobiyal özelliklere sahip bir peptit olarak tanımlamıştır. Hepsidinin indüklenmesi nedeniyle plazma demir içeriğindeki azalmanın, çeşitli enfeksiyonlara karşı ana etki şekli olduğu varsayılmaktadır (Rauf ve ark. 2020).

Brusellanın temel olarak etkilediği sistemlerden olan RES organı karaciğerde üretilen AMP'lerden ikisi hepsidin 25 ve ANG'dir (Wang 2014). Bizim çalışmamızda da bu iki

antibimikrobiyal peptitin bruselloz patogenezindeki etkisi hakkında bilgi elde edilmek istenmiştir. Sağlıklı ve brusellozlu çocukların serumlarındaki hepsidin 25 ve ANG düzeyleri arasındaki fark araştırılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının hepsidin-25 düzeyleri ($p=0,295$) ve ANG düzeyleri ($p=0,742$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Ayrıca brusellozlu hastalarda ölçülen hepsidin-25 ve ANG değerlerinin yaş ve bakılan diğer laboratuvar parametreleri ile ilişkisine bakıldı. Hepsidin-25 ve ANG düzeyleri ile yaş ve laboratuvar parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi ($p>0,05$).

Çalışmamızdaki komplikasyonu olan (nörobruselloz, epididimoorşit ve sakroileit) dört hasta ile diğer hastalar arasındaki hepsidin-25 ($p=0,618$) ve ANG ($p=0,681$) düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu. Aynı şekilde relaps olan yedi hasta ile diğer hastaların hepsidin-25 ($p=0,614$) ve ANG ($p=0,815$) düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı. Bildiğimiz kadarıyla literatürde hepsidin-25 ve ANG'nin bruselloz patogenezinde rolü ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu konuda literatürdeki ilk çalışmadır. Çalışmamızda bu iki antimikrobiyal peptitin düzeylerinin brusellozlu ve sağlıklı çocuklar arasında anlamlı bir farkının olmadığı görülmüştür. Bruselloz patogenezinin daha iyi anlaşılmasına yönelik daha fazla hasta sayısının ve antimikrobiyal peptit serum düzeylerinin dahil edildiği daha kapsamlı prospektif çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

6. SONUÇLAR

1- Çalışmaya 2021-2022 yılları arasında bruselloz tanısı konulan 50 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması $146,56 \pm 53,36$ aydı.

2- Hastaların en sık başvuru nedenleri eklem ağrısı, ateş, kilo kaybı ve baş ağrısıydı

3- Elli bruselloz hastasının %50'sinde ailede brusella enfeksiyonu öyküsü vardı. Hastaların %90'ının ailesi hayvancılıkla uğraşmaktaydı.

4- Kan kültürü alınan 32 hastanın %31,3'ünde üreme olduğu, %68,8'inde üreme olmadığı belirlendi.

5- Hastalarda görülen komplikasyon oranları %4 nörobruselloz, %2 epididimoorşit, %2 sakroileit şeklindeydi. %14 relaps geliştiği görüldü.

6- Hastaların %80'ine ikili, %20'sine üçlü tedavi verildi. Üçlü tedavi verilen hastalarımız relaps, nörobruselloz ve sakroileit tanılı hastalarımızdı. Hastaların tedavi süreleri %76'sında 6 hafta, %18'inde 8 hafta, %6'sında 3 ay sürdü. Üç aya kadar tedavi verilen hastalarımız nörobruselloz ve sakroileit vakalarımızdı.

7- Hasta ve kontrol gruplarının serum hepsidin-25 düzeyleri benzer tespit edildi ($p=0,295$).

8- Hasta ile kontrol grubu arasında serum ANG düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,742$).

9- Hepsidin-25 ve ANG düzeyleri ile hasta grubunun yaş ve laboratuvar parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi ($p>0,05$).

10- Komplikasyonu olan ve diğer hastalarda hepsidin-25 ve ANG değerleri benzerdi (hepsidin-25 için $p=0,618$, ANG için $p=0,681$).

11- Relaps ile başvuran hastalar ile diğer hastaların hepsidin-25 ($p=0,614$) ve ANG ($p=0,815$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

