



HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AKUT BRUSELLOZLU HASTALARDA TEDAVİ
ÖNCESİ VE TEDAVİ SONRASI OKSİDATİF STRES
VE ANTİOKSİDAN KAPASİTE**

Dr. Leman KARAAĞAÇ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANLAR
Yrd.Doç.Dr. Süda TEKİN KORUK
Prof.Dr. Nurten AKSOY

ŞANLIURFA
2010



T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AKUT BRUSELLOZLU HASTALARDA TEDAVİ
ÖNCESİ VE TEDAVİ SONRASI OKSİDATİF STRES
VE ANTİOKSİDAN KAPASİTE**

Dr. Leman KARAAĞAÇ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANLAR
Yrd.Doç.Dr. Süda TEKİN KORUK
Prof.Dr. Nurten AKSOY

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 910 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2010

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük emeği olan tez yöneticim ve anabilim dalı başkanım sayın Yrd.Doç.Dr. Süda TEKİN KORUK'a, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Nurten AKSOY hocama, desteklerini esirgemeyen Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Hasan KARSEN'e ve Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd.Doç.Dr. İbrahim KORUK'a , rotasyon programlarında çalışmaktan onur duyduğum İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim görevlileri ve asistanlarına ve de eski anabilim dalı başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Fatma SIRMATEL'e, birlikte çalışmaktan kıvanç duyduğum arkadaşlarım Uzm.Dr.Gökhan UNUTMAZ, Uzm.Dr. Fazilet DUYGU, Dr. Öznur TAVŞAN, Dr. Melek HAMİDANOĞLU ve Dr. Celal ÇALIŞIR'a, çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen bölüm sekreterimiz Gülender AYKUTLU ve hastane enfeksiyon kontrol komitesi hemşiresi Leyla YILMAZ'a, yetişmemde katkıları olan bütün hocalarıma, birlikte çalıştığımız tüm yardımcı hastane personeline, özellikle; hayatımın her aşamasında karşılık beklemeden arkamda olan ve evlatları olmaktan onur duyduğum değerli annem ve rahmetli babama ve yoğun tempoma ve nöbetlerime anlayışla ayak uyduran sevgili eşim Ahmet'e, oğlum Serhat'a ve kızım İrem'e olmak üzere bu süreçte bana destek olan tüm aileme ve yakınlarıma gönülden teşekkür ederim.

Dr. Leman KARAAĞAÇ

Haziran 2010

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II-IV
KISALTMALAR	V-VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX-X
ABSTRACT	XI-XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. BRUSELLOZ	2
2.1.1. Tarihçe	2-3
2.1.2. Epidemiyoloji	4-6
2.1.3. Bakteriyolojik Özellikler	6
2.1.3.1. Bakterinin türleri	6
2.1.3.2. Görünüm ve boyanma özellikleri	7
2.1.3.3. Üreme, biyokimyasal ve dirençlilik özellikleri	8-9
2.1.3.4. Değişik ortamlardaki yaşam süreleri ve antibiyotik duyarlılıkları	9
2.1.3.5. Antijenik yapıları	9-10
2.1.3.6. Outher membran proteinleri	10
2.1.3.7. Üremeleri için gerekli besiyerleri ve özellikleri	11
2.1.3.8. Besiyerlerindeki inkubasyon süreleri ve görünümleri	11-12
2.1.3.9. Tür identifikasyonu	12-13
2.1.4. Patogenez	14-16
2.1.5. Klinik belirti ve bulgular	16-17
2.1.6. Komplikasyonlar	17
2.1.6.1. Kas iskelet sistemi bulguları	18
2.1.6.2. Gastrointestinal Sistem Tutulumu	18-19
2.1.6.3. Hematolojik bulgular	19
2.1.6.4. Nörolojik bulgular	19
2.1.6.5. Kardiyovasküler sistem bulguları	19

2.1.6.6. Genitoüriner Sistem	20
2.1.6.7. Cilt bulguları	20
2.1.6.8. Pulmoner sistem bulguları	20
2.1.6.9. Okuler lezyonlar	20
2.1.7. Tanı	20-21
2.1.7.1. Direkt tanı testleri	21-23
2.1.7.2. İndirekt tanı testleri (serolojik testler)	23-27
2.1.8. Radyolojik tetkikler	27
2.1.9. Tedavi	27
2.1.9.1. Nörobruselloz tedavisi.	29
2.1.9.2. Lokomotor Sistem Tutulumu Olan Bruselloz Olgularında Tedavi	29
2.1.9.3. Endokarditli Bruselloz Olgularında Tedavi	29
2.1.9.4. Çocuklarda Bruselloz Tedavisi	29
2.1.9.5. Gebelerde Bruselloz Tedavisi	30
2.1.9.6. Özel Durumlarda Tedavi Yaklaşımı	30
2.1.10. Korunma ve Kontrol	30-31
2.2. OKSİDATİF STRES	31-33
2.2.1. Serbest Radikaller (SR)	33-34
2.2.2. Reaktif oksijen türleri	34
2.2.2.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot}$)	35
2.2.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	35
2.2.2.3. Hidroksil radikali ($^{\cdot}OH$)	35
2.2.2.4. Singlet Oksijen (1O_2)	36
2.2.2.5. Nitrik Oksit ($NO^{\cdot}$)	36
2.2.3. Serbest Radikallerin Etkileri	37
2.2.3.1. Karbohidratlara Etkileri	37

2.2.3.2. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri	37
2.2.3.3. Proteinlere Etkileri	37-38
2.2.3.4. Lipitlere Etkileri	38
2.2.4. Antioksidan Sistem	38
2.2.4.1. Antioksidan Etki Mekanizmaları	39-40
2.2.4.2. Total Antioksidan Kapasite (TAOK)	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42-43
3.1. Hasta Seçimi	43
3.1.1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri	43
3.1.2. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri	44
3.2. Örneklerin Hazırlanması	44
3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	45
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler	45
3.5. Toplam Oksidan Status (TOS) Düzeyi Ölçümü	45-46
3.6. Toplam Antioksidan Kapasite Ölçümü	46-47
3.7. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü	47
3.8. İstatistiksel Analiz	47
4. BULGULAR	48-54
5. TARTIŞMA	55-61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	62-74

KISALTMALAR

ALT	Alanin aminotransferaz
ANA	Antinükleer antikor
AST	Aspartat aminotransferaz
BMI	Body mass index
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BT	Bilgisayarlı tomografi
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Nükleotid trifosfat
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
GGT	Gamma glutamiltransferaz
H2O2	Hidrojen perokit
Ig A	İmmunglobulin A
Ig G	İmmunglobulin G
Ig M	İmmunglobulin M
İFT	İmmünfloresan Test
KFT	Kompleman fiksasyon testi
MİK	Minimal inhibitör konsantrasyonu
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
NO	Nitrik oksit
OSİ	Oksidatif stres indeksi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polimorphism
RES	Retiküloenddotlyal sistem
RF	Romatoid faktör
RIA	Radio Immuno Assay
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
S-LPS	S-Lipopolisakkarit
SR	Serbest radikaller

SOR	Serbest oksijen radikalleri
STA	Standart tüp aglütinasyon
TAOK	Total Antioksidan Kapasite
TMP/SXT	Trimetoprim/sulfametoksazol
TOS	Toplam Oksidan Status
USG	Ultrasonografi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 :	7
Şekil 2.2 :	32
Şekil 2.3 :	38
Şekil 2.4:	40
Şekil 4.1 :	52
Şekil 4.2 :	53
Şekil 4.3 :	53

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1 :	13
Tablo 2.2:	31
Tablo 2.3:	34
Tablo 2.4:	34
Tablo 2.5:	40
Tablo 2.6:	41
Tablo 4.1 :	48
Tablo 4.2:	49
Tablo 4.3:	49
Tablo 4.4:	50
Tablo 4.5:	50
Tablo 4.6:	51
Tablo 4.7:	52
Tablo 4.8:	51
Tablo 4.9:	54
Tablo 4.10:	54
Tablo 4.11:	55

ÖZET

AKUT BRUSELLOZ HASTALARINDA TEDAVİ ÖNCESİ VE TEDAVİ SONRASI OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN KAPASİTE

Dr. Leman KARAAĞAÇ

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Bruselloz mortalitesi düşük, morbiditesi yüksek zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır. Ülkemizde endemik olan bu hastalık sıklıkla kaynatılmamış süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara bulaşır ve farklı klinik tablolar ile karşımıza çıkabilir. Tanısı genellikle klinik belirti ve bulguların varlığında standart tüp aglütinasyon testinin pozitif ($STA \geq 160$) olmasıyla konulmaktadır. Brusellozun patogeneğinde serbest oksijen radikallerinin rolü olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada akut bruselloz tanısı alan 30 hasta semptomları, bulguları, tanı ve tedavileri irdelenerek; tedavi öncesi ve sonrasında alınan kan örneklerinde total oksidatif stres düzeyi ve total antioksidan seviyenin değerlendirilmesi amaçlandı.

Çalışma, Ocak 2007 ile Ekim 2009 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinde yapıldı. Çalışmaya akut bruselloz tanısı konulan 30 hasta ile bruselloz olmayan 37 sağlıklı gönüllü alındı. Hastaların ve kontrol grubunun TAS (Total antioksidan seviye) ve TOS (Total oksidan seviye) düzeyleri tam otomatik kolorimetrik yöntemle sonuç veren EREL[®] Assay ticari kitleriyle çalışıldı. TOS/TAS oranı hesaplanarak oksidatif stres indeksi (OSI) bulundu. Hastaların tedavi öncesi TAS, TOS ve OSI (Oksidatif stres indeksi) düzeyleri tedavi sonrası değerleriyle karşılaştırıldı. Ayrıca aynı sonuçlar sağlıklı kişilerin sonuçları ile kıyaslandı.

Çalışmaya alınan 30 bruselloz olgusunun 15'i (%50) erkek idi. Hasta ve kontrol grubunda yaş ortalaması sırasıyla 22.03 ± 12.52 yıl (15-59 yıl) ve 28.05 ± 12.19 yıl; beden kitle indeksi (BKİ) ortalaması 22.24 ± 2.54 ve 23.41 ± 2.58 olarak hesaplandı. Çalışma grupları yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi (BKİ) ortalaması açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Brusellozlu hastaların tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubunun TAS, TOS ve OSI düzeylerinin birbirinden farklı olduğu görüldü. TOS ve OSI düzeyleri akut brusellozlu hastalarda tedavi öncesinde en yüksek, tedavi sonrasında daha düşük, kontrol grubunda ise en düşük olduğu bulundu (hepsi için $p < 0.0001$). TAS düzeyi akut bruselloz tedavi öncesi grupta en düşük, tedavi sonrası grupta daha yüksek, kontrol grubunda en yüksek olduğu bulundu

(hepsi için $p=0.001$). Her üç grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0.05$).

Çalışma sonuçları total antioksidan ve oksidan seviye ölçümlerinin akut brusellozlu hastaların takibinde kullanılabilecek biyokimyasal parametreler olduğunu düşündürmektedir. Ancak bu sonucu teyit edebilmek için daha geniş populasyonlarla yapılacak çalışmalara gerek vardır.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, Total Antioksidan Seviye(TAS), Total Oksidatif Seviye(TOS), Oksidatif Stres İndeksi(OSI)

ABSTRACT

OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT CAPACITY BEFORE AND AFTER TREATMENT IN PATIENTS WITH ACUTE BRUCELLOSIS

Leman KARAAĞAÇ, MD.

Infectious Diseases and Clinical Microbiology Expertise Thesis

Brucellosis is a zoonotic infection disease with high morbidity and low mortality. Route of transmission of this endemic disease in our country is unboiled milk and milk products consumption. The disease shows different clinical symptoms. Diagnosis generally made by positive result of standard agglutination test ($STA \geq 160$) in terms of presence of clinical symptoms. It has been thought that free oxygen radicals may have a role in pathogenesis of Brucellosis.

In this study, we aimed to evaluate the level of total oxidant status (TOS) and total antioxidant status (TAS) from the blood samples taken before and after treatment and to analyze the symptoms, diagnosis and treatment of 30 acute brucellosis patients.

This study conducted between January 2007 and October 2009 in Harran University Medical Faculty, Infection Disease and Clinical Microbiology Department. We have included 30 acute brucellosis patients and 37 healthy volunteers into the trial. TOS and TAS were studied with a full automatic colorimetric method (EREL[®] Assay Diagnostics). Taking the ratio of TOS to TAS oxidative stress index (OSI) were found. We compared before and after treatment measurements of these parameters of patients and the healthy controls.

Fifty percent of 30 brucellosis patients were male in the trial. The mean ages of the patients and control group were 22.03 ± 12.52 years and 28.05 ± 12.19 years respectively; and mean body mass index (BMI) were calculated as 22.24 ± 2.54 ve 23.41 ± 2.58 . There was no statistical differences in between study groups compared for age, gender and BMI ($p > 0.05$).

The TAC, TOS and OSI results were different in brucellosis patients and control group before and after treatment. TOS and OSI values were higher in acute brucellosis patients before treatment than the values after treatment. These values were the lowest in control group ($p < 0.0001$ for all). TAC levels were lower in acute brucellosis patients before treatment than the levels after treatment, these were the highest in control group ($p < 0.001$ for all). There were statistical differences in between the three groups ($p < 0.05$).

As a result of the study, it may be thought that total antioxidant and oxidant level measurements can be used as biochemical parameters to follow up the patients with acute brucellosis. But we need more precisely work conducted on larger populations to verify this conclusion.

Key words: Brucellosis, Total Antioxidant Status(TAS), Total Oxidant Status(TOS), Oksidative Stres Index(OSI)

I. GİRİŞ VE AMAÇ:

Ölümlerin en önemli sebeplerinden biri enfeksiyon hastalıklarıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) istatistiklerine göre, 2004 yılında dünyada her beş ölümden biri enfeksiyöz ya da paraziter sebeplerle oluşmuştur. Bu istatistiki sonuç çarpıcı olmasına rağmen, aslında enfeksiyon hastalıklarına bağlı ölüm oranlarını gerçek değerlerinden az göstermektedir. Çünkü ölüme yol açan pekçok enfeksiyöz sebep, Dünya Sağlık Örgütü'nün enfeksiyöz ve paraziter hastalıklar kategorisine dahil edilmemiştir. Bunun örnekleri: Enfeksiyon sonucu gelişen kanserler (Hepatit B'ye bağlı hepatoselüler karsinoma, Human papilloma virüs enfeksiyonuna bağlı servikal kanser gibi), poststreptokokal romatizmal kalp hastalığına bağlı kardiyovasküler ölümler ve puerperal sepsise bağlı anne ölümleridir. Enfeksiyon hastalıklarının kontrolü ve önlenmesi konusundaki kazanımlar dünyanın gelişmiş ve gelişmekte olan bölgelerinde eşit olarak oluşmamıştır. Afrika'da ölümlerin %53'ü, Amerika'da %7'si, Avrupa'da ise %2'si enfeksiyonla ilişkilidir (1).

Brucella cinsi bakterilerle oluşan bruselloz (ondülan ateş, Akdeniz ateşi, Malta humması, Bang hastalığı) temelde bir hayvan hastalığı olup koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların etleri, sütleri, idrar gibi vücut sıvıları, iyi pişirilmemiş, kontamine süttten hazırlanan süt ürünleri, enfekte hayvanın düşük materyali aracılığı ile insanlara bulaşabilen, titreme ile yükselen ateş, terleme, kaslarda ve eklemlerde ağrılarla seyreden bir zoonozdur (2,3).

Patolojik bir olayı takiben organizmada meydana gelen fizyopatolojik değişiklikler temelde belirli mekanizmaların harekete geçmesi ile oluşmaktadır. Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri veya oksijen metabolitleri olarak da adlandırılabilen bir kısım maddelerin ortaya çıkması ile hücre ölümü, doku hasarı ve nekroz sonucunda, organ veya sistemlerde işlev yetersizliği meydana gelmektedir (4).

Oksidatif stres doku veya hücrede oluşan Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)'nin konsantrasyonunun antioksidan kapasiteyi aşması olarak tanımlanır. Oksidatif stres geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açar. Oksidatif stres akut ya da kronik olabilir. İskemi-reperfüzyonda, akut enflamasyonda ve hiperoksida kısa süreli bir oksidatif stres varken, kronik enflamasyonda uzun süreli bir oksidatif stres vardır (5,6).

Bruselloz, tüm sistemleri etkileyebilen ve çeşitli semptomlarla seyredebilen bir hastalık olması nedeniyle hastalar farklı disiplinlerdeki bölümlere başvurmakta, çoğu kez tanı ve sağaltımdaki gecikmeler sonucu spondilodiskit, meningoensefalit ve endokardit gibi ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır.