7. KAYNAKLAR

- Al-Tawfiq JA, Memish ZA. Antibiotic susceptibility and treatment of brucellosis. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2013;8(1):51-4.
- Abtin A, Eckhart L, Mildner M, Ghannadan M, Harder J, Schröder JM et al. Degradation by stratum corneum proteases prevents endogenous RNase inhibitor from blocking antimicrobial activities of RNase 5 and RNase 7. *J Invest Dermatol.* 2009;129(9):2193-201.
- áde la Torre B, Ramesh S, Cherkupally P, Govender T, Kruger H, Albericio F. Highly chemoselective ligation of thiol-and amino-peptides on a bromomaleimide core. *Chem Commun.* 2016; 52(11): 2334-7.
- Adiloğlu AK, Akbaş E, Albayrak N, Altaş AB, Akarsu GA, Atabek E et al. (updated 2015 Jan 01; cited 2022 Dec 05) TC Sağlık Bakanlığı Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Brusellozun Mikrobiyolojik Tanısı. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/bakteriyoloji/UMS-B-MT-19-Bruselloz.pdf>
- Ahmadinejad Z, Abdollahi A, Ziaee V, Domiraei Z, Najafizadeh SR, Jafari S et al. Prevalence of positive autoimmune biomarkers in the brucellosis patients. *Clin Rheumatol.* 2016;35(10):2573-8.
- Ahmed W, Zheng K, Liu Z. Establishment of chronic infection: Brucella's stealth strategy. *Front Cell Infect Microbiol.* 2016;6:30.
- Ahmetagić S, Porobić-Jahić H, Koluder N, Čalkić L, Mehanić S, Hadžić E et al. Brucellosis in children in Bosnia and Herzegovina in the period 2000-2013. *Med Glas.* 2015;12(2)177-82.
- Ahoub H. Brucella infective endocarditis: a report of four successfully treated patients. *Clin Microbiol Infect.* 2001;7(7):382-5.
- Akar S, Çetin Uyanıkgil E. Antimikrobiyal peptitlerin proinflamatuvar yanıtta ki potansiyelleri. *Med J SDU.* 2020;27(1)145-153.

- Akdur R, Aktaş F, Altıntaş K, Aycan S, Balık İ, Beyazova U et al. Bulaşıcı hastalıkların ihbarı ve bildirim sistemi standart tanı, sürveyans ve laboratuvar rehberi. 2004. p. 49-50.
- Akıncı E, Bodur H, Çevik MA, Erbay A, Eren SS, Zireman I et al. A complication of brucellosis: epididymoorchitis. *Int J Infect Dis.* 2006;10(2):171-7.
- Al Dahouk S, Nöckler K. Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011;9(7):833-45.
- 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.
- 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.
- Alışkan H. Kültür ve serolojik yöntemlerin insan brusellozu tanısındaki değeri. *Mikrobiyol Bül.* 2008;42(1):185-95.
- AlMutairi N, AlRubaie K, Asharari KS, Albalawi H. Unusual bilateral panuveitis uveitis with brucellosis. *Saudi J Ophthalmol.* 2021;35(2):143-145.
- Araj G. Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36:12-7.
- Arayan LT, Kim HB, Reyes AWB, Huy NTX, Hong IH, Lee K et al. The immunomodulatory effect of antimicrobial peptide HPA3P restricts *Brucella abortus* 544 infection in BALB/c mice. *Vet Microbiol.* 2018; 225:17-24.
- Arda M. Temel Mikrobiyoloji. 4th ed. Ankara: Medisan; 2011.

- Aydın N. Brusella infeksiyonları. In: Aydın N ve Paracıkoğlu J. editors. Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). Ankara: İlke Emek Yayınları; 2006. p. 145-63.
- Bahar AA, Ren D. Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals*. 2013;6(12):1543-75.
- Bektaş MS, Mesut O, Aktar F, Temel H, Başaranoğlu M. Akut Brusellozlu Bir Olguda Pansitopeni. *Turkish J Pediatr Dis*. 2013;7(3):145-6.
- Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 9th ed. Amsterdam: Elsevier; 2019.
- Berger S. Brucellosis. Global Status. GIDEON Informatics. Inc, Los Angeles. 2019.
- Bilen Ş, Güneş HN, Saka M, Ak F. Four different clinical manifestations of neurobrucellosis. *Eur J Intern Med*. 2008;19(8):e75-7.
- Budnik I, Fuchs I, Shelef I, Krymko H, Greenberg D. Unusual presentations of pediatric neurobrucellosis. *Am J Trop Med Hyg*. 2012;86(2):258-60.
- Bosilkovski M, Krteva L, Caparoska S, Labacevski N, Petrovski M. Childhood brucellosis: Review of 317 cases. *Asian Pac J Trop Med*. 2015;8(12):1027-32.
- Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Baran AI, Karsen H, Evirgen O et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis*. 2010;14(6):e469-78.
- Casanova A, Ariza J, Rubio M, Masuet C, Díaz R. BrucellaCapt versus classical tests in the serological diagnosis and management of human brucellosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16(6):844-51.
- Casao M, Navarro E, Solera J. Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis. *J Infect*. 2004;49(2):102-8.
- Cesur S, Çapar Y, Demir P, Yüksel Ö, Birengel S, Sözen TH et al. Brusellozlu 104 olgunun retrospektif olarak incelenmesi. *Turkish Journal of Infection*. 2004;18(2):169-73.