Enfeksiyon hastalıklarında, inflamatuvar hücrelerin aktive olarak reaktif oksijen ve nitrojen türleri salgıladıkları gösterilmiştir. Birçok enfeksiyon hastalığında oksidatif stresle ilgili araştırma yapılmıştır. Bunlardan, malaryada, intraabdominal sepsiste, kızamıkta, farelerde *E. coli*'ye bağlı gelişen alt üriner sistem enfeksiyonlarında antioksidasyon, *H. capsulatum* enfeksiyonunda, hepatit B ve hepatit C enfeksiyonunda, *N. gonore* enfeksiyonunda, sepsiste, gebelerdeki üriner sistem enfeksiyonunda, hepatit C ile enfekte son dönem böbrek hastalarında, *P. braciliensis* enfeksiyonunda oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (7,8,9,10,11,12).

Brusellozun patogenezinde serbest oksijen radikallerinin yükselmesi ve antioksidan kapasitenin düşmesinin rolü olabileceği düşünülmektedir (13). Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (14,15).

Bu çalışmada akut bruselloz tanısı alan 30 hasta semptomları, bulguları, tanı ve tedavileri irdelenerek; tedavi öcesi ve sonrasında alınan kan örneklerinde total oksidatif stres düzeyi ve total antioksidan kapasite seviyesinin değerlendirilmesi ve böylece hastalığın etiopatogenezinde üzerinde durulmakta olan bu parametrelerin tedavi ile değişimlerinin ortaya konması amaçlandı.

II - GENEL BİLGİLER

2.1. BRUSELLOZ

Brucella cinsi bakterilerle oluşan bruselloz (Ondülan ateş, Akdeniz ateşi, Malta humması, Mal hastalığı, Bang hastalığı vb.) temelde bir hayvan hastalığı olup koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların etleri, sütleri, idrar gibi vücut sıvıları, iyi pişirilmemiş, kontamine süttten hazırlanan süt ürünleri, enfekte hayvanın düşük materyali aracılığı ile insanlara bulaşabilen, titreme ile yükselen ateş, terleme, kaslarda ve eklemlerde ağrılarla seyreden bir zoonozdur (2,3,16) .

2.1.1. Tarihçe

Milattan sonra 79 yılında volkanik patlama sonucu harap olan eski bir Roma şehrinin kalıntıları arasında bulunan erişkin iskeletlerinde; brusellozun tipik kemik lezyonları bulunmuş olup; gömülü karbonize peynirlerin elektron mikroskopuyla yapılan analizinde

Brucella spp'ye morfolojik olarak benzeyen kok benzeri formların varlığı tespit edilmiştir (17). Bruselloza benzer klinik durumlar; Milattan Önce 450 yıllarında Hipokrat tarafından tarif edilmiştir ve humma olarak tanımlanmıştır. Ancak brusellozun ilk uygun tarifi 1860 yılında cerrah olan Marston tarafından yapılmıştır (2,3). Etken ajan ise 1886 da Bruce tarafından Malta Humması'ndan ölen askerlerin dalaklarından *Micrococcus* (daha sonra *Brucella*) *melitensis* izole edilmesi ile saptanmıştır (3). Zammit 1905'te keçiyi brusellanın rezervuarı olarak keşfetmiş ve pastörize edilmemiş keçi sütlerinin kullanılmasını engelleyerek ordu mensuplarında görülen enfeksiyon ve ölümlerde hızlı bir düşüş sağlanmıştır (2). Traum tarafından 1914'te domuzlardan *B. suis* izole edilmiştir. Danimarka'da veteriner olan Bang tarafından 1920'de *B. abortus*, abortus yapmış ineklerin intrauterin membranlarından üretilmiştir. Carmichael tarafından 1966'da köpeklerde ve onların eğitimcilerinde epidemik olarak *B. canis* tanımlanmıştır (3).

İngiliz ve Amerikan araştırmacılar 1994 yılında birbirlerinden bağımsız olarak İskoç sahillerindeki deniz memelilerinin leşlerinden ve Kaliforniya'da bir yunus balığından daha önce bilinmeyen bir brusella organizması izole etmişler, bu izolatların 7 ayırıcı metabolik profilleri, boya sensitiviteleri ve faj sensitiviteleri birbirinin aynı bulunmuş ve *B. maris* olarak adlandırılmıştır (3). Ayrıca Sibiry'a da geyiklerden *B. rangiferi* türü izole edilmiştir. Ülkemizde ilk insan bruselloz olgusu 1915 yılında Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi edilen bir askerde tespit edilmiştir. Koyunlarda *B. melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında Bandırma Merinos çiftliğinde saptanmıştır. Ülkemizde sığırlarda ilk izolasyon 1931-32 yıllarında Berke tarafından bildirilmiştir (18). Yine Türkiye'de insan ve hayvanlarda brusellozun serolojik yöntemlerle saptanması Golem tarafından 1943 yılında yapılmıştır (19). Köylüoğlu ve Aktan ise 1944'de *Brucella* cinsi bakterileri bulmuşlardı (16).

Brusellozun tarihsel isimleri, “ Ondülan ateş”,“Bang hastalığı”,“Gibralter hastalığı”, “Akdeniz ateşi” ve “Malta ateşi” olarak da bilinmektedir (20).

Brucella melitensis'in neden olduğu 4000'den fazla vaka bulunan bölgeler hiperendemik olarak tanımlanmakta ve bu ülkelerin başında Latin Amerika'da Peru ve Meksika, Avrupa'da Yunanistan ve İspanya, Ortadoğu'da Irak, İran, Kuveyt gibi ülkeler gelmektedir. Bruselloz insanlarda ve hayvanlarda morbiditesi yüksek bir hastalık olup; dünyada her yıl yaklaşık olarak yarım milyon yeni vaka ortaya çıkmaktadır (21).

2.1.2. Epidemiyoloji

Bruselloz bir zoonozdur ve enfeksiyonun tamamı yakını hayvanlarla direkt veya indirekt temas sonucu bulaşır. Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle birlikte Akdeniz ülkeleri, Arap yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir (3). İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloz eradike edilmiştir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre tüm dünyada her yıl 500.000 yeni olgu belirlenmektedir (22).

Ülkemizde bruselloz morbiditesi oldukça yüksek olmasına karşın mortalitesi düşük bir enfeksiyon hastalığıdır. Her yıl binlerce insan hastalığa yakalanmakta ve hastalık insanlarda fizik yetersizliğe ve iş gücü kaybına neden olmaktadır. Bruselloz bir yandan da hastalığın esas kaynağını oluşturan evcil hayvanlarda süt verimini azaltırken, hayvan düşükleri ile ekonomik kayba yol açmaktadır. Ergin ve gebe dişi hayvanlar bruselloza daha duyarlıdır. Enfeksiyon etkeninin gebe hayvanlarda uterusu, erkeklerde testise yerleşme eğilimi daha fazladır. Gebe hayvanlarda kotilodonlara yerleşen bakterinin meydana getirdiği enfeksiyon, yavrunun yeterli beslenmesini engeller ve anne karnında ölmesine, annenin düşük yapmasına neden olur. Brusella bakterisinin hayvan sütüne karışması hayvanda oluşturduğu mastit ve genital akıntıdan karışma şeklindedir. Bazı gelişmiş ülkelerde bruselloz hayvanlar arasında tamamen eradike edilmiş olmakla birlikte ülkemizde hayvanlar arasında oldukça yaygın bir hastalıktır. Özellikle Ankara ovasında, Konya yöresinde, Güneydoğu Anadolu'da Diyarbakır ve Urfa yörelerindeki hayvanlarda yaygındır. Kırsal kesimde daha çok *B. melitensis* enfeksiyonu görülürken, büyük şehirlerde daha çok *B. abortus* enfeksiyonuna rastlanır. Ülkemizde *B. suis* enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Türkiye'de insanlardan en sık *B. melitensis* biyotip 3 izole edilmiştir. Hayvanlarda yaygın bir enfeksiyon hastalığı olan bruselloz; hayvanlarla yakın teması olan insanlarda (veteriner, çiftçi gibi) veya süt ve süt ürünlerini taze tüketenlerde daha sık görülmektedir. Ülkemizde çeşitli tarihlerde yapılan araştırmalarda bruselloza ait seropozitiflik %2-6 olarak belirtilmiştir. Bildirim sisteminin iyi çalıştırılmaması nedeni ile vaka sayıları az görülmektedir (2,23). Türkiye'de Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1970 yılında 37 olarak bildirilen olgu sayısı (0.1/100000), 2005 yılına gelindiğinde 14644'e ulaşmıştır (20.32/100000) (22). Bu artışın hastalık prevelansındaki gerçek artıştan çok bildirim ve tanı koyma oranlarındaki artıştan kaynaklandığı tahmin edilebilir. Ülkemizde hastalık bildirimlerinin halen yeterli düzeyde olmadığı dikkate alınırsa, olasılıkla gerçek bruselloz prevelansı sanıldığından daha yüksektir. 2005 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre

bruselloz morbidite hızının en yüksek olduğu iller; Siirt, Van, Iğdır, Batman, Ardahan ve Aksaray olarak bildirilmiştir. Sağlık Bakanlığı'na 2005 yılında Rize ve Bartın illerinden bruselloz olgusu bildirilmemiştir. Türkiye'de brusellozun yıllık mortalite hızı milyonda 0.01 olarak bildirilmiştir (22).

Brusella bakterileri hayvanlarda yaşam boyu kalmakta ve kronik enfeksiyona yol açmaktadır (24).

Hastalığın insanlara bulaşmasında üç önemli yol bilinmektedir;

- 1) Kontamine et, süt ve süt ürünlerinin sindirim yolu ile alınması, ülkemizde en sık karşılaşılan bulaş yoludur. Genellikle pastörize edilmemiş, çiğ süttten yapılmış peynirlerin yeterince bekletilmeden yenmesi ile bulaş gerçekleşmektedir. Kaşar peyniri ve yoğurt gibi ısıtılarak veya fermentasyon ile hazırlanan besinlerle ise bulaştırılmazlar. Ülkemizde en sık bulaş çiğ süttten yapılan peynir, krema ve yağlarla olmaktadır.
- 2) Enfekte hayvanın genital salgı, düşük materyali veya idrarının bütünlüğü bozulmuş deri veya konjunktivaya direkt teması.
- 3) Enfeksiyöz aerosollerin inhalasyonu ile bulaş olabileceği düşünülmekte ve 10-100 bakterinin alınması bile hastalığa neden olmaktadır (2,25).

Hastalığın yoğurt ile bulaşması söz konusu değildir çünkü yoğurt yapılırken süt mutlaka kaynatılır ve ilaveten maya (yoğurt) sütü asidifiye eder. Sütün pastörize edilerek tüketildiği yerlerde, direk temasla bulaş daha ön plandadır. Direkt temasta; hayvanın genital akıntısı, düşük materyali veya idrarının hasarlı cilt ile teması yoluyla enfeksiyon alınmaktadır. İnhalasyon yolu ile de bulaş söz konusudur. Fransa'da yapılan bir araştırmada bruselloz olgularının %60'ının bu yolla olduğu saptanmıştır (26). İnsandan insana bulaş çok nadirdir, literatürde cinsel yolla bulaştığı ileri sürülen olgular bildirilmiş ve spermde bakteri üretilenmiştir (27). Literatürde intrauterin geçtiği tahmin edilen bir olgu bildirilmiştir. Olası anne sütü kaynaklı olgu bildirimleri de vardır (28,29) .

Bruselloz laboratuvarından kazanılmış en sık etkenlerden biridir ve bruselloz vakalarının %2'sinin laboratuvar kaynaklı olduğu belirtilmektedir. Bulaşma genelde örneklerin korunmasız olarak tutulması, besiyerlerinin koklanması, ağızla pipetleme veya enfekte aerosollerin göz, burun veya ağıza temasıyla olmaktadır (21,30).

Neden olduğu hastalığın ciddiyeti ve insanlar için uygun aşının yokluğundan dolayı biyoterörizm ajanı olarak kullanılabilir. Bazı brucella suşlarının B kategorisi biyoterörizm ajanı olarak dikkate alınmasından dolayı; hastalığın saptanmasında hızlı ve uygun tanı araçları üzerinde yoğun ilgi vardır (31).

Türkiye’de hastalık yılın tüm aylarında görülebilmekle birlikte genelde, koyunların yavrulama dönemleri ile peynir yapımının arttığı ilkbahar ve yaz aylarında daha sıktır (32,33).

Bruselloz, hayvanlardan ve ürünlerinden bulaşan bir hastalık olma özelliği nedeniyle bekleneceği gibi Türkiye’de de özellikle hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı kırsal bölgelerinde daha sık görülmektedir. Hastalık tipik olarak genç ve orta yaşlı erişkinleri tutmaktadır, çocuk ve yaşlılarda insidansı daha düşüktür (3). Ülkemizde bruselloz tanısı alan olguların %50-60’ı 20-50 yaş arasındadır. Çocuklar, hastaların %10-15’ini, 65 yaş üzeri olgular %10’unu oluşturmaktadır. Bruselloz olguları değerlendirildiğinde cinsiyetler arasında büyük bir fark görülmemiştir (32,34).

2.1.3. Bakteriyolojik Özellikler

2.1.3.1. Bakterinin türleri

B. melitensis (3 biyotip), esas olarak koyun ve keçilerde; *B. abortus* (9 biyotip) sığır ve mandalarda; *B. suis* (5 biyotip) domuzlarda enfeksiyon yapmaktadır. *B. canis* köpeklerde enfeksiyon yapmakta olup, insanlarda nadiren hastalık yapar. *B. neotoma* ratlarda enfeksiyon yapar. *B. ovis* koyunlardan izole edilmiştir. *B. neotomae* ve *B. ovis* insanda patojen değildir ve birer biyotipi mevcuttur (16,21).

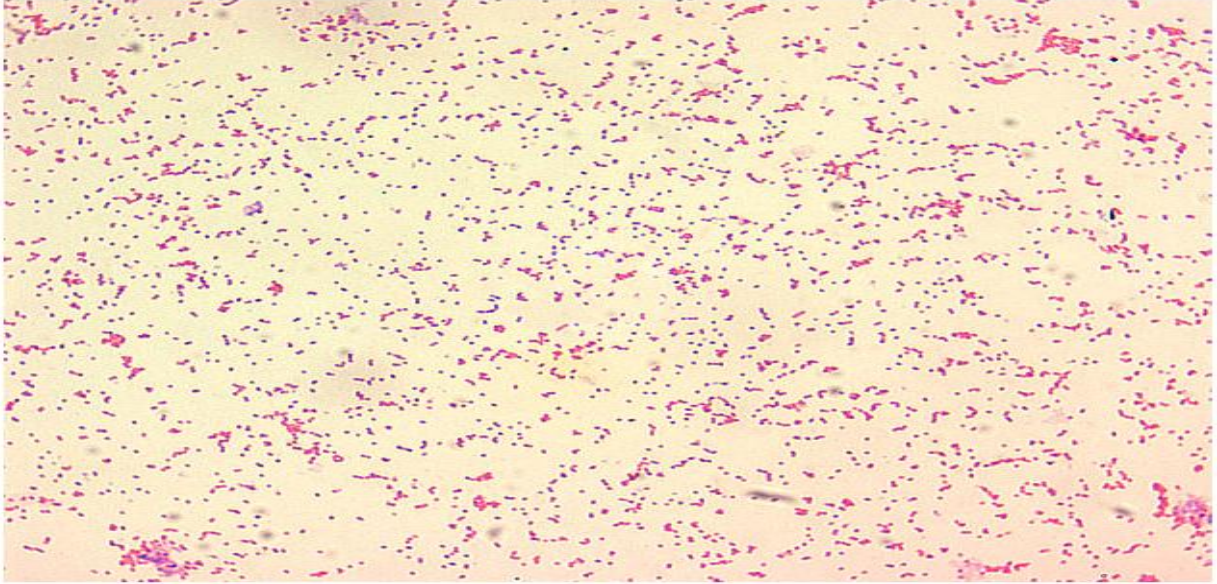
İnsanlar üç klasik brusella türü ile enfekte olabilirse de dünya genelinde olguların çoğundan en invaziv ve patojenik tür olan *B. melitensis* sorumludur. Patojenite yönünden *B. melitensis*’i *B. suis* izlemektedir. *B. abortus* ise insanlarda *B. melitensis* ve *B. suis*’e göre daha hafif seyirli enfeksiyonlar oluşturmaktadır (21). İnsanlarda *B. neotomae*, *B. ovis* ve *B. suis* biyotip 2’ye bağlı hiçbir enfeksiyon bildirilmemiştir. Keza insanlar da *B. canis* ve *B. abortus* biyotip 5 ile çok nadiren enfekte olmaktadır (35).