- Ceylan K, Karahocagil MK, Soyoral Y, Sayarliolu H, Karsen H, Dogan E et al. Renal involvement in Brucella infection. *Urology*. 2009;73(6):1179-83.
- Chain PS, Comerci DJ, Tolmasky ME, Larimer FW, Malfatti SA, Vergez LM et al. Whole-genome analyses of speciation events in pathogenic Brucellae. *Infect Immun*. 2005;73(12):8353-61.
- Chen R-C, Lan CY. Human antimicrobial peptide hepcidin 25-induced apoptosis in *Candida albicans*. *Microorganisms*. 2020;8(4):585.
- Choudhary N, Sharma N, Dhayni R, Singh A. Safe laboratory practices. *NISCAIR-CSIR, India* 2012;20(2):225-32.
- Christopher S, Umapathy BL, Ravikumar KL. Brucellosis: review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis. *J Lab Physicians*. 2010;2(02):55-60.
- Cocchi F, DeVico AL, Lu W, Popovic M, Latinovic O, Sajadi MM et al. Soluble factors from T cells inhibiting X4 strains of HIV are a mixture of β chemokines and RNases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(14):5411-6.
- Cohen J, Powderley WG. *Infectious diseases*. 2nd ed. Mosby: Edinburgh; 2004.
- Colomba C, Siracusa L, Rubino R et al. A case of Brucella endocarditis in association with subclavian artery thrombosis. *Case Rep Infect Dis*. 2012; 2012:581489.
- Corbel MJ, Alton GG, Banai M, Díaz R, Dranovskaia BA, Elberg SS et al. *Brucellosis in Humans and Animals*; WHO Press: Geneva, Switzerland, 2006.
-  akır Ő, Yildirim M. Türkiye’de Küçük Ruminantlarda Brusellozun Kontrol ve Eradikasyon Stratejileri. *Dicle  niv Vet Fak Derg*. 2018;11(2):98-104.
-  elebi S, Hacimustafaoğlu M, DemirtaŐ F, Salı E, G l  ,  zel M.  ocukluk  ağında bruselloz. *J Pediatr Inf*. 2011;5:59-62.
-  elebi S, Hacimustafaoğlu M. Brusellozis. *G ncel Pediatri*. 2004;2(1):39-43.

Çelen MK. Komplike bruselloz. *Ankem Derg* 2006;20:214-8.

Dadar M, Shahali Y, Whatmore AM. Human brucellosis caused by raw dairy products: A review on the occurrence, major risk factors and prevention. *Int J Food Microbiol.* 2019;292:39-47.

Dağlar DE, Baysan BÖ. İnsanda brusella enfeksiyonlarının tanısında kullanılan tanı yöntemleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2014;3(2):46-8.

de Bagues Maria-Pilar J, 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.

de Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, Rossetti CA, Adams LG. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*–Host Interactions. *Am J Pathol.* 2015;185(6):1505-17.

Dean AS, Crump L, Greter H, Hattendorf J, Schelling E, Zinsstag J. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(12):e1929.

Demiroğlu YZ, Turunç T, Karaca S, Arlier Z, Aliskan H, Colakoglu S. Bruselloza sinir sistemi tutulumu; klinik sınıflama, tedavi ve sonuçlar. *Mikrobiyol Bul.* 2011;45(3):401-10.

Díaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyon I. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(4):e950.

Diaz R, Moriyón I. Laboratory techniques in the diagnosis of human brucellosis. In: Young EJ, Corbel MJ, editors. *Brucellosis.* 1989. pp.73–83.

Dizer U, Beker CM, Çiçek H, Güner ÖR, Zeren İ, Pahsa A. Bruselloz tanı yöntemlerinin etkinliğinin araştırılması. *Uludağ Üniv Tıp Fak Derg.* 2005;31(2):87-93.

- Doganay GD, Doganay M. Brucella as a potential agent of bioterrorism. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2013;8(1):27-33.
- Doganay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. *Int J Infect Dis.* 2003;7(3):173-82.
- Doğanay M, Akıncı E, Aksakal N, Baykam N, Eren Ş, Güner R et al. TC Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı, Zoonotik Hastalıklar Hizmet İçi Eğitim Modülü, Ankara. 2011.
- Doğanay M, Alp Meşe E. Bruselloz. In Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.* İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2008. p. 897-909.
- Ducrotoy MJ, Muñoz PM, Conde-Álvarez R, Blasco JM, Moriyón I. A systematic review of current immunological tests for the diagnosis of cattle brucellosis. *Prev Vet Med.* 2018;151:57-72.
- El-Mohammady H, Shaheen HI, Klena JD, Nakhla IA, Weiner MA, Armstrong AW. Specific IgA antibodies in the diagnosis of acute brucellosis. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6(02):192-200.
- Erdem H, Ulu-Kilic A, Kilic S, Karahocagil M, Shehata G, Eren-Tülek N et al. Efficacy and tolerability of antibiotic combinations in neurobrucellosis: results of the Istanbul study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(3):1523-8.
- Erdenliğ S. Türkiye'de Brucella kökenleri. *Klimik Dergisi.* 2003;16:214-16
- Eren S, Bayam G, Ergönül Ö, Celikbaş A, Pazvantoğlu O, Baykam N et al. Cognitive and emotional changes in neurobrucellosis. *J Infect.* 2006;53(3):184-9.
- Ertek M, Yazgi H, Kadanali A, Özden K, Taşyaran MA. Complications of Brucella infection among adults: an 18-year retrospective evaluation. *Turk J Med Sci.* 2006;36(6):377-81.
- Ertek M. Bruselloz: Klinik formları ve özellikleri. *Ankem Derg.* 2003;17(3):333-5.

- Fedakar A, Cakalagaoglu C, Konukoglu O, Yanartas M, Göçer S, Zeybek R et al. Treatment protocol and relapses of brucella endocarditis; cotrimoxazole in combination with the treatment of brucella endocarditis. *Trop Doct.* 2011;41(4):227-9.
- Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckert A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007;57(11):2688-93.
- Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(12):775-86.
- Fruchtman Y, Segev RW, Golan AA, Dalem Y, Tailakh MA, Novak M et al. Epidemiological, diagnostic, clinical, and therapeutic aspects of *Brucella* bacteremia in children in southern Israel: A 7-year retrospective study (2005–2011). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015;15(3):195-201.
- Garcia HH, Jimenez JA, Escalante H. Sestodlar. In: Murray PR, Baron EJ, Landry ML, Jorgensen JH, Pfaller MA, editors. *Klinik Mikrobiyoloji.* 9th ed. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009. p. 2166-75.
- Garcia LS. *Clinical microbiology procedures handbook*, 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 2010.
- Geyik M. Brusellozun klinik formları. *Klinik Dergisi.* 30 Mart-3 Nisan İstanbul Kongresi; 2003:209-210.
- Giannakopoulos I, Nikolakopoulou NM, Eliopoulou M, Ellina A, Kolonitsiou F, Papanastasiou DA. Presentation of childhood brucellosis in Western Greece. *Jpn J Infect Dis.* 2006;59(3):160-3.
- Głowacka P, Żakowska D, Naylor K, Niemcewicz M, Bielawska-Drozd A. Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. *Pol J Microbiol.* 2018;67(2):151-61.

- Gordon ES and Richard FJ. Brucella. In: Kliegman RM, Stanton BF, Geme JW, Schor NF, Behrman RE. Nelson textbook of pediatrics. 20th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 1419-21.
- Guaní-Guerra E, Santos-Mendoza T, Lugo-Reyes SO, Terán LM. Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease. Clin Immunol. 2010;135(1):1-11.
- Gul HC, Erdem H, Bek S. Overview of neurobrucellosis: a pooled analysis of 187 cases. Int J Infect Dis. 2009;13(6):e339-43.
- Gul HC, Erdem H, Gorenek L, Ozdag MF, Kalpakci Y, Avci IY et al. Management of neurobrucellosis: an assessment of 11 cases. Intern Med. 2008;47(11):995-1001.
- Gül S, Satılmış ÖK, Ozturk B, Gökçe Mİ, Kuscı F. Seroprevalence of brucellosis among children in the Middle Anatolia Region of Turkey. J Health Popul Nutr. 2014;32(4):577-9.
- Hadjinikolaou L, Triposkiadis F, Zairis M, Chlapoutakis E, Spyrou P. Successful management of Brucella mellitensis endocarditis with combined medical and surgical approach. Eur J Cardiothorac Surg. 2001;19(6):806-10.
- Hajı AAM, Rasoulnezhad M, Jafari S, Hasibi M, Soudbakhsh A. Clinical and laboratory findings in neurobrucellosis: review of 31 cases. Arch Iran Med. 2008;11(1):21-5.
- Harman M, Unal Ö, Onbaşı K, Kıymaz N, Arslan H. Brucellar spondylodiscitis: MRI diagnosis. Clin Imaging. 2001;25(6):421-7.
- Harrison ER, Posada R. Brucellosis. Pediatr Rev. 2018;39(4):222-4.
- He Y. Analyses of Brucella pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics. Front Cell Infect Microbiol. 2012;2:2.
- Hosseini SM, Farmany A, Abbasalipourkabir R, Asl SS, Nourian A, Arabestani MR. Doxycycline-encapsulated solid lipid nanoparticles for the enhanced antibacterial