Brusella türlerinin biyotip düzeyindeki identifikasyonları için başlıca 4 ana test uygulanmaktadır. Bunlar CO₂ gereksinimi, hidrojen sülfür (H₂S) üretimi, bazik fuksin ve tiyonin boyaları ile inhibisyona duyarlılık ve monospesifik A, M ve R serumları ile aglütinasyondur (36).

Filogenetik olarak *Brucella* cinsi; bakterilerin *Rhizobiaceae* grubuna aittir. Ayrıca *Proteobacteria* sınıfının α -2 alt sınıfında yer almaktadır ve bu sınıf ise *Bartonella*, *Rochalimaea*, *Ochrobacterium* ve *Agrobacterium* ile yakın ilişkilidir (25). DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları; bilinen 6 *Brucella* türü arasında %90’dan fazla benzerliği ortaya koymaktadır (37).

2.1.3.2. Görünüm ve boyanma özellikleri

Brusella türleri 0.5-0.7 µm eninde, 0.6-1.5 µm boyunda kok, kokobasil veya kısa çomaklar şeklinde Gram negatif bakterilerdir. Tek olarak, daha az sıklıkla ikili, kısa zincirler, veya küçük kümeler halinde bulunurlar. Sporsuz ve hareketsizdirler. S şeklinde ve mukoid koloni oluşturan suşlarda kapsül gösterilebilir. Pasajlarda ve R koloni şekillerinde, bu kapsül kaybolur. Brucella bakterileri aerop ve mikraerofil bakteriler olup respiratuvar tipte hemolizsiz ve pigmentsizdir. *B. melitensis* ve *B. abortus*'un bazı türlerinin kolonileri, eski kültürlerde, esmer renkte görülebilir (36,38). Küçük olduklarından, moleküler hareket nedeniyle, yerlerinde titreşirler (Braunien hareket). Çomaklar genellikle tek, daha az sıklıkla ikili, kısa zincirler veya küçük kümeler halinde görülür (2).



Şekil 2.1: *B. melitensis* kolonileri (39)

Gerçek asit-fast olmadıkları halde zayıf asitlerle dekolorizasyona dirençli olduklarından modifiye Ziehl-Neelsen boyama tekniği ile kırmızı renkte boyanırlar. Kültürlerde tek tek rastlanmasına karşın dokulardan yapılan imprintlerde kümeler halinde görülürler. Bipolar boyanma özelliği göstermezler (40).

2.1.3.3.Üreme, biyokimyasal ve dirençlilik özellikleri

Brucella cinsi bakteriler insanlarda hastalığa neden olan diğer bakterilere göre daha uzun bir bölünme zamanına (2.5-3.5 saat) sahiptirler ve klinik örneklerden izolasyon için uzun süre (30 gün veya daha fazla) gerekmektedir (3,41). *Brucella* cinsi bakteriler organizmadan yeni ayrıldıklarında; besiyerinde yavaş ürerler ve ilk izolasyondan sonra buyyon ve jeloz gibi basit besiyerinde de üremeye alışırlar (42). Bazı kökenler (*B. abortus* ile *B. suis*'in birçok biyovarı) üreyebilmek için özellikle primer izolasyonlarında CO₂'e gereksinim duyarlar. Genel kullanım besiyerlerinde üremede güçlük gösterirler. Kökenlerin çoğu üreyebilmek için çeşitli aminoasitler, tiamin, nikotinamid ve magnezyum iyonlarından zengin kompleks besiyerlerine gereksinim duyarlar. Besiyerlerine kan ve serum eklenmesi üremeyi olumlu yönde etkiler. Besiyerleri olarak; Brain-Heart İnfüzyon yarıkatı besiyeri, karaciğer infüzyon agar, trypticase soya agarı, *Brucella* buyyonu ve agarı gibi besiyerleri kullanılabilir. Optimal üreme ısısı 37 °C (20-40 °C arasında üreyebilirler) ve optimal pH 6.6-7.4 arasındadır (43).

Serum dekstroza agar veya diğer saydam besiyerlerinde 48 saatten sonra küçük, şeffaf, yüzeyden kabarık, yuvarlak ve düzgün kenarlı, nemli, parlak yüzeyli, şebnem tanesi görünümünde koloniler oluştururlar. Kolonileri hemolizsiz ve pigmentsizdir. *B. melitensis* ve *B. abortus*'un bazı türlerinin kolonileri, eski kültürlerde esmer renkte görülebilir. S koloni yapan türlerde R koloni yapan varyantlar olabildiği gibi, doğada sadece R koloni yapabilen türler de (*B. canis* ve *B. ovis*) vardır (2).

Tüm *Brucella* spp. katalaz pozitifler, eritrositleri lize etmezler, indol ve asetil metil karbinol (Voges Proskauer) oluşturmazlar, metil red ve o-Nitrophenyl-Beta-D-galactopyranoside (ONPG) negatiftirler, sitratlı besiyerlerinde üremezler (44). *B. neotomae* dışında, besiyerlerinde karbonhidratlardan asit oluşturmazlar. *B. ovis*, *B. neotomae* ve *B. abortus*'un bazı suşları hariç tüm *Brucella* türleri oksidaz pozitifdir. *B. ovis* hariç diğer türler nitratları indirgerler (16).

Üreaz aktiviteleri değişken olup *B. suis* 15-20 dakikada, *B. abortus* 2 saatten sonra üreaz etkinliği göstererek besiyerinin rengini kızartırlar. *B. melitensis* saatler sonra veya olumsuz sonuç verir. Metil kırmızısı testi olumsuzdur. *B. suis* en çok ve en uzun süre *B. abortus* daha az ve *B. melitensis* en az ve kısa süre H₂S oluştururlar. *Brucella* bakterilerine karşı ilk defa izole edilen bakteriyofajlar, hem genus hem de tür düzeyinde identifikasyon için kullanılmaktadır. *Brucella* fajları 6 grupta sınıflandırılmıştır. Grup 1: Tbilisi (Tb), Grup 2: Firenze (Fi), Grup 3: Weybridge (Wb), Grup 4: Berkeley (BK0, BK1, BK2), Grup 5: R, R/O,

R/C, Grup 6: İzmitnagar (Iz). Tb, Fi, Wb ve Berkeley fajları R formundaki Brusella bakterileri için litik değildir. R/C fajı S formundaki Brusella türleri ile *B. melitensis* ve *B. suis* dahil bazı Brusella türlerinin R kolonilerinde litik etki göstermektedir. Tb fajı rutin test dilüsyonunda (RTD) *B. abortus*'un S kültürlerini lizise uğratar. Fakat *B. suis* ve *B. melitensis* kültürleri etkilenmez. *B. suis* RTD'nin 10^4 katı konsantrasyonda kısmen lizise uğramasına rağmen *B. melitensis* Tb fajı ile hiçbir şekilde lizise uğramaz (38,43).

2.1.3.4. Değişik ortamlardaki yaşam süreleri ve antibiyotik duyarlılıkları

Brucella bakterileri ısıtılmaya, iyonizan radyasyona ve dezenfektanlara dayanıksızdırlar, canlılıklarını 56°C de yitirirler, 60°C de ısıtılmakta 10 dakikada, %1 fenol eriyiğinde ise 15 dakikada ölürlere, sterilizasyondan emin olmak için 85°C gerekir. Normal mide asidi mikroorganizmayı öldürmeye yeterlidir. Süt içinde 17 gün, tuzlanmış domuz etinde 3 hafta, dondurmada 1 ay, tereyağında 142 gün yaşadığı; insan idrarında en az 7 gün, çeşme suyunda 8°C de 57 gün, 25°C de ise 10 gün canlılığını koruduğu, düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, hayvan dışkısında açıkta 100 gün, toprakta 10 hafta, ahırların duvar ve döşemesinde 4 ay canlı kaldığı, keçi sütünden yapılmış peynirde soğukta 6 aya kadar, gübrede 2 yıldan daha uzun süre canlılıklarını sürdürebildiği bildirilmiştir. %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, % 17 tuz içeren ise 1 ay yaşayabilir. Bu nedenle salamura peynirlerin yapılış tarihleri tenekelerin üzerinde yazılı olmalı ve tuz oranına dikkat edilmelidir. Oda ısısındaki peynirde 2 ayda ölmektedir. Pastörizasyonla çabuk ölmelerinin epidemiolojik değeri vardır. Tulum ve kaşar peyniri uzun süre bekletildiği için, yoğurt ise asiditesi fazla olduğundan hastalığı bulaştırmazlar (2,3,45,46,47).

Brucella türlerinin çoğu gentamisin, tetrasiklin ve rifampisine 3. kuşak sefalosporinler ve trimetoprim/sülfametoksazol'e (TMP/SMZ) duyarlıdır. Birçok brusella suşu Penisilin, polimiksin, sefalosporin, basitrasin, linkomisin ve nistatine dirençlidir (2,16).

2.1.3.5. Antijenik yapıları

Somatik-lipopolisakkarit (S-LPS) antijenleri ve dış membran proteinleri hariç brusella antijenleri tüm suşlarda ortaktır (48,49). Aglütinin absorpsiyon ve jel difüzyon tekniği ile yapılan incelemelerde brusellalarda somatik A ve M antijenleriyle (Ag) bir yüzeyel L zarf antijeni bulunduğu gösterilmiştir. Daha çok *B. abortus* kökenlerinde bulunmuş olan L antijeni; organizmadan yeni ayrılan bakterilerde var olup onların immün serumlarla

aglutinasyonuna engel olmakta ancak 100 °C'de 30 dakika ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadırlar. Bu özelliği ile Salmonella'lardaki Vi Ag'ye benzemektedir (3,42). *B. abortus* ve *B. suis*' de A antijeni fazla, M antijeni az *B. melitensis*'de ise M antijeni fazla A antijeni az miktarlardadır. Bu miktarlar oran olarak ifade edildiğinde *B. abortus* ve *B. suis*'de A'nın M' ye oranı 20/1 iken, *B. melitensis*'de bu oran 1/20 dir. Görüleceği gibi serolojik metodlar ile *B. melitensis*'i *B. abortus* ve *B. suis*'den ayırmak mümkün olmakta, fakat *B. abortus*'u *B. suis*'den ayırt etmek olası görülmemektedir (16).

Brucella spp. ile *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Kaufmann-White grup N , *Yersinia enterocolitica* O:9, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Francisella tularensis* gibi bakteriler arasındaki çapraz reaksiyonların sebebi bu bakterilerin LPS tabakalarındaki N-formil perosamin'lerin birbirine olan benzerlikleridir (50).

2.1.3.6. Outher membran proteinleri

Brucella türlerinin diğer önemli virülans faktörleri OMP' ler grup 1 (88-94 kDa), grup 2 (35-40 kDa) ve grup 3 (25-30 kDa) olmak üzere 3 guruba ayrılmışlardır. Grup 2 proteinleri aynı zamanda porin proteinleri olarak da bilinmektedir. *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinin tersine *Brucella* türlerinin dış membranı fosfotidiletanolamin yerine fosfotidilkolinden zengindir. Bu özellik nedeni ile bakterinin LPS tabakasının polimiksin gibi antibiyotiklere bağlanamadığı ve dolayısı ile söz konusu antibiyotiklere karşı bakteride direnç geliştiği ileri sürülmektedir (51). OMP2 porin protein profillerinin *Brucella* türlerini sınıflandırmada kullanılabileceği bildirilmektedir. Tiyonin duyarlılığı *Brucella* cinsi mikroorganizmalarının tür ve biyotip tanısında kullanılan birkaç testten biridir. Tiyonin minimum 0.7 nm çapında partiküller içeren hidrofilik bir boyadır. Porin kanallarının bu boyanın penetrasyonunda başlıca rol oynadığı ileri sürülmektedir. Tiyonin varlığında üreme kabiliyetinin olmayışının OMP2a geninden 108 bp'lik bir segmentin delesyonuna bağlanmaktadır. Bruselloza bağlı etkin koruyucu bağışıklığın ortaya çıkmasında CD4 yardımcı T lenfositleri ve CD8 sitotoksik T lenfositlerinin efektör hücreler olarak rol aldıkları, hücrel ve humoral bağışıklığın birlikte rol oynadıkları görüşü hakimdir (52). Hücrel bağışıklıkta ve bunun bir göstergesi olan gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarında başlıca OMP lerin rol oynadıkları belirtilmektedir. Humoral bağışıklıkta ise LPS antijenler (A ve M epitopları) rol oynarlar (53).

2.1.3.7.Üremeleri için gerekli besiyerleri ve özellikleri

Genel kullanım besiyerlerinde üremede güçlük gösterirler. Kökenlerin çoğu üreyebilmek için çeşitli aminoasitler, tiamin, nikotinamid ve magnezyum iyonlarından zengin kompleks besiyerlerine gereksinim duyarlar. Besiyerlerine kan ve serum eklenmesi üremeyi olumlu yönde etkiler (43). *B. abortus* biyotip 2 ve *B. ovis*, üremeleri için besiyerine %5-10 oranında katılmış serumla ihtiyaç gösterirler (54).

Brucella türlerinin izolasyonunda bugüne kadar birçok besiyeri geliştirilmiştir. Organizmaların üretilmesinde en çok kullanılan temel besiyerleri serum-dextrose agar, serum-tryptose agar ve serum-tyrticase agardır. Bunların her biri ayrıca kullanılan selektif besiyerlerine temel teşkil ederler. Brusellaların kontamine materyallerden izolasyonunda diğer mikroorganizmaların üremelerini inhibe etmek amacıyla temel besiyerlerine çeşitli antibiyotiklerin ve boyaların katılması ile birçok selektif besiyerleri geliştirilmiştir (16,55). Morgan; temel besiyerine %0.5 oranında katılan Tween-40'ın , *B. abortus* biyotip 2'nin üretiminde serumun yerini alacağını bildirmiş ve basitrasın, polimiksin ve aktidion eklenen serum dekstroz agarın (SDA) bütün brucella türlerinin üremesini teşvik eden en ideal besiyeri olduğunu bildirmiştir (56).

2.1.3.8.Besiyerlerindeki inkubasyon süreleri ve görünüşleri

Brucella cinsi bakteriler insanlarda hastalığa neden olan diğer bakterilere göre daha uzun bir bölünme zamanına (2.5-3.5 saat) sahiptirler ve klinik örneklerden izolasyon için uzun süre (30 gün veya daha fazla) gerekmektedir (3,41). Brucella cinsi bakteriler organizmadan yeni ayrıldıklarında; besiyerinde yavaş ürerler ve ilk izolasyondan sonra buyyon ve jeloz gibi basit besiyerinde de üremeye alışırlar (42). Brucella kolonileri uygun katı besiyerlerine ekilmelerinden itibaren yaklaşık 3 günlük bir inkubasyondan sonra gözle görünür hale gelirler. Selektif besiyerlerine ekim üremeyi bir süre geciktirebilir. Koloni oluşumu dördüncü günde gözlenmez ise kültürlerin negatif olarak değerlendirilmesinden önce 8-10 günlük bir inkubasyona bırakılması önerilmektedir. Koloniler 3-4 günlük inkubasyon sonrasında indirekt güneş ışığında incelendiklerinde 1-2 mm çapında, sarı bal renginde, şeffaf, düz kenarlı ve şebnem tanesi görünümündedir. Zamanla daha koyu bir renk alarak büyürler, ancak şeffaftırlar. Kolonilere yukarıdan bakıldığında konveks ve inci beyazı rengindedir (16,35).

Gram boyamada, gram negatif kokobasiller veya kısa çomaklar şeklinde görülen bakterilerin kolonilerinden brucellaya özgü antiserumlarla lam aglutinasyon testi uygulanır.

Pozitif aglutinasyon testi, izolatin brusella olduğunun ilk kanıtıdır. Bundan sonra yapılacak işlemler tür ve biyotip tanısına yöneliktir (16,55).

2.1.3.9.Tür identifikasyonu

Tür identifikasyonu başlıca iki ana yöntemle tayin edilir. Bunlardan ilki Tibilisi fajı ile lizisdir. İkinci yöntem ise, monometrik metotlarla izolatin 14 çeşit amino asit ve karbonhidratı oksidasyon ile metabolize etme kabiliyetlerinin incelenmesidir. Oksidatif metabolik testler zaman alıcı, yetişmiş elemene ihtiyaç gösteren ve pahalı testler olduğundan ancak referans laboratuvarlarında taksonomik amaçlı çalışmalarda kullanılmaktadır (53). Rusya'nın Tbilisi eyaletinde izole edilip Tbilisi (Tb) adı verilen faj son derece stabil olduğundan referans faj olarak tür tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tb fajı rutin test dilüsyonunda (RTD) yani tam bir lizisin görüldüğü minimal faj konsantrasyonunda sadece smooth *B. abortus* kültürlerini lize eder (36).