- potential to treat the chronic brucellosis and preventing its relapse: In vivo study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2019;18(1):1-10.
- Hördt A, López MG, Meier-Kolthoff JP, Schleuning M, Weinhold L-M, Tindall BJ et al. Analysis of 1,000+ type-strain genomes substantially improves taxonomic classification of Alphaproteobacteria. *Front Microbiol.* 2020;11:468.
- İrvem A, Yücel FM, Aksaray S, Bor E. Brusellozun serolojik tanısında yeni ve hızlı bir yöntem olan brucella coombs jel testi ile diğer yöntemlerin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2015;49(2):181-7.
- Jaramillo-de la Torre JJ, Bohinski RJ, Kuntz C. Vertebral osteomyelitis. *Neurosurg Clin N Am.* 2006;17(3):339-51.
- Jiang X-F, Liu Z-F, Lin A-F, Xiang L-X, Shao J. Coordination of bactericidal and iron regulatory functions of hepcidin in innate antimicrobial immunity in a zebrafish model. *Sci Rep.* 2017;7(1):1-15.
- Jordan JB, Poppe L, Haniu M, Arvedson T, Syed R, Li V et al. Hepcidin revisited, disulfide connectivity, dynamics, and structure. *J Biol Chem.* 2009;284(36):24155-67.
- Kang X, Dong F, Shi C, Liu S, Sun J, Chen J et al. DRAMP 2.0, an updated data repository of antimicrobial peptides. *Sci Data.* 2019;6(1):1-10.
- Karadağ-Öncel E, Özsürekcı Y, Cengiz AB, Kara A, Ceyhan M, Çelik M et al. Çocukluk çağında bruselloz: Hacettepe Üniversitesi deneyimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2011;54:135-41.
- Kara SS, Volkan B, Cayir A. Transient dyslipidemia in childhood brucellosis. *J Clin Anal Med.* 2019;10(2):173-6.
- Kara S.S. Çocukluk Çağında Bruselloz. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi.* 2016;8(4):23-6.
- Kaya O, Akcam F, Avsar K, Tıgılı A, Yaylı G. Brucellosis: evaluation of clinical and laboratory findings of 75 cases. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2006;26(6):623-9.

- Khazaei S, Shojaeian M, Zamani R, Mansori K, Mohammadian- Hafshejani A, Rezaeian- Langroodi R et al. Epidemiology and risk factors of childhood brucellosis in West of Iran. *Int J Pediatr.* 2016;4(7):2099-104.
- Kim H, Kim HR, Kim N-R, Jeong BJ, Lee JS, Jang S et al. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* lysates attenuates the development of atopic dermatitis lesions in mouse models. *J Microbiol.* 2015;53(1):47-52.
- Kılıç S. Bruselloz: Mikrobiyolojik Tanı. *Türkiye Klinikleri J Infect Dis-Special Topics* 2012;5(1):46-66
- Kış TT, Mehmet K, Şükran K. 111 Bruselloz olgusunun etyoloji, klinik seyir ve komplikasyonlarının değerlendirilmesi; bir retrospektif çalışma. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg.* 2020;13(3):339-47.
- Kleegman R, Behrman R, Jenson H, Stanton B. *Nelson Textbooks of Pediatrics*, 18th Elsevier Ed. Philadelphia: W B Saunders Company; 2007.
- Kocagöz T. Türkiye’de mikrobiyoloji alanında bilime dayalı üretim. *ANKEM Derg.* 2014;28:115-9.
- Koçoğlu E, Karabay O, İnce N. Bruselloz için serolojik taramanın değeri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2008;38(1):23-6.
- Korkmaz P, Kızdır M, Namdar ND, Özmen A, Uyar C, Değer AN. Case of brucellosis with recurrent attacks of vasculitis. *Case Rep Infect Dis.* 2016;2016:5740589.
- Korkmaz S, Candan F, Kılıçlı M, Bakıcı M. Brusellozlu olgularda tanısal yaklaşım: olgu sunumu. *Cumhuriyet Üniv Tıp Fak Derg.* 2005;27(2):83-7.
- Koruk ST, Erdem H, Koruk I, Erbay A, Tezer-Tekce Y, Erbay AR et al. Management of *Brucella* endocarditis: results of the Gulhane study. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;40(2):145-50.

- Lai Y, Gallo RL. AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends Immunol.* 2009;30(3):131-41.
- Lazcano IH, Méndez LS, Santos JS. Mixed cryoglobulinemia with renal failure, cutaneous vasculitis and peritonitis due to *Brucella melitensis*. *J Infect.* 2005;51(5):e257-9.
- Lehrer RI. Primate defensins. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(9):727-38.
- Long SS, Pickering LK, Prober CG. Principles and practice of pediatric infectious diseases. 2nd ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 2003.
- Long SS, Prober CG, Fischer M, Kimberlin DW. Principles and practice of pediatric infectious diseases. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; e-book 2022.
- Mandel GL, Bennet JE, Bennett DR. Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010. p. 3495–522.
- Manivannan K, Mahmoud SM, Ramasamy M, Shehata AAE, Ahmed H, Solaimuthu C et al. Molecular detection of brucellosis in dromedary camels of Qatar by real-time PCR technique. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2021;78:101690.
- Mantur B, Amarnath S, Shinde R. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. *Indian J Med Microbiol.* 2007;25(3):188-202.
- Marrodan T, Nenova-Poliakova R, 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.* 2001;50(8):663-6.
- Martínez-Chamorro E, Muñoz A, Esparza J, Muñoz MaJ, Giangaspro E. Focal cerebral involvement by neurobrucellosis: pathological and MRI findings. *Eur J Radiol.* 2002;43(1):28-30.
- McDonald W, Jamaludin R, Mackereth G, Hansen M, Humphrey S, Short P et al. Characterization of a *Brucella* sp. strain as a marine-mammal type despite isolation

from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand. *J Clin Microbiol.* 2006;44(12):4363-70.