Katalaz ve çoğu kez oksidaz pozitifler. Karbonhidratlardan asit ya da gaz yapmamakla beraber, glikozu az miktarda kullanırlar. Nitratları nitritlere indirgerler. Üreaz aktiviteleri değişken olup *B. suis* 15-20 dakikada, *B. abortus* 2 saatten sonra üreaz etkinliği göstererek besiyerinin rengini kızartırlar. *B. melitensis* saatler sonra veya olumsuz sonuç verir. Sitrat deneyi ve ONPG (Orthonitrophenyl-beta-D-galactopyranoside) negatiftir. İndol ve asetil metil karbinol (Voges Praskauer) oluşturmazlar. Metil kırmızısı testi olumsuzdur. *B. suis* en çok ve en uzun süre *B. abortus* daha az ve *B. melitensis* en az ve kısa süre H₂S oluştururlar. Brusella bakterilerine karşı ilk defa izole edilen bakteriyofajlar, hem genus hem de tür düzeyinde identifikasyon için kullanılmaktadır. Brusella fajları 6 grupta sınıflandırılmıştır. Grup 1: Tbilisi (Tb), Grup 2: Firenze (Fi), Grup 3: Weybridge (Wb), Grup 4: Berkeley (BK0, BK1, BK2), Grup 5: R, R/O, R/C, Grup 6: İzatnagar (Iz). Tb, Fi, Wb ve Berkeley fajları R formundaki Brusella bakterileri için litik değildir. R/C fajı S formundaki Brusella türleri ile *B. melitensis* ve *B. suis* dahil bazı Brusella türlerinin R kolonilerine de litik etki göstermektedir. Tb fajı rutin test dilüsyonunda (RTD) *B. abortus*'un S kültürlerini lizise uğratır. Fakat *B. suis* ve *B. melitensis* kültürleri etkilenmez. *B. suis* RTD'nin 10⁴ katı konsantrasyonda kısmen lizise uğramasına rağmen *B. melitensis* Tb fajı ile hiçbir şekilde lizise uğramaz (38,43).

Brucella türlerinin biyotip düzeyindeki identifikasyonları başlıca dört temel test ile yapılmaktadır. Bunlar; A) CO₂ gereksinimi, hidrojen sulfid (H₂S) üretimi , B) bazik fuksin ve tiyonin boyaları ile inhibisyona duyarlılık ve C) monospesifik A, M ve R anti-serumları ile

aglutinasyondur (35,50). *B. abortus*'un bazı biyotipleri genellikle ilk izolasyonlarında ve *B. ovis* her zaman üremeleri için %5-10 CO₂'e ihtiyaç gösterirler (46,47). Yeni izole edilen suşların kültür pasajlarına başlamadan önce CO₂'e olan ihtiyacının kontrol edilmesi, aksi halde takip eden pasajlarda bu gazın ihtiyacın yitirilebileceği ve H₂S testinin de ilk pasajlarda uygulanmasını ve kurşun asetatlı kağıtların dört gün süreyle hergün değiştirilerek kontrol edilmesi gerektiği bildirilmektedir (16,57). Temel besiyerlerine 1/50 000 konsantrasyonunda katılan bazik fuksin ve tiyinin varlığında *Brucella* türlerinin üreme kabiliyetlerinin belirlenmesi, biyotiplendirmede kullanılan testlerdendir (16,55). Bu boyalar, kömür katranından elde edilmekte; bakterilerin bu maddelerle doğada karşılaşmaları pek mümkün olmamakta ve muhtemelen bu boyaların kimyasal yapılarının memeli dokularında bulunan bazı maddelere benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (35). Esendal ve ark. Tiyonin 40, 20 ve 10 mikrog/ml ve bazik fuksinin 20 ve 10 mikrog/ml konsantrasyonundaki solusyonlarına emdirilmiş disklerin kullanımının, *Brucella* spp. üzerinde bu boyaların bakteriyostatik etkilerinin incelenmesinde güvenilir bir metod olduğunu bildirmişlerdir (59).

Tüm "smooth" brucella suşları anti-A anti-M veya her iki monospesifik anti-serum ile aglutine olurlar. Bu iki yüzey antijeninin "smooth" suşlarda dağılımının kantitatif bir farklılık göstermesi, A ve M monospesifik antiserumların biyotiplendirmede kullanımının temelini oluşturmuştur. A ve M antijenleri türlere ve biyotiplere göre farklı orandadırlar. *B. abortus*'un biyotip 1,2,3 ve 6; *B. suis*'in biyotip 1,2,3; *B. melitensis*'in biyotip 2 ve *B. neotomae*'nin A antijeni dominant iken *B. abortus*'un biyotip 4,5,9; *B. suis*'in biyotip 5 ve *B. melitensis*'in biyotip 1 inde M antijeni dominanttır (57).

Tablo 2.1. Brusella türlerinin ayırt edici özellikleri.

Tür	Biovar	CO ₂ ihtiyacı	Üreaz etkinliği	H ₂ S üretimi	Boyalarda Üreme					Aglütinasyon			Tb fajı eritme	
					Tiyonin		Bazik fuksin			Anti A	Anti M	Anti R	RTD	10000xRTD
					a	b	c	a	b					
<i>B. melitensis</i>	1	-	D	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	2	-	D	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	3	-	D	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>B. abortus</i>	1	±	1-2h	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
	2	+	1-2h	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
	3	±	1-2h	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
	4	±	1-2h	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+
	5	-	1-2h	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
	6	-	1-2h	±	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
	7	-	1-2h	±	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	8	+	1-2h	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
	9	±	1-2h	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
<i>B. suis</i>	1	-	0-30dk	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+
	2	-	0-30dk	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+
	3	-	0-30dk	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>B. rangifer</i>	4	-	0-30dk	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>B. neotomae</i>	1	-	0-30dk	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
<i>B. ovis</i>	1	+	0	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>B. canis</i>	1	-	0-30dk	-	+	+	+	-	±	-	-	+	-	-

2.1.4. Patogenez

Brusella bakterisi, gastrointestinal sistem, deri, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra, ilk üremesini bölgesel lenf bezlerinde (mezenterik, aksiller, servikal, supraklavikular) yapar. Bakterinin oral yoldan alımında mide asidinin yetersizliği veya herhangi bir ilaçla ya da diyetle nötralize edilmiş olması, bakterinin geçişini kolaylaştırır. Bu durumda *B. abortus* daha fazla saptanabilir (3). Daha sonra hematogen yolla retikülo endotelyal sistem (RES) organlarına ve tüm vücuda yayılır. Yerleştiği başlıca organlar; karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrek, endokard, santral sinir sistemi, testis ve overlerdir. Brusella cinsi bakteriler fakültatif intrasellüler patojenler olup, konakçının fagositik hücreleri içerisinde çoğalabilirler. 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 antikör 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 epitelooid hücreler, plazma hücreleri ve mononükleer hücrelerle çevrili granülomlar, brusellozdaki karakteristik histopatolojik görünümü oluşturur. 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 klinik tablosu, sorumlu brusella türüne göre değişmektedir. En virülan suş *B. melitensis*'tir. *B. suis*'de invaziv etkilidir ve yerleştiği bölgede fokal nekroz ve süpürasyonlara sebep 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 (59).

Normal insan serumu bazı Brusella türlerine bakterisid etki gösterir ve polimorf nüveli lökositler tarafından fagosit olmaları için opsonize eder. *B. melitensis* serumun bakterisid etkisine dirençlidir ve bu etkenin diğer türlere göre daha virülan olmasını açıklar. Bakteriler lenf bezleri, karaciğer, kemik iliği ve diğer retiküloendotelyal sistemde (mononükleer fagositler sistem) intrasellüler olarak çoğalırlar. Burada hızla ölebildikleri gibi çoğalarak fagositik hücreyi harap da edebilirler (60).

Toksik olduğu tespit edilen hücre duvarının bir komponentinin barsak bakterilerinin endotoksini ile benzer olduğu ve hastalık patogenezeine yardım ettiği düşünölmektedir. Endotoksin niteliğindeki bu maddenin virölan ve avirölan suşlarda aynı yapı ve miktarda olduğu, fakat virölan suşlarda avirölan olanlara göre hücre içinde daha çabuk üredikleri belirtilmektedir. Endotoksine karşı duyarlı olmanın, hastalandırıcılıkta rolü olduğu sanılmaktadır. Ayrıca hayvanın fetüs zarlarında brusellalar için bir gelişme faktörü olan eritritol yapısında bir madde saptanmış olup, gebe hayvanların brusellalara karşı duyarlı olmaları bu şekilde açıklanmaktadır. İnsan plasentasında eritritol bulunmaz. Bundan dolayı insanlarda genellikle, brusella enfeksiyonlarına bağlı abortuslara rastlanmaz. Daha çok *B. melitensis*'te olmak üzere S-R varyasyonu ile birlikte geriye dönücü olmayan bir virölans azalması görölmektedir. İnekler çoğu zaman *B. abortus*, bazen *B. melitensis*, nadir olarak da *B. suis* ile enfekte olurlar. Bu hayvanlarda enfeksiyon akut belirtiler ile birlikte veya bunları göstermeden septisemi şeklinde kendini gösterir ve mikroorganizmalar lenf nodülleri, dalak ve karaciğerin retiköloendotelial hücrelerine ve ürogenital sisteme yerleşir. Hayvanların sütü ile bakteriler bol miktarda dışarı çıkar. Sığırlar arasında enfeksiyonun yayılmasında en tehlikeli yol, sürüler içine karıştırılıp enfekte olan boğaların daha sonra suni tohumlama amacı ile kullanılmalıdır. Keçiler ise genellikle *B. melitensis* ile enfekte olurlar ve enfeksiyonun insana bulaşmasında en etkili kaynaktırlar. Zira bir keçi yaklaşık 6-7 ay kadar sürekli bakteri saçmaktadır. Koyunlarda enfeksiyon etkeni çoğu zaman *B. melitensis*, bazen de *B. abortus* veya *B. suis*'tir. Koyunlar, keçilere oranla etrafa daha kısa süreyle bakteri yayarlar. Domuzlar *B. suis* ile enfekte olmaktadır. Ayrıca, *B. abortus* ve nadiren *B. melitensis* hastalık oluşturabilmektedir. İnsanlarda *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* ve *B. canis* dışında Rusya da çiftçiler arasında Ren geyiğinden kaynaklanan *B. rangiferi terandi*'nin oluşturduğu 1975 de 10 ve 1976 da 11 olgu bildirilmiştir (45).

Brusella enfekte ettiği konakta hem hücresel hem de hümorale immun yanıt meydana getirir. Humoral immünite reenfeksiyona karşı korunmada etkili iken, bakterisidal fazda hücresel immünite daha önemli bir görev almaktadır. Enfeksiyonun kontrolü ve eradikasyonu, T lenfositlerden salgılanan lenfokinlerin makrofajları aktive etmesi ile sağlanır. Hastalığın 7-10. günlerinden itibaren duyarlı lenfositlerden salınmaya başlanan lenfokinler makrofajları uyarmakta, intrasellöler mikroorganizma öldürme işlemi hızlanmakta ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılığın da gelişimi ile organ granölomları meydana gelmektedir (61). Brusellozda şimdiye dek belirlenebildiği kadarı ile humoral immünite S-LPS'ne karşı gelişmektedir (62).

Akut enfeksiyonda ilk olarak IgM artar ve ilk hafta (veya haftalar) içinde tanımlanan tek immünglobulin olabilir. IgM antikorları hastalığın başlangıcından sonraki 3 ay civarında

düşmeye başlar. IgG antikor seviyesi ise genellikle hastalığın ikinci haftasında artmaya başlar ve tedavi edilmemiş hastalarda en az 1 yıl yüksek kalır. IgA antikorlar IgG den sonra tanımlananabilir fakat tanıda değeri yoktur. Yeterli tedavi edilmemiş hastalarda brusellaya spesifik IgG'lar genellikle görülmez veya başlangıçtan sonraki 6 ay içinde çok düşük seviyelere iner. IgG antikor titrelerinin persistan yükseliği RES'deki veya diğer enfeksiyon odağındaki intra selüler organizmaların varlığını sürdürmesine bağlı olabilir. Bu bir teoridir ve ilave çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir. Reenfeksiyon veya eksaserbasyonda IgG ve muhtemelen de IgM titrelerinde yükselme olur. Bununla birlikte bruselloz relapsında IgM antikorlarının yüksek seviyede kalması tartışmalıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bruselloz relapsı olan hastalarda IgG de artışı görülmesine rağmen IgM de artış görülmemiştir. Bazı hastalarda RF ve ANA pozitifliği saptandığı için, akut bruselloz sıklıkla immün kompleks hastalığı olarak tanımlanmasına rağmen esasında mikroorganizmanın kendisi olan enfeksiyona bağlıdır (21,52,63).

2.1.5. Klinik belirti ve bulgular

Bruselloz sistemik bir hastalık olup çok geniş bir klinik yelpazeye sahiptir. Genelde semptomlar nonspesifiktir. Yaklaşık 2-3 haftalık inkübasyon (bu süre 1 haftadan 3 aya kadar değişebilir) periyodunu takiben akut hastalık semptomları ortaya çıkar (3,64). Hastalık genellikle halsizlik, iştahsızlık, kas-eklem ağrıları ve subfebril ateşle, yani genel enfeksiyon belirtileri ile başlar. Brusellozda belirti ve bulgular nonspesifiktir, herhangi bir organ veya sistemi tutabilir. Hastalık altta yatan hastalık olup olmamasına, kişinin immün durumuna ve bakterinin türüne bağlıdır. Klinik olarak akut, subakut veya kronik olabilir. Akut brusellozda genellikle kırgınlık, baş ağrısı ve anoreksi görülür. Yoğun terleme, üşüme, ateş ve zayıflama vakaların %90'ından fazlasında görülür. Kilo kaybı miyalji ve artralji, sırt ağrısı görülür (2,3,63).

Hastalarda yorgunluk, halsizlik bulguları ile birlikte intermittan veya remittan ateş olur. Ateş üşüme, titreme ile 40-41°C'a kadar yükselebilir. Ateş genellikle gece yarısından sonra bol terleme ile düşer. Bazen 7-10 gün bu şekilde devam eden ateş, yükseldiği gibi yavaş yavaş düşerek 37°C'a dek iner. Üç-beş günlük ateşsiz dönemi takiben başlangıçta olduğu gibi ateşin tekrar yükseldiği görülür. Tarif edilen bu ateş şekli, bruselloz için tipik ondülan ateş trasesi olarak tanımlanmakla birlikte, pratikte ondülan ateşe sık rastlanmamaktadır. Brusellozda ateş genellikle remittan veya intermittan olarak seyreder (65).

Fizik muayenede, hastalarda %10-20 oranında lenfadenopati (LAP), %20-30 oranında da hepatomegali ve splenomegali izlenir. Belirli bir organ tutulumu ön planda ise hastalık fokal veya lokalizedir (3).

Hastalık, semptomların süresine göre; akut (8 haftadan kısa), subakut (8-52 hafta) ve kronik (52 haftadan uzun) olarak sınıflandırılmıştır (66,67).

1. Akut form: Bu tipik form olup, semptomlar 8 haftadan kısa sürelidir. Özellikle geceleri yükselen ateş, halsizlik, baş ağrısı, kilo kaybı, artralji, myalji, kabızlık, iştahsızlık, sırt ağrısı görülebilir. Fizik muayenede ateş(%95), hepatomegali(%20), splenomegali(%20-30), servikoaksiller bölgede hafif lenfadenopati(%12-20) vardır. Hastalarda genellikle lökositoz görülmez. Olguların üçte birinde lökopeni görülür. Bazı olgularda anemi, trombositopeni görülebilir. Sedimentasyon artışı hastaların %25'inde saptanabilir. Bu devrede kan kültüründe izolasyon sıklığıdır (3,68).

2- Subakut form (Ondülan tip): Semptomların süresi 8-52 hafta arasındadır. Bu gruba tedavi almamış, yetersiz tedavi almış ya da doğru olmayan tedavi almış hastalar girmektedir. Semptomlar hafif olup artrit daha sıklığıdır. Genç erkek hastalarda orşit ve epididimit sık görülür. Sıklıkla hepatomegali vardır (3,68).

3. Kronik form: Hastaların şikayetlerinin 1 yıldan fazla (52 haftadan uzun) sürdüğü devre olup nüks ve komplikasyonların izlendiği dönemdir. Bu hastalarda fizik bulgular akut ya da subakut olgulardaki kadar fazla değildir. Halsizlik, yorgunluk, sinirlilik, uykusuzluk, emosyonel labilite, belli belirsiz kas ağrıları bel baş ağrısı gibi depresif belirtiler ön plandadır. Oküler hasar (episklerit, üveit) ve spondilit izlenebilir. Bu dönemde bakterinin izolasyonu kemik iliğinden yapılabilir; ayrıca düşük oranda kan kültüründen de izole edilebilir (3,68).