McGill PE. Geographically specific infections and arthritis, including rheumatic syndromes associated with certain fungi and parasites, *Brucella* species and *Mycobacterium leprae*. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2003;17(2):289-307.

Meltzer E, Sidi Y, Smolen G, Banai M, Bardenstein S, Schwartz E. Sexually transmitted brucellosis in humans. *Clin Infect Dis.* 2010;51(2):e12-5.

Mete B, Kurt C, Yilmaz MH, Ertan G, Ozaras R, Mert A et al. Vertebral osteomyelitis: eight years' experience of 100 cases. *Rheumatol Int.* 2012;32(11):3591-7.

Mirnejad R, Jazi FM, Mostafaei S, Sedighi M. Epidemiology of brucellosis in Iran: A comprehensive systematic review and meta-analysis study. *Microb Pathog.* 2017;109:239-47.

Mirza B, Kanawi HM, Alkhatib T, Bukhari AF, Zawawi F. Neurobrucellosis Complicated by Sensorineural Hearing Loss: A Case Report. *Cureus.* 2022;14(9):e29482.

Madkour MM. Bruselloz: Genel Bakış. *Bruselloz.* Ankara: Nobel Kitabevi, 2008:1-20.

Mohammadi Z, Dehghani A, Ghanbari HO, Akhlaghi MR, Nasrollahi K, Salam H. Ocular manifestations in a child with systemic brucellosis. *J Res Med Sci.* 2014;19(7):677-9.

Murray P, Baron E, Jorgensen J, Pfaller M, Tenover JC, Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology.* Washington, DC: ASM Press; 2007.

Nielsen K, Yu WL. Serological diagnosis of brucellosis. *Prilozi.* 2010;31(1):65-89.

Nielsen K. Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet Microbiol.* 2002;90(1-4):447-59.

Noschka R, Gerbl F, Löffler F, Kubis J, Rodríguez AA, Mayer D et al. Unbiased identification of angiogenin as an endogenous antimicrobial protein with activity against virulent *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Microbiol.* 2021;11:618278.

- Okur M, Erbey F, Bektaş MS, Kaya A, Doğan M, Acar MN et al. Retrospective clinical and laboratory evaluation of children with brucellosis. *Pediatr Int.* 2012;54(2):215-8.
- Oz FN, Tanir G, Simsek G, Kaya NG, Akin I. A case of underdiagnosed *Brucella* meningitis presented with hearing loss. *Inf Dis Clin Pract.* 2013;21(2):136-8.
- Öncel S. *Brucella* enfeksiyonları: Değerlendirme ve yönetim. *KOU Sag Bil Derg.* 2016;2(3):25-30.
- Özdem S, Tanır G, Öz FN, Yalçınkaya R, Gümüşer Cinni R, Savaş Şen Z et al. Bacteremic and Nonbacteremic *Brucellosis* in Children in Turkey. *J Trop Pediatr.* 2022;68(1):fmab114.
- Özgür Gündeşlioğlu Ö. *Brucella* infection in children: evaluation of 148 pediatric patients. *J Clin Anal Med.* 2019;10(1).
- Özlü C. *Brucellosis* From Hematology Perspective. *Dent & Med J.* 2022;4(1):72-8.
- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. *Brucellosis*. *N Engl J Med.* 2005;352(22):2325-36.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hecpidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem.* 2001;276(11):7806-10.
- Parlak M, Akbayram S, Doğan M, Tuncer O, Bayram Y, Ceylan N et al. Clinical manifestations and laboratory findings of 496 children with *brucellosis* in Van, Turkey. *Pediatr Int.* 2015;57(4):586-9.
- Paul S, Peddayelachagiri BV, Nagaraj S, Konduru B, Batra HV. Protective and therapeutic efficacy study of divalent fusion protein rL7/L12-Omp25 against *B. abortus* 544 in presence of IFN γ . *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102(20):8895-907.
- Petrović M, Cvetnić Ž. *Brucellosis*-the past, the present, the future. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 2017;85:012019

- Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW. Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 29th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2012.
- Pickering LK, Baker CJ, Long SS. Red book: report of the committee on infectious diseases 28th ed. Elk Grove Village, Illinois: American Academy of Pediatrics; 2009.
- Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem*. 2001;276(11):7811-9.
- Piotrowska U, Sobczak M, Oledzka E, Design D. Current state of a dual behaviour of antimicrobial peptides-Therapeutic agents and promising delivery vectors. *Chem Biol Drug Des*. 2017;90(6):1079-93.
- Quinn P, Markey BK, Carter M, Donnelly W, Leonard F. Veterinary microbiology and microbial disease. Oxford, UK: Blackwell Science; 2002
- Raheem N, Straus SK. Mechanisms of action for antimicrobial peptides with antibacterial and antibiofilm functions. *Front Microbiol*. 2019;10:2866.
- Ramin B, MacPherson P. Human brucellosis. *BMJ*. 2010;341:c4545.
- Rauf A, Shariati MA, Khalil AA, Bawazeer S, Heydari M, Plygun S et al. Hepcidin, an overview of biochemical and clinical properties. *Steroids*. 2020;160:108661.
- Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet*. 2003;33(1):21-2.
- Roushan MRH, Amiri MJS. Update on childhood brucellosis. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*. 2013;8(1):42-6.
- Roushan MRH, Mohraz M, Hajiahmadi M, Ramzani A, Valayati AA. Efficacy of gentamicin plus doxycycline versus streptomycin plus doxycycline in the treatment of brucellosis in humans. *Clin Infect Dis*. 2006;42(8):1075-80.

- Roushan MRH, Mohraz M, Janmohammadi N, Hajiahmadi M. Efficacy of cotrimoxazole and rifampin for 6 or 8 weeks of therapy in childhood brucellosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25(6):544-5.
- Saddique A, Ali S, Akhter S, Khan I, Neubauer H, Melzer F et al. Acute febrile illness caused by *Brucella abortus* infection in humans in Pakistan. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(21):4071.
- Sağmak Tartar A, Ozer Balın Ş, Akbulut A, Yardım M, Aydın S. Roles of Dermcidin, Salusin- α , Salusin- β and TNF- α in the Pathogenesis of Human Brucellosis. *Iran J Immunol*. 2019;16(2):182-9.
- Sasan M-S, Nateghi M, Bonyadi B, Aelami MH. Clinical features and long term prognosis of childhood brucellosis in northeast Iran. *Iran J Pediatr*. 2012;22(3):319-25.
- Schurig GG, Sriranganathan N, Corbel M. Brucellosis vaccines: past, present and future. *Vet Microbiol*. 2002;90(1-4):479-96.
- Schwartz L, Cohen A, Thomas J, Spencer JD. The immunomodulatory and antimicrobial properties of the vertebrate ribonuclease A superfamily. *Vaccines (Basel)*. 2018;6(4):76.
- Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Vet Microbiol*. 2010;140(3-4):392-8.
- Shahcheraghi SH, Ayatollahi J. Skin rashes on leg in Brucellosis: a rare presentation. *Acta Med Iran*. 2015:387-8.
- Shcheglovitova O, Maksyanina E, Ionova I, Rustam'yan YL, Komolova G. Cow milk angiogenin induces cytokine production in human blood leukocytes. *Bull Exp Biol Med*. 2003;135(2):158-60.
- Sheng J, Xu Z. Three decades of research on angiogenin: a review and perspective. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2016;48(5):399-410.

- Schutze GE, Jacobs RF, Brucella. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. 19th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2013. p. 980-2.
- Solera J, Geijo P, Largo J, Rodriguez-Zapata M, Gijón J, Martinez-Alfaro E et al. A randomized, double-blind study to assess the optimal duration of doxycycline treatment for human brucellosis. Clin Infect Dis. 2004;39(12):1776-82.
- Soner K, Aslan M, Volkan B, Metin Ö, Fettah A. Bruselloz tanılı 94 çocuk hastanın retrospektif olarak değerlendirilmesi. Kocatepe Medical Journal. 2016;17(2):60-5.
- Sözen TH. Bruselloz. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. Enfeksiyon Hastalıkları Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Kitabevleri; 2002. p. 636- 42.
- Stamatiou K, Polyzois K, Dahanis S, Lambou T, Skolarikos A. Brucella melitensis: A rarely suspected cause of infections of genitalia and the lower urinary tract. Braz J Infect Dis. 2009;13:86-9.
- Şimşek F, Kantürk A. Brusellosis. Okmeydani Med J. 2016;32:46-9.
- Tanir G, Tufekci SB, Tuygun N. Presentation, complications, and treatment outcome of brucellosis in Turkish children. Pediatr Int. 2009;51(1):114-9.
- Topaktaş R, Ersöz C, Polat EC, Erdem MR, Tepeler A, Armağan A et al. Brusella epididimorşiti: Bir olgu sunumu. J Clin Exp Invest. 2012;3(1):117-20.
- Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editors. İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri; 2002.
- Tornesello AL, Borrelli A, Buonaguro L, Buonaguro FM, Tornesello ML. Antimicrobial peptides as anticancer agents: functional properties and biological activities. Molecules. 2020;25(12):2850.
- Tosun A, Göksoy E, Çeçen E, Aydoğdu A, Aral YZ. Bir olgu nedeni ile nörobruselloz. Ege Pediatri Bülteni. 2007;14(3):177-82.

- Tschesche H, Kopp C, Hörl W, Hempelmann U. Inhibition of degranulation of polymorphonuclear leukocytes by angiogenin and its tryptic fragment. *J Biol Chem.* 1994;269(48):30274-80.
- Tural Kara T, Kan A. Hematological findings in children with brucellosis. *Pediatr Inf* 2020;14(3):129-34.
- Türel Ö, Sanli K, Hatipoglu N, Aydogmus Ç, Hatipoglu H, Siraneci R. Acute meningoencephalitis due to *Brucella*: case report and review of neurobrucellosis in children. *Turk J Pediatr.* 2010;52(4):426-9.
- Ulu Kilic A, Metan G, Alp E. Clinical presentations and diagnosis of brucellosis. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2013;8(1):34-41.
- Ural O. Bruselloz: Özel vakalarda tedavi sorunları. *Klimik Dergisi.* 2005;18(1):106-8.
- Uzun Ö, Ünal S, editors. *Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları II.* Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2002. p. 602.
- Van Epps HL. René Dubos: unearthing antibiotics. *J Exp Med.* 2006;203(2):259.
- Waghu FH, Barai RS, Gurung P, Idicula-Thomas S. CAMPR3: a database on sequences, structures and signatures of antimicrobial peptides. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D1094-7.
- Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceuticals.* 2014;7:545–594.
- Wang G, Li X, Wang Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D1087-93.
- Willke T, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.* 3rd ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 399-424.
- Xu XL, Chen X, Yang PH, Liu JY, Hao XK. In vitro drug resistance of clinical isolated *Brucella* against antimicrobial agents. *Asian Pac J Trop Med.* 2013;6(11):921-4.

- Yagupsky P. Pediatric brucellosis: an (almost) forgotten disease. *Adv Exp Med Biol.* 2012;123-32.
- Yaman Y, Gözmen S, Özkaya AK et al. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in children with brucellosis: report of three cases. *J Infect Dev Ctries.* 2015;9(10):1172-6.
- Yaylı G. Brusellozun laboratuvar tanısında sorunlar. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, İstanbul. 2003. p. 211-3.
- Yetkin MA, Erdinc FS, Bulut C, Tulek N. Epididymoorchitis due to brucellosis in central Anatolia, Turkey. *Urol Int.* 2005;75(3):235-8.
- Yıldırım HŞ, Parlak E. Brusellozis'e Bağlı Pansitopeni: Olgu Sunumu. *Euras J Fam Med.* 2014;3(3):166-8.
- Yıldırım Ç, Akat EO, Taşbakan MI, Sipahi OR, Pullukçu H, Yamazhan T. *Brucella melitensis'* in Neden Olduğu Akut Kolesistit ve Granülomatöz Hepatit Olgusu. *Turkiye Klinikleri J Med Sci.* 2018;38(1):79-83.
- Yılmaz MH, Mete B, Kantarci F, Ozaras R, Ozer H, Mert A et al. Tuberculous, brucellar and pyogenic spondylitis: comparison of magnetic resonance imaging findings and assessment of its value. *South Med J.* 2007;100(6):613-4.
- Yoldas T, Tezer H, Ozkaya-Parlakay A, Sayli TR. Clinical and laboratory findings of 97 pediatric brucellosis patients in central Turkey. *J Microbiol Immunol Infect.* 2015;48(4):446-9.
- Young EJ, Pickering LK, Prober CG. *Brucella* species (brucellosis). In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, editors. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases.* Churchill Livingstone: Pennsylvania; 2012. p. 861-4.
- Young E. *Brucella* species In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 6th ed* Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005. p. 2669-74

Yousefi-Nooraie R, Mortaz-Hejri S, Mehrani M, Sadeghipour P. Antibiotics for treating human brucellosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;10(10):CD007179.

Yumuk Z, O'Callaghan D. Brucellosis in Turkey-an overview. *Int J Infect Dis.* 2012;16(4):e228-35.

Yüce A, Alp-Çavuş S, Yapar N, Çakır N. Bruselloz: 55 olgunun değerlendirilmesi. *Klinik Derg.* 2006;19(1):13-7.

Yüksek SK, Gülhan B. Çocukluk çağında bruselloz: tek merkez deneyimi. *Turkish J Pediatr Dis.* 2019;13(6):435-41.

Zaiou M. Multifunctional antimicrobial peptides: therapeutic targets in several human diseases. *J Mol Med (Berl).* 2007;85(4):317-29.