Tedavi sonrası birkaç ay içinde yeniden ortaya çıkan brusella enfeksiyonları nüks (relaps) ya da reenfeksiyona bağlıdır. Olguların %5'inden fazlasında relaps görülür. Genellikle hastalıktan 3-6 ay sonra gelişir. Genellikle viral bir hastalık veya travma sonrası ortaya çıkar. Relapsın sebebi bakterilerin fagositler içinde, granülomlarda ve süpüratif odaklarda bulunmasıdır. Yüksek ateş ve daha şiddetli semptomlarla seyredebilir ve reenfeksiyondan ayrılması güçtür (2).

2.1.6. Komplikasyonlar

Brusella enfeksiyonları akut sistemik belirtilerin yanı sıra veya bunlar olmadan lokalize organ tutulumlarıyla da ortaya çıkabilir (3).

2.1.6.1. Kas iskelet sistemi bulguları

Ateşle birlikte en önemli ikinci bulgu kas ve eklem ağrılarıdır. Osteoartikuler komplikasyonlar vaka serilerinde %10-%80 olarak rapor edilmiştir (3). Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ateş ve terleme azalırken, hareket sistemi bulguları ön plana çıkar. Hastalığın geç dönemlerinde, yakınmaların non spesifik olması nedeniyle tanı koymak güçleşir. Hastaların bir kısmı nörotik olduğu düşünülerek psikiyatri kliniklerine dahi gönderilebilirler. Kas ağrıları bazen erken dönemde çıkar ve tek bulgu olabilir. Eklem bulguları hastalığın 3. ve 4. haftasında en sıktır. Spontan ağrı dışında hareketlede duyarlılık artar. Tedavide başlandıktan sonra kısa süre içinde şikayetler azalır veya kaybolur. Tedavinin erken kesildiği veya yeterli dozda uygulanmadığı durumlarda şikayetler tekrar ortaya çıkabilir. Bruselloz tüm eklemleri tutabilmekle birlikte daha çok sakroiliak, kalça, omuz, diz, el ayak bileklerini tutar. Spondilit genellikle hastalığın 1-2. ayında ortaya çıkar, ateşle ilgili değildir. Spondilit brusellozlu hastaların %10-65 inde görülür. Hastalığın seyri sırasında vertebralarda meydana gelen harabiyet, abseleşmeye neden olabilir. Spondilitle beraber sakroileit, nörobruselloz, genç erişkin hastalarda orşit, epididimit görülebilir. Radyolojik değişiklikler en çok vertebra korpuslarının kenarlarında dikkat çekicidir. İntervertebral aralıklarda daralma %90 vakada saptanabilir(2,3). Çoğu olguda tutulum monoartikülerdir, hastalarda sıklıkla gece ağrıları ve lasek testi pozitifliği vardır (3,67).

Bruselloz artritinde eklem sıvısı incelendiğinde mononükleer hücrelerde artış vardır ve vakaların yarısında bakteri tespit edilebilmektedir. Bazı hastalarda ise dolaşan immün komplekslere bağlı reaktif postenfeksiyöz spondiloartropati meydana gelebilir. Artrit ve sakroileit akut hastalıkta ve pediatrik hastalarda daha sık görülürken; spondilit, vertebral osteomyelit ve paravertebral abse sıklıkla kronik hastalıkta ve yaşlı hastalarda görülür (3).

2.1.6.2. Gastrointestinal Sistem Tutulumu

Hastaların %70'inde GİS semptomları bulunmaktadır. Bunlar arasında, iştahsızlık, karın ağrısı, bulantı, kusma, ishal veya kabızlık, kilo kaybı yer alır (2,3). *B. melitensis*'in yol açtığı kolit ve ileit olguları bildirilmiştir. Brusellozlu hastalarda dalak ve karaciğer büyüklüğü genellikle birlikte bulunur. *B. abortus* granülomatöz hepatit yaparken, *B. melitensis* enfeksiyonunda periportal mesafelerde mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra akımının

bozulması ve sarılık gelişimi görülebilir. Bununla beraber karaciğer fonksiyon testlerindeki artış yüksek değildir. Karaciğer ve dalakta süpüratif abse gelişimi *B. suis* bağlı enfeksiyonlarda daha sık görülmektedir. Hepatik lezyonlar antimikrobiyal tedavi ile düzelir. Brusella türleri nadiren kolesistit, pankreatit ve spontan bakteriyel peritonit nedeni olabilirler. Hastalarda karaciğer fonksiyon testleri yükselebilir (3,69).

2.1.6.3. Hematolojik bulgular

Hastalığın seyri sırasında anemi, lökopeni, trombositopeni, pansitopeni oluşabilir; Lokalize veya jeneralize lenfadenopati görülebilir (2,3). Hematolojik anormallikler genellikle geçici olup başarılı bir antimikrobiyal tedaviden sonra normale dönmektedir (3). Yetişkin hastaların %1'inde ve çocukların %4'ünde trombositopenik purpura tanımlanmıştır. Trombositopeni ağır olabilir ve bazı hastalarda steroid tedavisi veya splenektomiye ihtiyaç duyabilir (67).

2.1.6.4. Nörolojik bulgular

Brusellozda her ne kadar depresyon ve mental bozukluklar görülse de, santral sinir sistemine direkt invazyon olguların %5'inden azında görülür. Sinir sistemi komplikasyonları arasında; menenjit, ensefalit, miyelit-radikülönörit, beyin absesi, epidural abse, demyelinizan sendrom ve meningovasküler sendromlar yer almaktadır. Bunlar içinde en sık akut veya kronik menenjit görülür. Hastalıkta ilk belirti olabileceği gibi geç dönemde de ortaya çıkabilir. Vakaların %50'sinden azında ense sertliği meydana gelir. BOS incelemesinde lenfositik pleositoz vardır, protein seviyesi artmış, glukoz seviyesi normal veya azalmış bulunur. Gram boyama genelde negatiftir ve olguların 1/4 ünden azında kültür pozitifliği vardır. BOS'da özgül antikorların varlığıyla tanı konur (3,70,71).

2.1.6.5. Kardiyovasküler sistem bulguları

Brusella endokarditinde daha çok aort ve mitral kapaklar tutulur. Olguların %2' den azında endokardit gelişebilir ancak mortalite yüksektir. Endokardit şüphesi olan vakalarda ekokardiyografi ile valvüllerin durumu incelenmelidir. Bu vakalarda antimikrobik tedavi yetersiz kalabileceğinden, cerrahi girişim gerekebilir. Diğer kardiyovasküler sistem bulguları arasında miyokardit ve perikarditte sayılabilir. Akut brusellozda nadiren derin ven trombozu da görülebilir (3).

2.1.6.6. Genitoüriner Sistem

Renal tutulum olgularda nadir görülür. İnterstisyel nefrit, piyelonefrit, eksudatif glomerulonefrit ve IgA nefropatisi bildirilmiştir. Orşit brusellozlu erkeklerin %20'sinden fazlasında görülebilir. Bayanlarda ise nadiren salpenjit, servisit ve pelvik abse geliştiği bildirilmiştir (3).

Brusella hayvanlarda plasentanın koryoamniyotik zarına yerleşerek (eritriol varlığı nedeniyle) düşüklere neden olmaktadır. İnsan plasentasında eritriol bulunmaması nedeniyle insanlarda bruselloza bağlı düşük riski, diğer bakteriyel enfeksiyonların seyrinde görülebilecek düşük riskinden fazla değildir (2).

2.1.6.7. Cilt bulguları

Deri lezyonları brusellozlu hastaların yaklaşık %5'inde görülebilir (3). Hastalığın yüksek ateşle seyrettiği toksik dönemde nadir olgularda makülopapüler veya eritematoz deri döküntüleri de görülebilir. Bazan düşük yapan hayvanların plasentasını çıkartmak için müdahale eden veteriner hekim, hayvan sağlık memurları veya hayvan bakıcılarının ön kollarında bruselloza bağlı dermatit görülebilir (2,3).

2.1.6.8. Pulmoner sistem bulguları

İnhalasyon yolu ile enfeksiyonun alınan vakalarda; bronşit, bronkopnömoni, akciğerde soliter ve multipl nodül, akciğer absesi, hiler lenfadenopati ve plevral effüzyon, ampiyem meydana gelebilir. Yapılan balgam kültürlerinde *Brucella* spp. identifikasyonu nadirdir (3).

2.1.6.9. Okuler lezyonlar

Brusellozlu hastalarda çok çeşitli göz bulguları bildirilmiştir. Üveitis genellikle geç komplikasyondur. Kronik iridosiklitis, numuler keratitis, multifokal choroiditis ve optik neuritis diğer bulgulardır. Brusella üveitis bir non-enfeksiyöz immun yanıttır ve sistemik kortikosteroidlere iyi yanıt verir (3).

2.1.7.Tanı

Tanı; hastanın hikayesi, fizik muayenesi, radyolojik bulgular ve laboratuvar verileri ile konulur. Rutin laboratuvar testlerinde; lökosit sayısı genellikle normaldir veya azalmıştır. Nadiren $10.000/mm^3$ 'ün üstüne çıkar. Hastanın lokosit formülünde hafif bir lenfomonositoz

bulunabilir. Bazı vakalarda anemi ve trombositopeni de görülebilir. Eritosit sedimentasyon hızı genellikle orta derecede artmıştır. İdrar incelemesi sonucu normaldir veya hastanın yüksek ateşli olduğu dönemde febril albüminüri bulunabilir. Böbrek tutulumu olduğu zaman; idrar dansitesi düşebilir, proteinüri belirginleşir, idrar sedimentinde eritrosit, lokosit ve silendirler görülebilir (16).

2.1.7.1. Direkt tanı testleri

Bruselloza neden olan suşun kültürden izolasyonu ya da antijenlerinin ve nükleer materyallerinin moleküler tekniklerle gösterilmesi temeline dayanan testlerdir.

A.KÜLTÜR

Altın standart kabul edilen mikroorganizmanın izolasyonudur. *Brucella* şüpheli örnekler 2 saat içinde ekilmeli, mümkün değilse 2-8 °C’de saklanmalıdır. Alternatif olarak -20 °C’de saklanabilirler. Etken en sık olarak kan ve kemik iliği kültürlerinden izole edilir. Dalak, karaciğer biopsi materyalleri, abseler, eklem sıvısı, BOS gibi örneklerden de etkeni izole etmek olasıdır. Kültür için solid (katı) ve sıvı besiyerleri kullanılır. *Brucella* spp. Kanlı agar, çikolata agar, tripticase soy agarda ürer. Kan kültürleri sadece sıvı ortamlarda ve bifazik ortamlarda yapılabilmektedir. Tüm ekimler çift yapılarak biri %5-10 CO₂’li ortamda 37 °C’de enkübe edilmelidir. Otomatik sistemlerin üreme uyarı sistemleri mevcuttur. BACTEC (Becton Dickinson), BACT/ALERT (Bio-Merieux) *brucella* türlerinin üretilmesi için yeterli özelliklere sahiptir (72,73).

Brusellaların üretiminde %5 koyun kanlı agar, triptoz agar, triptikaz soy agar, serumlu dekstroz agar, gliserol dekstroz agar ve kan kültür şişeleri kullanılan besiyerlerinden bazılarıdır. Tüm temel ortamlar *brucella* dışındaki organizmaların üremesini engellemek için antibiyotik eklenerek seçici hale getirilebilir. Bu amaçla belirli oranlarda Polimiksin B, basitrasin, sikloheksimid, nalidiksik asit, nistatin, vankomisin içeren antimikrobik komplekslerin kullanılması uygun olmaktadır. Etkenin direkt izolasyonu için genelde katı besiyerleri tercih edilmektedir. Bu besiyerlerinin en önemli avantajlarından birisi gelişen bakteri kolonilerinin morfolojilerinin incelenmesiyle tanıya katkı sağlamasıdır (74).

Kronik brusellozlu vakalarda kan kültürleri her zaman olumlu sonuç vermeyebilir. Böyle subakut ve kronik bruselloz vakalarında etkenin üretilmesi için kemik iliği kültürü önerilir. Menenjitli olgularda BOS’dan hepatit belirtileri ile seyreden vakalarda karaciğerden alınan kültürle etkeni üretme olasılığı vardır. Brusellozlu hastaların kan kültürlerinden

bakteriyi izole etme oranı % 53.4-90 arasında değişmektedir ve kronik hastalarda duyarlılık oldukça düşüktür (41,75).

Kemik iliği kültürlerinden pozitif sonuç alma süresi kan kültürüne oranla daha kısa olmaktadır. Antibiyotik kullananlardan kemik iliği kültürlerinin yapılması durumunda daha olumlu sonuçlar alınmaktadır (41).

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Brusella bakterilerine disk difüzyon testi uygulanmamalıdır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2007 yılında yayımladığı dökümanda sıvı dilüsyon yöntemini önermiş ve sadece dört antimikrobik ilaç için sınır değer belirlenmiştir (76).

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

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

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

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

Yine bu standartlarda duyarlılık testlerinin en az ‘Biyogüvenlik Seviye 2’ önlemleri altında yapılması önerilmekte, bu sistemden yoksun olan laboratuvarların suşları referans merkeze göndermeleri gerektiği vurgulanmaktadır. Dilüsyon yöntemleri zaman alıcı, kolay olmayan yöntemlerdir. Son yıllarda minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) tayini yapabilen E test (AB Biodisk; Sonla, İsveç) antibiyotik duyarlılık testi, başarıyla kullanılan yöntemlerden biri olmuştur (76).

E-Test Yöntemi (AB Biodisk, İsveç): Yayılım temeline dayanan, plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiyal ajanın MİK değerinin saptanabildiği bir duyarlılık yöntemidir. Stripin bir tarafında ilaç, belirli ve sürekli bir konsantrasyon değişimi olacak şekilde bulunur. Diğer yüzünde de antimikrobiyal ajanın stripin ucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyonları bir cetvel gibi sıralanmıştır. Standart bakteri inokulumu, test için uygun katı besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra stripler yerleştirilir. İnkübasyon süresi sonunda elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenir. E-test stripleri -20°C ’de saklanır. Kullanımdan 30 dakika önce çıkarılıp oda sıcaklığına ulaşması sağlanır (76).

B. MOLEKÜLER TESTLER

1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Brusellozun tanısında 1990 yılından itibaren kullanılmakta olan PCR duyarlılığının yüksek olması, hızlı olması, herhangi bir vücut dokusunda uygulanabilmesi ve bulaştan 10 gün sonra bile pozitif sonuç vermesi açısından önemli bir gelişme olmuştur (77,78,79). Brusella teşhisinde PCR spesifik ve yüksek sensitif bir tanı aracı olarak kabul edilmiştir (80).

RT PCR (reverse transcriptase PCR) testinin çalışması için; hedef DNA, iki primer, dört nükleotid trifosfat (dNTP), polimeraz enzimi, tampon çözelti içinde magnezyum iyonları gereklidir (81,82).

2. Restriction Fragment Length Polimorphism (RFLP)

Türe özel RFLP, genusun üyelerini ayırmada kullanılabilecek moleküler testlerden biridir (25).

2.1.7.2. İndirekt tanı testleri (serolojik testler)

Bu yöntemler hastalığa neden olan mikroorganizma ya da bu mikroorganizmanın antijenlerine organizmanın verdiği bağışık yanıt sonucu oluşan antikorların serolojik olarak belirlenmesi; antijenlere karşı organizmada ortaya çıkan aşırı duyarlılığın (alerji)‘deri testleri’ ile araştırılması ile yapılan tanı yöntemleridir. Tanıda kullanılan serolojik testlerin birçoğu diğer bakterilerle çapraz reaksiyon veren antilipopolisakkarit antikorların tespitine dayanmaktadır (81).

A-HIZLI AGLÜTÜNASYON TESTLERİ

Bu testlerde bakterinin konsantrasyonu belli değildir. Alınan pozitif sonuçların serum tüp aglütinasyon testi ile doğrulanması gerekir (25).

1-Rose Bengal Testi: Serum Tüp Aglütinasyon testi (STA) ile oldukça uyumlu sonuçların alındığı tamponlanmış reaktifler ile düşük pH’da (pH: 3.65) aglütinasyon temeline dayanan tarama testidir. Ticari olarak kullanılan kitlerde *B. abortus* antijeni kullanılmaktadır. Endemik bölgelerde tüm ateşli hastalara uygulanmalıdır. En hızlı ve duyarlı tarama testidir. Piyasada bulunan Rose Bengal testlerinin sensitivitesi %96 ile %100 arasında değişir (3,74,83).

2-Lam Aglütinasyon Testi: Tam kan kullanılarak yapılan lam aglütinasyon deneyi (SPOT testi), özellikle kitle taramalarında bir ön deney olarak kullanılır (84).

3-Mikroaglütinasyon Testi: Daha kısa inkübasyon zamanı ve daha az antijen gerektiren bir testtir (23).

4-Kart Test: Esas olarak hayvan serumunu test etmek için hazırlanmış, tamponlanmış, boyanmış bakteri süspansiyonunun kullanıldığı makroskopik bir aglütinasyon testidir (84).

B-TÜP AGLÜTİNASYON TESTLERİ

1-Serum Tüp Aglütinasyon Testi (Wright Testi): Bruselloz tanısında kullanılan standart serolojik test, Serum Tüp Aglütinasyon (STA) testidir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır. *B. abortus* S99 veya *B. abortus* 1119 kökenlerinin kolonilerinden alınan bakterilerin ısı ile öldürülmüş fenollü süspansiyonundan elde edilen antijenin, hasta serumunun ardışık dilüsyonları ile karşılaştırılması esasına dayanır. Bu antijen, LPS benzerliğinden dolayı *B. abortus*, *B. suis* ve *B. melitensis*'e karşı oluşmuş antikorlar tarafından aglütine edilir (74,84). Test titresinin 1/160 ve üstü olması aktif enfeksiyon için önemli bir kanıt olarak düşünülmektedir (85). Bu testte yalancı negatiflik sonuçları; prozon fenomeni, hastalığın erken döneminde olması ve blokan antikor varlığında gözlemlenebilir. Prozon'da; aglütinasyon, serumun düşük dilüsyonunda ve özellikle serumun yüksek titrede antikor içerdiği durumlarda maskelenebilir. Sıklıkla 1/20 dilüsyonda görülür; 1/80 ve üstü dilüsyonlarda nadirdir (25,78)

Üç haftalık bir hastalık süresinden sonra, hastaların %97'sinden fazlasında enfeksiyon serolojik olarak saptanabilir. Uygun antibiyotik tedavisine karşın olguların %5-72'sinde anlamlı STA testi titrasyonları iki yıla kadar yüksek kalabilmektedir (84). Diğer bir dezavantajı ise bu testin *B. canis* enfeksiyonu tanısında kullanılmamasıdır (77). Yalancı pozitif sonuçlar ise *Francisella tularensis*, *Escherichia coli* O116 ve O157, *Salmonella enterica* serovar *urbana* , *Yersinia enterocolitica* O:9, *Vibrio cholerae*, *Xanthomonas maltophilia* ve *Afipia chevelandensis*'e karşı oluşan antikorlar ile çapraz reaksiyona bağlıdır. Yalancı pozitif ve negatif sonuçlar sulandırımın 1/320'den daha fazla yapılmasıyla önlenemez (3).

2-Diamino 6,9 Etoxy Acridin (Rivanol) ve 2-Mercapto Ethanol'ü Aglütinasyon Testi:

Bu testler; immunglobulin (Ig)M pentamerinin disülfid bağlarının indirgenmesini temel alır ve serumun bu maddeler ile muamelesi sonucu Ig M aglütinasyon yeteneğini kaybederken IgG etkilenmeden kalır. STA aglütinasyon yapan antikorların (IgG ve IgM) total miktarını belirlerken bu testler IgG miktarını tespit için kullanılır (74). Bu maddelerle işlem görmüş serumlarla yapılan aglütinasyon deneylerinin yine olumlu bulunması Ig G antikorlarına bağlı olup hastalığın kronikleştiği anlamını taşır (86). STA ile bu testin birlikte kullanımı akut olguların ayırt edilmesinde ve takibinde önemlidir (87).

3-Coombs Testi: Bazen subakut brucelloz olgularında klinik olarak brucelloz düşünülmeyle birlikte brucella aglütinasyon testi yalancı negatif sonuç verebilmektedir. Bu hastaların serumları blokan antikorlar açısından araştırılmalıdır. Aglütinasyon deneyinde aglütinasyon vermeyen tüplerdeki bakteriler tuzlu su ile üç kez yıkanıp küçük tüplerde yeniden süspansiyon hazırlandıktan sonra her tüpün üzerine birer damla Coombs serumu (anti insan serum globulini) damlatılır. Tekrar etüve kaldırılarak 24 saat sonra yeniden değerlendirilir. SAT’de nadir de olsa yersinia, tularemi ve kolera antikorları varlığında yalancı pozitif sonuçlar alınabilir (2). Brucella aglütinasyon testi bazen prozon olayı nedeniyle ilk tüplerde yalancı negatif fakat 1/320 ve üzeri tüplerde pozitif bulunabilir. Antijen olarak *B. abortus* 119’un standart ısı öldürülmüş fenollü bakteri süspansiyonu kullanılır (16).

C-ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Akut ve kronik brucelloz tanısında immünglobulin sınıflarının profilini veren hızlı, yüksek duyarlılıklı, özgül ve güvenilir bir yöntemdir (88). Nörobrucelloz vakalarında, BOS’ta antikor aramak için ELISA testi uygun bir yöntemdir (72). Hastalığın seyri sırasında IgG, IgM, IgA antikor titrelerindeki değişiklikler ELISA yöntemiyle klasik serolojik testlerden daha iyi tespit edilir ve bu test kronik brucelloz tanısında iyi bir seçenektir (89,90). Son zamanlarda geliştirilen ‘Competitive Enzyme Immunoassay (CELISA)’ testinin özgüllüğü %96.5-100; duyarlılığı ise %94.8-100 arasında bulunmuştur. İnsan brucellozunun tanısında uygun bir test olduğu ve bir doğrulama testi olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (91).

D.KOMPLEMAN FİKSASYON TESTİ (KFT):

STA testi sonuçlarının yetersiz kaldığı veya negatif olduğu inkübasyon dönemi, geç kronik dönem veya aşılmalarda KFT önemli bir tanı yöntemidir (3). Antikomplement

aktivitenin ortaya çıkması, kompleman gibi kararsız reaktiflerin kullanılması, hastalığın başlangıç dönemlerinde kompleman fiksasyonuna yanıtın tespit edilmesindeki yetersizlik ve teknik gereksinimler gibi dezavantajlara sahiptir (74,92).

E.BRUCELLACAPT

Total anti-brucella antikorlarının immunocapture-aglütinasyon tekniği temelinde bruselloz tanısı için yeni bir testtir. Tanısal etkinliği Coombs testine eşittir (93).

F.BRUCELLA DİPSİTİCK TEST

Brusella spesifik IgM antikorlarının araştırılması için yararlıdır. Uygun laboratuvar şartları olmayan yerlerde ve kırsal bölgede hızlı tanı testi olarak kullanılabilir (94). Dipstick ısıya direçli antijeni; *B. abortus* 1119-2'nin sıvı kültürünün yıkanmış hücrelerinin 95°C'de ısıtılmasını takiben hücre kalıntılarının santrifügasyon ile kaldırılmasıyla hazırlanır. Hazırlanan bu preparat nitroselüloz banda belli bir çizgi olarak nitroselülozu kaplayarak uygulanmıştır. Testin sensitivitesi hastalığın ilk 2 ayında %89 ve hastalığın 2-4 aylarında %83.1 olarak bulunmuştur. Testin hesaplanan spesifitesi ise %98.6 olarak bulunmuştur. Testin uygulanmasının kolay oluşu, özel ve çok fazla deneyimli personel gerektirmemesinden dolayı saha kullanımı için uygun olduğu belirtilmiştir (95).

G. FLORESAN POLARİZASYON DENEYİ

Floresan depolarizasyon deneyinin sığır, domuz, koyun, keçi ve bizon gibi hayvanların brusellozunun serolojik tanısında uygun olduğu kabul edilmektedir (96).

H. IMMÜNFLORESAN TEST (IFT)

Konvansiyonel metodlarla karşılaştırıldığında farklı antikor sınıflarını saptamada kullanılır (84).

İ. DERİ TESTLERİ

Geç tip aşırı duyarlılık testleri bruselloz tanısında yardımcı olmakta, özellikle geviş getiren hayvanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda da kullanılan bu testlerde; antijen olarak öldürülmüş *Brusella* bakterileri, saflaştırılmış bakterilerin 21 günlük kültür süzüntüleri ve ticari olarak hazırlanmış saflaştırılmış rekombinant bakteri proteinleri kullanılmaktadır. Testte kullanılan antijenlerin lipopolisakkarit içermemesi gerekmektedir.

Aksi halde diğer Gram negatif bakteri enfeksiyonlarda çapraz reaksiyonlar alınması nedeniyle testin tanısal değeri olmaz. Brusellin alerjik deri testleri; tarama testi veya tamamlayıcı test olarak yardımcı olmaktadır. Brusellozun alerjik tanısında en sık kullanılan test ‘Brucellergen’ deri testidir. Brucellergen bir nükleoprotein kompleksi olup deri içine şırınga edildikten sonra 24 saat içinde enjeksiyon yerinde kızarıklık, ödem ve sertlik meydana gelmesi durumunda kişinin Brusella bakterilerine karşı aşırı duyarlı olduğuna karar verilir (74).

J. Radio Immuno Assay (RIA) : Testte kullanılan anti-human antikorlar ¹²⁵Iodine ile işaretlenir ve Brucella’ya karşı oluşan antikorlar saptanır. Bu testin duyarlılığının yüksek olmasına rağmen kompleks olması ve radyoaktif madde kullanılması nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır (78,83).

2.1.8.Radyolojik tetkikler

İskelet sistemi tutulumu olan olgularda direkt filimler yararlıdır. Radyolojik değişiklikler en çok vertebra korpuslarının kenarlarında dikkat çekicidir. İntervertebral aralıklarda daralma %90 vakada saptanabilir. Vertebral osteomyelit, sakroileit veya artritten şüphelenilen olgularda ilgili bölge bilgisayarlı tomografi (BT) veya magnetik rezonans (MR) ile görüntülenmelidir. Organ ve eklem tutulumlarının belirlenmesinde radyoizotop maddeler ile yapılan sintigrafik tetkikler tanı koydurucudur. Tc 99m MDP (metilen difosfonat) kemik sintigrafisi bruselloza bağlı osteoartiküler komplikasyonların teşhisinde oldukça kullanışlıdır (66,97).

2.1.9.Tedavi

Brusella türlerinin intrasellüler yaşaması, mikroabseler yapması ve granülomlar oluşturması tedavide problemler yaratmaktadır. İn vitro çalışmalarda birçok antibiyotiğin brusella suşlarına etkili olmasının belirlenmesine karşın, bu bakterilerin makrofaj ve retikuloendotelial sistem hücrelerine yerleşmeleri nedeniyle in vivo tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Bu hücrelerin içinde yüksek konsantrasyonlara ulaşamayan antibiyotiklerle yapılan tedavi başarısız olmaktadır. Bu nedenle verilen antibiyotiğin mutlaka makrofajlar içine girebilmesi, özellikle de intralizozomal düşük pH’da inaktive olmaması ve tercihen bakterisid etkili olması gerekir. Tedavide başarı, ilaçları kombinasyon halinde kullanmaya ve tedavi süresini uzun tutmaya bağlıdır. Antibakteriyel ajanlar brusellozun tedavisinde semptomların süresini kısaltır ve komplikasyonların insidansını azaltır (3,67,98).

Tedavi rejiminin seçimi ve antimikrobiyal tedavinin süresi fokal hastalığın varlığına ve hastanın yaş, gebelik, alerji gibi şartlarına bağlı olarak seçilmelidir. Brusella bakterilerine invitro etkili antibiyotikler; tetrasiklinler, trimetoprim/sulfametoksazol, rifampisin ve florokinolonlardır (99). İn vitro etkili olmalarına karşın penisilinler, kloramfenikol, eritromisin, I. ve II. kuşak sefalosporinler in vivo tedavide etkisiz olduklarından kullanılmamalıdır. İmipenem'in de etkili olduğunu gösteren bazı araştırmalar vardır (3,100). Diğer aminoglikozitlerin kullanımına yönelik çalışmalar da yapılmaktadır, streptomisin yerine gentamisin (5 mg/kg/gün) veya netilmisin (10-14gün) kullanılabilir. Tobramisine in vitro direnç vardır (3,71,101,102).

Ko-trimaksazol, bruselloz tedavisinde başta monoterapi şeklinde uygulanmış, ancak yüksek relaps oranları nedeniyle terkedilmiştir. Ko-trimaksazol, rifampisin veya aminoglikozidlerle kombine edilerek 8 yaşından küçük çocuklarda, gebelerde, emziren annelerde ve tetrasiklin türevlerine intoleran hastalarda kullanılabilir (3,102,103).

Kinolonlar, hücre içinde geçişlerinin iyi olması nedeniyle bruselloz tedavisinde monoterapi olarak denenmiş, fazla relaps görülmesi üzerine kombine tedavi rejimleri içinde kullanımına başlanmıştır (3,102). Yine makrolitlerden azitromisin, brusella tedavisinde tek başına veya streptomisin ile kombine tedavileri hayvan çalışmalarında denenmiş, ancak standart tedavi rejimleri kadar başarılı bulunmamıştır (102,104).

Brusellozda tedavi, DSÖ'nün de önerdiği şekilde ikili, bazı durumlarda da üçlü kombine antibiyotik uygulanması şeklindedir. Tek antibiyotik kullanımı, hızlı direnç gelişimine ve bakterinin intrasellüler çoğalabilmesi nedeni ile yetersiz kalarak tedavi başarısızlığına ve relaps gelişmesine neden olmaktadır. Tedavide en etkin ajanlar tetrasiklinlerdir. İlk seçilecek tedavi rejimi, doksisisiklin 2x100mg, oral (6 hafta) + streptomisin 1gr/gün, İM (3 hafta) kombinasyonudur. Bu kombinasyon relaps oranı en düşük tedavi rejimidir. İkinci seçilecek tedavi rejimi, doksisisiklin (2x100mg)+ rifampisin(1x600-900mg) (6 hafta)süreyle kombine kullanımıdır (3,67,101,102).

DSÖ 1971 yılında, 3 hafta tetrasiklin 2 gr/gün, oral (6 saat ara ile 500 mg) ve 2 hafta streptomisin 1 gr/gün, intramuskuler kombinasyonunu önermiştir. Tetrasiklin ve streptomisin sinerjik etkili olmalarına karşın, bu tedavi ile nüks oranı %15-26 arasında saptanmıştır. 1981 yılında DSÖ tarafından bruselloz tedavisi; tetrasiklin 2 gr/gün, oral (6 saat ara ile 500 mg) 6 hafta ve streptomisin 1 gr/gün, intramuskuler (total 20 gr olacak şekilde) 3 hafta süreyle kullanılması şeklinde önerilmiştir. Bu tedavi ile nüks oranı %2.8-8.4'lere düşürülmüştür (3,105).

1986 yılında ise yine DSÖ tarafından hastalığın tedavisinde değişiklik yapılmış ve uzun etkili bir tetrasiklin türevi olan doksisiklinin 200 mg/gün (12 saat ara ile 100 mg) ve rifampisin tek doz 600-900 mg/gün kombine olarak 6 hafta uygulanması önerilmiştir (106).

2.1.9.1.Nörobruselloz tedavisi:

Nörobruselloz tedavisinde kullanılan ilaçlar BOS'a iyi geçebilmeli ve tercihen bakterisid etkili olmalıdır. Tetrasiklin grubu antibiyotiklerden doksisiklin yağda eridiğinden BOS'a geçişi daha iyidir. Streptomisin kan-beyin bariyerini yeterince aşamamaktadır. Rifampisin ise BOS'a iyi geçmesi sebebiyle her kombinasyonda kullanılması gereken bir ilaçtır (103,107). Brusella menenjit tedavisinde, bakterinin duyarlı olduğu belirlenen III. kuşak sefalosporinler, BOS'a iyi geçebilmeleri nedeniyle tercih edilirler(3). Nörobruselloz tedavisinde en uygun tedavi rejimi ve süresi konusunda fikir birliği yoktur. Fikir birliği olmasa da doksisiklinle beraber rifampisin, TMP/SMZ, siprofloksasin, streptomisin, gentamisin, seftriaksonun 2'li veya 3'lü olarak 3-9 ay süreyle kullanılması önerilmektedir. Bu süre belirti ve bulgulara göre bireyselleştirilebilir. Ancak genellikle BOS proteini normale dönünceye, hücre sayısı 100/ mm³ ve altına ininceye, ayrıca BOS'da antikor titresi azalmaya başlayıncaya kadar tedaviye devam edilir (108,109).

2.1.9.2.Lokomotor Sistem Tutulumu Olan Bruselloz Olgularında Tedavi:

Osteoartiküler tutulum gösteren olgularda tedavi süresi uzun olmalıdır (en az 8-12 hafta). Spondilitte cerrahi tedavi spinal instabilite, 'cauda equina' sendromu, ekstradural inflamatuvar basıya bağlı ağır kas güçsüzlüğü veya vertebra cisminde kollaps durumunda uygulanmalıdır (2).

2.1.9.3.Endokarditli Bruselloz Olgularında Tedavi:

Brusella endokarditinin tedavisinde doksisiklin ile birlikte iki farklı ajanın kombine kullanılması gereklidir. Doksisiklin + rifampisin ± ko-trimaksazol kullanılabilir. Çoğu vaka medikal tedaviye ilaveten cerrahi girişim de gerektirir. Tedavi süresi 6-9 ay olabilir (3,71).

2.1.9.4.Çocuklarda Bruselloz Tedavisi:

Sekiz yaşından küçük çocukların tedavisinde rifampisin + ko-rimaksazol (4-6 hafta) veya rifampisin(4-6) hafta + gentamisin (5 mg/kg/gün) (5-10 gün) verilebilir (3,71).

2.1.9.5.Gebelerde Bruselloz Tedavisi:

Gebelik ve emzirme döneminde rifampisin + ko-trimaksazol veya rifampisin + gentamisin veya seftriakson kombinasyonları tercih edilmelidir (3,71).

2.1.9.6.Özel Durumlarda Tedavi Yaklaşımı:

Hepatik, splenik, paraspinal veya diğer yerleşimli brusellar apselerin tedavisinde medikal tedaviye ilaveten apsenin cerrahi drenajı sağlanmalıdır. Bu olgularda da tedavi süresi hastaya göre ayarlanmalıdır (71,104).

2.1.10.Korunma ve Kontrol

İnsanlarda brusellozun önlenmesi, evcil hayvanlarda brusellozun kontrolü ve eradikasyonuna bağlıdır. Bu açıdan veteriner hekimlerin tıp doktorlarıyla işbirliği halinde çalışması önem taşır. Brusellozun korunma ve kontrolünde; kuzu ve oğlaklar 4-5 aylık iken *B. melitensis* Rev-1 aşısı ile aşılanmaktadır. Rev-1 aşısı ile aşılanan koyunlarda ikinci veya üçüncü gebeliğin sonuna kadar korunma sağlanmaktadır. Sığırlarda bruselloza karşı bağışıklık oluşturmak için *B. abortus* S-19 aşısı 4-8 aylık danalara uygulanmakta olup, bu aşı hayvanları 4.-5. gebeliğe kadar korumaktadır. Son yıllarda *B. abortus* biyotip-1'in rough kültüründen elde edilen RB-51 suşunun aşı suşu olarak kullanılması önerilmektedir (3,110). *B. suis* veya *B. canis*'e karşı aşı yoktur. Hayvanlara etkili olan adı geçen aşılar insanlara karşı patojeniktir ve insanlarda bruselloza neden olabilir. İnsanlar için güvenli ve etkili bir aşı yoktur. *Brucella* türlerinin biyolojik silah olarak kullanılabileceğinden aşı getirilmesine ihtiyaç vardır (2).

Özellikle kırsal kesimde yaşayan halkın bilgilendirilmesi tüketilen süt ve süt ürünlerinin kaynatılarak veya pastörize edilerek hazırlanması sağlanmalıdır. Toplumda çiğ süt tüketilmemelidir (3,111). Çiğ süttten peynir ve yağ yapımı önlenmelidir. Sütün pastörize edilerek tüketilmesi, peynirlerin salamura yapılıp teneke üzerinde ve satış yerlerinde yapılış tarihlerinin belirtilmesi, enfeksiyonun epidemik olduğu yörelerde kaşar ve tulum peynirinin tüketilmesi önerilir (112).

Risk altındaki meslek gruplarının (mezbaha işçileri, et paketleyicileri, veterinerler, hayvan bakıcıları, laboratuvar çalışanları vb.) eldiven ve tüm kollarını örten giysiler giymeleri, gözlük takmaları alınacak önlemlerdendir (111). Laboratuvar kaynaklı brusellozdan

korunmak için brusella ile ilgili işlemler bakteriyolojik emniyet kabininde yapılmalı; kültür plakları koklanmamalıdır (2,64,113).

Brusellozlu olguların Sağlık Bakanlığı'na mutlaka bildirimi yapılmalıdır. Aynı süt ve süt ürünlerini yemek-içmek ve hasta hayvan ile temas etmek aile içi bulaşa neden olmaktadır. Bu nedenle bruselloz tanısı alan kişilerin aile bireyleri taranmalı ve gerekirse tedavi önlemleri alınmalıdır. Ayrıca etler iyice pişirildikten sonra tüketilmelidir (111).

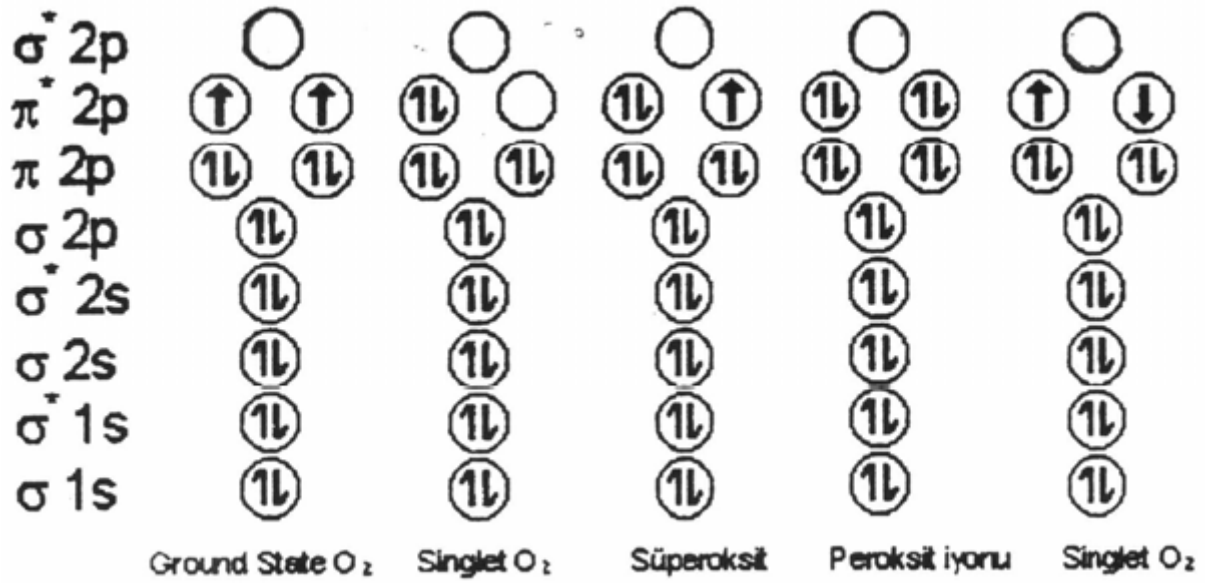
2.2. OKSİDATİF STRES

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar (114). Organizmada hücrel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır. Reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri (RNS) ve sülfür merkezli radikaller oksidan sınıfına girer. Ancak tüm reaktif türleri radikal değildirler. Radikal olan ve olmayan reaktif türleri aşağıda özetlenmiştir (115,116).

Tablo 2.2.: Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri (117)

Reaktif Türleri	
Radikal	Non-Radikal
Hidroksil ($\cdot\text{OH}$)	Peroksinitrit (ONOO^-)
Alkoksil ($\text{L(R)O}\cdot$)	Hipoklorit ($-\text{OCl}$)
Hidroperoksil ($\text{HOO}\cdot$)	Hidroperoksit (L(R)OOH)
Peroksil ($\text{L(R)OO}\cdot$)	Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Süperoksit ($\text{O}_2\cdot^-$)	Ozon (O_3)

Canlı organizma için önemli olan yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri, hücrel kaynakları, rol oynadıkları tepkimeler ve etkileri ile çeşitli klinik durumların patogeneğinde rol oynayan serbest radikaller, atomik yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulundurarak, bağımsız olarak varolabilen moleküllerdir. Eşleşmemiş elektronun kazandırdığı en önemli özellik birçok radikal ile bu elektronun paylaşılabilmesidir (118,119,120,). Serbest radikallerin en önemli tepkimeleri, moleküler oksijen ve onun reaktif türlerinin olduğu tepkimelerdir. Aşağıda oksijenin orbital yapısı ve oluşan reaktif türleri belirtilmiştir (121).



Şekil 2.2: Oksijen molekülünün orbital yapısı

Demir, bakır, mangan, molibden gibi geçiş metalleri de dış yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezler. Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller elektron dağılımlarının yanı sıra termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri ile değerlendirilir (122,123). Antioksidan ise; okside olabilen substrata göre ortamda daha az derişimde bulunan ve bu substratın oksidasyonunu belirgin şekilde geciktiren veya engelleyen madde olarak tanımlanabilir. Bu tanıma göre antioksidanların fizyolojik rolü, serbest radikalleri içeren kimyasal tepkimelerin sonucunda hücresel bileşenlere gelebilecek zararı önlemektir (124).

Aerobik metabolizmada denge, serbest radikal oluşumu ve bunların benzer hızla antioksidan sistemler tarafından uzaklaştırılmasıyla karakterizedir. Geri dönüşümsüz oksidatif hasarın birikimi ile önce hücre daha sonra doku ve organ sistemlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklar ortaya çıkabilir. Oksidatif stres ile ilişkili hastalıkların bazıları aşağıda sıralanmıştır(125).

Oksidatif Stres ilişkili Bazı Hastalıklar

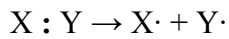
- Astım
- Ateroskleroz
- Serebral vasküler hastalıklar
- Kronik obstruktif pulmoner hastalık
- Konjestif kalp yetmezliği
- Diyabet
- Hipertansiyon

- Grip
- Miyokard enfaktüs
- Pnömoni
- Hepatit
- Kanser
- İnflamatuvar hastalıklar

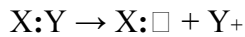
2.2.1.Serbest Radikaller (SR)

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen partikülleri de denmektedir (126-132). Serbest radikaller hücrede metabolik dengenin bir parçası olarak devamlı yapırlar (133). Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler (134).

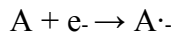
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (131). Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (135). Serbest oksijen radikalleri oluşturan kaynaklar endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir (126,131)

Tablo 2.3.: Serbest oksijen radikalleri oluşturan kaynaklar

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
1.Mitokondriyal ve mikrozomal elektron transport sistemler	1.Çevresel ajanlar
2.Fagositik hücreler	2.Radyasyon
3. Otooksidasyon	3.Antineoplastik ajanlar
4.Oksidan enzimlerin reaksiyonları	4. Stres
5. İskemi-reperfüzyon	
6. Prostaglandinler	

Örneğin bir nefes sigara dumanında yaklaşık 10^{14-16} serbest radikal bulunmaktadır. Aşırı egzersiz ile mitokondri oksijeninin yaklaşık %2-5'i serbest radikal yapımında kullanılmaktadır (133,136). Serbest radikallerin aerobik hücrelerde en önemli tepkimeleri moleküler oksijen ve onun reaktif türleri (süperoksit anyonu ve hidroksil radikali), peroksitler ve geçiş metallerinin olduğu tepkimelerdir (121).

2.2.2. Reaktif oksijen türleri

Normal şartlarda oksijen kararlı, kokusuz, tatsız, renksiz, sudaki çözünürlüğü sınırlı bir gazdır. İnsan hayatı için hem gerekli hem de toksik olan bir moleküldür. Oksijenin iki eşleşmemiş elektronlarının ayrı orbitallerde aynı yönde dönmesi sonucu oksijen bir radikaldir (131). Moleküler oksijen elektron transferiyle suya kadar indirgenir. Bu yol dört elektron gerektirir. Bu yolda süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksi radikalleri gibi reaktif ara moleküller oluşur. Bunlar önemli oksidatif stres ajanları olup reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılır (137).

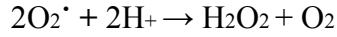
Tablo 2.4.: Oksijenin indirgenmesi

$O_2 + e + H^+ \rightarrow HO_2^{\cdot}$	Hidroperoksil radikali
$HO_2^{\cdot} \rightarrow H^+ + O_2^{\cdot}$	Süperoksit radikali
$O_2^{\cdot} + 2H^+ + e \rightarrow H_2O_2$	Hidrojen peroksit

$\text{H}_2\text{O}_2 + e \rightarrow \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$ Hidroksil radikali
$\cdot\text{OH} + e + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

2.2.2.1. Süperoksit Radikali ($\text{O}_2^\cdot$)

Oksidatif fosforilasyonun ana bileşeni olan oksijene bir elektron eklenmesi ile süperoksit radikali oluşur (137). Kendiliğinden, özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında solunum zinciriyle birlikte oluşur. Süperoksit ayrıca iskemi-reperfüsyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavoenzimlerce endojen olarak da oluşturulur. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz ise diğer süperoksit oluşturan enzimlerdir (139-141). Süperoksit ayrıca yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar gibi fiziksel ve kimyasal ajanlar ile, bazı bileşiklerin otooksidasyonunda ve fagositozda oluşur. Süperoksit kimyası çözelti ortamına bağlı olarak farklılıklar gösterir. Süperoksit sulu çözeltide askorbik asit, tiyol gibi molekülleri oksitleyebilen zayıf bir oksitleyici ajandır. Bunun yanında süperoksit güçlü bir indirgeyici ajan olup sitokrom c ve ferrik-EDTA gibi çeşitli demir komplekslerini indirgeyebilir (142). Süperoksit, hidrojen peroksit ve moleküler oksijenin oluştuğu dismutasyon tepkimesinden dolayı sulu ortamda hızlıca kaybolur. Diğer taraftan SOD enzimiyle katalizlenen dismutasyon tepkimesi ise spontan dismutasyondan 10^9 kat daha hızlıdır (143).



2.2.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

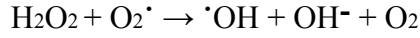
Hidrojen peroksit serbest radikal değildir, ancak biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında aldığı rolden dolayı önemlidir. Diğer bir önemli işlevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır (137). Hidrojen peroksit süperoksit radikalının dismutasyon tepkimesi sonucu oluşur (144). Hidrojen peroksitin redoks özelliği ve geçiş metalleri varlığında yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturmaya karşı vücut, savunma sistemi geliştirmiştir. İstenmeyen hidrojen peroksit katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer oksidazlar ile hücreden uzaklaştırılır (145).

2.2.2.3. Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$)

Hidroksil radikalının major oluşumu suyun yüksek enerji ile iyonizasyonudur.



Hidrojen peroksit ise süperoksit ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (131-145).

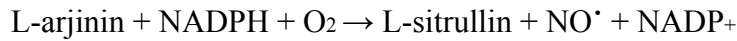


2.2.2.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur (145). Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, ayrı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdıkları delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı yörüngelerde bulunurlar. Aynı yörüngede ise delta singlet oksijen, ayrı yörüngelerde iseler sigma singlet oksijen formu oluşur. Sigma formu delta formuna göre daha enerjetik olup kolayca delta formuna dönüşebilir (120,146).

2.2.2.5. Nitrik Oksit ($\text{NO}^{\bullet}$)

$\text{NO}^{\bullet}$ enzimatik olarak nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arjinin'den sentezlenir (137).



Nitrik oksit ($\text{NO}^{\bullet}$) hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip serbest radikaldir. $\text{NO}^{\bullet}$ sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir. NO sentezinin insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir.

Nitrik oksit kemik hücre fonksiyonlarında önemli etkileri olan bir serbest radikaldir. Nitrik oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$) radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit (ONOO^-) oluşur. Böylece nitrik oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Vasküler tonüsün düzenlenmesi için süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ve nitrik oksit ($\text{NO}^{\bullet}$) arasındaki fizyolojik dengenin önemli olduğu ileri sürülmektedir. Peroksinitrit, nitrik oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit ($\text{NO}_2^{\bullet}$), hidroksil radikali ($\text{OH}^{\bullet}$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşür. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat

(NO₃⁻) oluşturmak üzere metabolize edilir. NO• radikalının stabil son ürünlerin nitrit ve nitrattır. Plazma gibi çoğu vücut sıvısında nitritin çoğu nitrata dönüşmüştür (137,148).

2.2.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Sağlıklı bir organizmada toplam oksidan ve antioksidan düzeyleri bir denge halindedir. Organizmada normal fizyolojik olaylar sırasında gelişen ya da çevresel zararlı ajanlara maruz kalınmasıyla ortaya çıkan eksojen ve endojen oksidanlar belirli düzeyi aşarsa veya antioksidanlar yetersiz kalırsa denge oksidanlar lehine bozulursa oksidatif stres ortaya çıkar. Serbest oksijen radikalleri organizmanın yapı elamanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlere zarar vererek kalıcı hasara yol açarlar (149). Çoğu hastalıklarda artmış ROS hastalığın sebebi değildir, primer bozukluğa ikincil olarak oluşur ve ardından patogeneizde yer alırlar (150).

2.2.3.1. Karbohidratlara Etkileri

Monosokkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki eder ve böylece kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler (151). Serbest oksijen radikalleri bağ dokusunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbohidratların parçalanmalarına da yol açabilirler (152). Diyabetin patogenezinde ve gözün vitreus humourunda bol miktarda bulunan hyalüronik asitin oksidatif hasarı sonucu katarakt oluşması da radikallerin karbohidratlar üzerindeki etkisine bir örnektir (131,153).

2.2.3.2. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri

DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon meydana getirirler. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir (130,131,132).

2.2.3.3. Proteinlere Etkileri

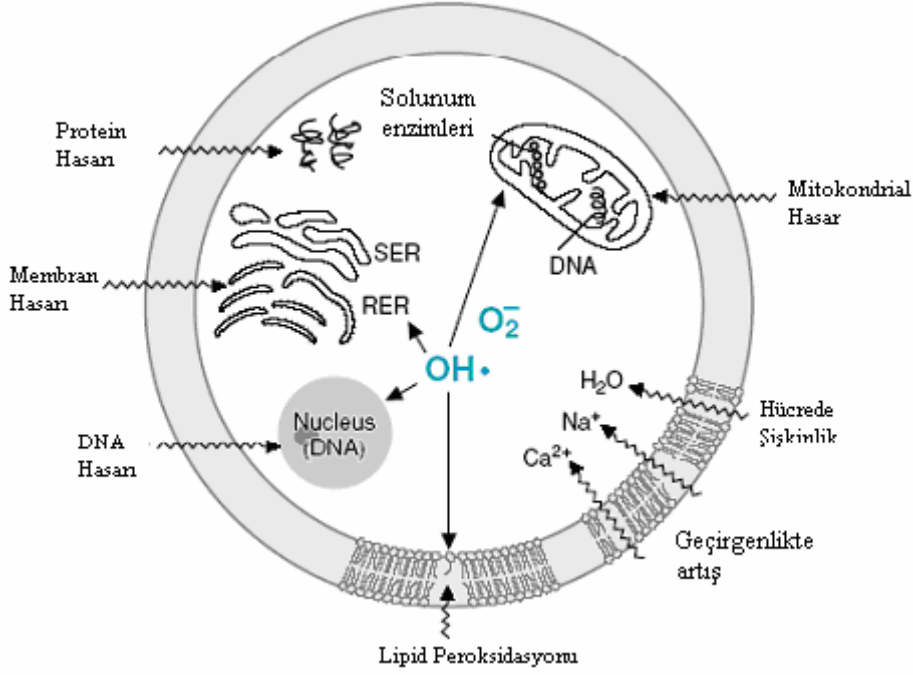
Proteinler, radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmungulobin G ve albumin gibi disülfid bağ fazla olan proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulur (131,145,151).

2.2.3.4. Lipitlere Etkileri

Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Biyolojik zarların yapısı lipit ve proteinden oluşmaktadır, lipit peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verir (116). Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen zar hasarı geri dönüşümsüzdür (138,145).

2.2.4. Antioksidan Sistem

Organizma içindeki radikaller, geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açan birçok tepkimeye neden olurlar (116). Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve neden oldukları hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya “antioksidanlar” olarak adlandırılır. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya serbest oksijen radikallerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (131,154).



Şekil 2.3: Radikallerin yol açtığı hücre hasarı.

2.2.4.1. Antioksidan Etki Mekanizmaları

A. Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini tutma veya çok daha zayıf bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler bu tipte etki gösterirler (131).

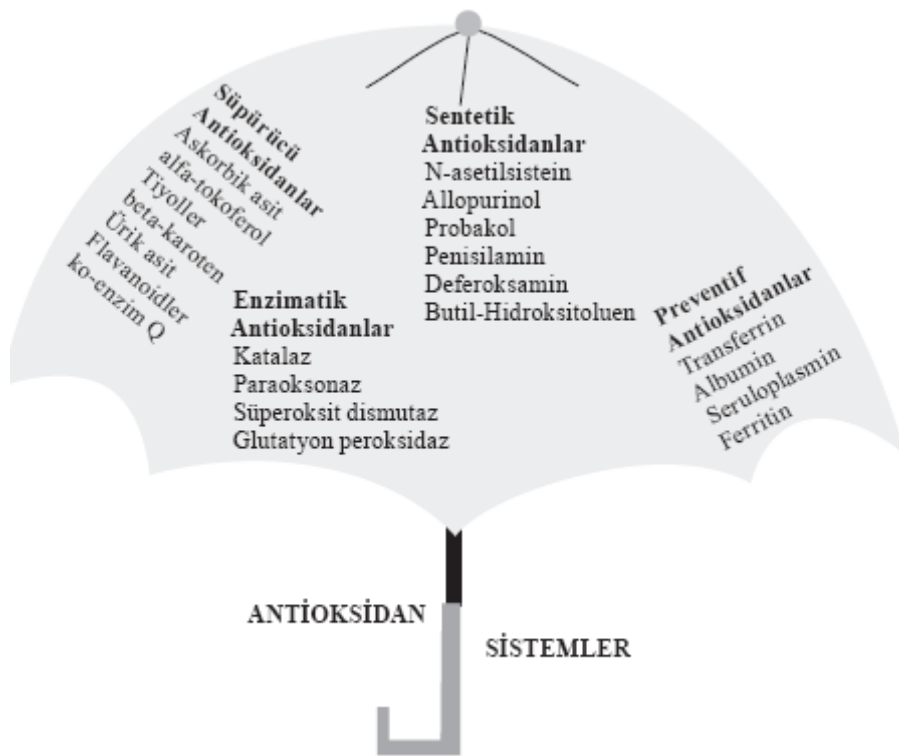
B. Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ve inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki denir. A vitamini ve flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler (131).

C. Onarıcı etki

D. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller zincir kırıcı özellik gösterirler (131). Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler (155).

Tablo 2.5.: Antioksidan savunma sistemleri (131)

A. Endojen antioksidanlar
1- Enzim olanlar;
Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT), Glutasyon s transferaz (GST), Glutasyon redüktaz (GSH-Rx), Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi,
2- Enzim olmayanlar;
α -tokoferol (E vitamini), β -karoten, Askorbik asit, Melatonin, Ürik asit, Billirubin, Glutasyon, Seruloplazmin, Albumin, Transferin, Ferritin gibi.
B. Eksojen antioksidanlar
Allopürinol, Folik asit, C vitamini, Trolox- C, Asetilsistein, Mannitol, Adenozin .



Şekil 2.4: Antioksidan sistemler

Antioksidan sistem hasar öncesi radikal oluşumunu önler, oksidatif hasarı onarır, hasara uğramış molekülleri temizler ve mutasyonları önler. Nötralize olması gereken çeşitli reaktif ara ürünleri ve indirgenmesi gereken okside biyomolekülleri etkileyen hem lipofilik hem hidrofilik fazda pek çok antioksidan aşağıda özetlenmiştir (156).

Tablo 2.6.: Hidrofilik ve lipofilik fazda bazı antioksidanlar

Antioksidan	Faz	Etki
Süperoksit Dismutaz(SOD)	Hidrofilik	$O_2^{\cdot -}$ 'nin H_2O_2 ve O_2 'e dismutasyonu
Katalaz(CAT)	Hidrofilik	H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'e dismutasyonu
Glutasyon peroksidaz(GSH-Px)	Hidrofilik veya Lipofilik	R-OOH'nin R-OH indirgenmesi
Glutasyon redüktaz (GSH-Rd)	Hidrofilik	Okside glutasyonun indirgenmesi
Glutasyon S Transferaz (GST)	Hidrofilik	R-OOH'nin GSH ile konjugasyonu
Metallotieninler	Hidrofilik	Geçiş metalleriyle nötralizasyon
Tiyoredoksinler	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi
Glutasyon	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi Serbest radikal temizleyicisi GSH-Px ve GST'nin kofaktörü
Ubikinon	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonunda korun
Askorbik asit	Hidrofilik	Serbest radikal temizleyicisi Tokoferol kazanımı Enzimlerin redükte formda korunması
Karotenler	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi $O_2^{\cdot -}$ baskılayıcı
Tokoferol	Lipofilik	Selenyum absorpsiyonunu artırır Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonunda korun
Selenyum	Amfifilik	Tiyoredoksin, GSH-Px yapıtaşı

Antioksidanları hücre içi, hücre dışı ve zar antioksidanları olarak sınıflandırabiliriz. Örnek olarak Hücre içi antioksidanlar için süperokit dismutazlar, katalaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon S transferaz, glutasyon redüktaz; Zar antioksidanları için E vitamini, β karoteni koenzim Q; Hücre dışı antioksidanlar da ise transferin, laktoferrin, haptogloblin,

hemopeksin, albumin, seruloplasmin, ekstrasellüler süperoksit dismutaz, ekstrasellüler glutatyon peroksidaz, bilirubin, askorbik asit sayılabilir (145).

Reaktif oksijen türlerine karşı primer savunma enzimatik ve enzimatik olmayan intrasellüler antioksidanlarca yapılır (157).

2.2.4.2. Total Antioksidan Kapasite (TAOK)

Normal koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı gelişen oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Kan antioksidanların bütün vücuda taşınmasını ve dağıtılmasını sağlar (158).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplasmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun % 85'inden fazlasını oluşturur. Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (14,15).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışma Haziran 2009 ile Aralık 2009 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinde yapıldı. Polikliniğe başvuran ve akut bruselloz tanısı alan 30 hasta bruselloz olmayan 37 sağlıklı gönüllü çalışmaya alındı. Çalışmada öncelikle tüm katılımcıların demografik bilgileri hazırlanan formlara kaydedildi.

Çalışma başlangıcında hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun boy ve kiloları ölçülerek vücut kitle indeksleri (BMI) hesaplandı.

Hasta grubunda bruselloz tanısı ateş, üşüme, titreme, diz ağrısı, kalça ağrısı, bel ağrısı gibi eklem ağrıları olan hastalarda brusella standart tüp aglütinasyon testinin $\geq 1/160$ olması ve/veya kan, kemik iliği kültüründe *Brucella* spp üremesi ile kondu (75). Serolojik tanı için

gerekli antijen Pendik Veteriner Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan *B. abortus* 99 suşundan hazırlanan antijenler kullanıldı. Semptomlarının başlama süresi 8 haftadan kısa olan olgular akut brucelloz kabul edilerek çalışmamıza alındı.

Hastalar sistem tutulumları açısından değerlendirildi. Tüm hastalara tüm abdomen ultrasonografisi yapıldı. Hastalarda osteoartikuler tutulumun araştırılması amacıyla, yakınmaları ve klinik bulgularına göre direk grafi, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme yöntemlerinden bir veya birkaçı yapılarak değerlendirildi. Bel ve/ veya sakroiliyak eklem bölgelerinde ağrısı olanlarda, bel omurlarının ve iki taraflı sakroiliyak eklemlerin düz grafileri çekildi. Genitoüriner sistem tutulumlarının olup olmadığı biyokimyasal ve üriner ultrasonografi ile serolojik değerlendirme sonunda tespit edildi. Tüm hastalar yakınma şikayetlerine göre tam bir sistemik muayeneden geçirildi. Tam kan sayımı, formül lokositer, eritrosit sedimantasyon hızı, C-reaktif protein, tam idrar tahlili, biyokimyasal tetkikler, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz (ALT , AST) bilirubinler, alkalen fosfataz, gama glutamil transferaz, üre, kreatinin değerleri tedavi başlangıcında ve tedavinin sonunda kaydedildi. Hastalardan tedavi öncesi ve tedavi bitiminde olmak üzere iki kez, kontrol grubundan bir kez total oksidatif status (TOS) ve total antioksidan kapasite (TAK) ölçümü yapılarak kaydedildi.

Hastalardan genel durumlarında bozukluk olanlar yatırılarak klinikte izlendi. Yatış gerektirmeyen veya yatmak istemeyen hastalar poliklinikten takibe alındı. Yatırıldıktan sonra veya ayaktan takip edilecek olan hastaların, tedavi öncesi en az iki set kan kültürleri alındı. Alınan kan kültürleri yarı otomatize BD BACTEC™-PLUS + Aerobic F sisteminde inkübe edildi. Bu yöntemde en az 28 gün üreme varlığı açısından kontrol edildi ve üremeler takip edildi.

Hastalara akut brucelloz tedavisi Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği şekilde doksisisiklin 2x100 mg + rifampisin 1x600 mg; doksisisiklin 2x100 mg + streptomisin 1 gr 1x1 İM (21 gün); 6 hafta verildi (106). Hamile, bebek emziren hastalara rifampisin 1x600(6 hafta) + gentamisin 1x160 mg (5 gün) + trimetoprim/sülfametoksazol (TMP/SXT) 6 hafta verildi.

3.1.1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

1. Akut brucelloz tanısı alan hastalar
2. Brucelloz nedeniyle herhangi bir komplikasyon gelişmemiş hastalar
3. 15-65 yaş arasındaki hastalar
4. Daha önce brucelloz tanısı ve tedavisi almamış olanlar

3.1.2. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri;

1. Subakut ve kronik bruselloz tanısı alan hastalar
2. Bruselloz nedeniyle herhangi bir komplikasyon gelişen hastalar
3. Onbeş yaş altı-65 yaş üstü hastalar
4. Daha önce bruselloz tanısı almış hastalar
5. Malignitesi olan hastalar
6. Diabetes mellitus tanısı olanlar
7. Kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH) varlığı
8. Kronik böbrek yetersizliği varlığı
9. Kronik karaciğer hastalığı varlığı
10. Kronik kardiyak hastalığın varlığı
11. Gastrointestinal sistem hastalığı olanlar
12. Metabolik kemik hastalığı olanlar
13. Kollajen doku hastalığı olanlar
14. Sigara içenler
15. Alkol kullananlar
16. İlaç bağımlıları

Çalışmada kontrol grubu olarak, yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuyla benzeşen, 15-65 yaş aralığında olan, herhangi başka bir kronik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllüler alındı. Çalışma Harran Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan onay alındıktan sonra başlatıldı.

3.2. Örneklerin Hazırlanması

Akut bruselloz tanısı konan ve ek tetkiklerle komplikasyon varlığı saptanmayan hastalardan, tedavi öncesi ve tedavi bitiminde olmak üzere iki kez, kontrol grubundan bir kez total oksidatif status ve total antioksidan kapasite ölçümü için 10 cc kan örneği heparinli biyokimya tüpüne alındı. Venöz kan örnekleri 3500 rpm 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazma örnekleri derhal -80' C de saklanarak çalışma tarihine kadar muhafaza edildi.

3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmada Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında rutin olarak kullanılan cihazlardan yararlanıldı.

- Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
- Derin dondurucu (New Brunswick Scientifi, C54285 model)
- Hassas terazi (Sartorius marka 0,0001 g'a duyarlı)
- Dijital pH-metre (Hanna, pH 211 model Japon)
- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)
- Moduler E 170 (Roche- Almanya)

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Louril sarkozin (Sigma)
- Trizma base (Sigma)
- Disodyum hidrojen fosfat (Merck)
- Sodyum dihidrojen fosfat (Merck)
- 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma)
- Hidroklorik asit (Merck)
- Trikloroasetikasit (Merck)
- 1,3 dietil tiyobarbitürik asit (Sigma)
- o-Dianisidine (Sigma)
- Ferroz amonyum sülfat (Merck)
- Hidrojen peroksit (Merck)
- Sülfürik asit (Merck)
- Gliserol (Merck)
- Xylenol orange (Sigma)

3.5. Toplam Oksidan Status (TOS) Düzeyi Ölçümü

Örneklerin TOS düzeylerini ölçmek için, testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonunun ferrik iyonuna kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı (159).

Total Oksidan Seviye Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

Reaktif 1: 140 mM NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında glycerol çözülüp daha sonra 250 uM xilenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM Amonyum ferröz sülfat çözülerek hazırlanır.

560 nm’de spektrofotometrik olarak End-Point ölçüm yapılır.

Testin Çalışma Prensibi

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (159).

3.6. Toplam Antioksidan Kapasite Ölçümü

Örneklerin TAS düzeyleri Erel tarafından geliştirilen yöntemle ölçüldü. Bu yöntemde uzun ömürlü dayanıklı ABTS radikal katyonu oluşturulmuştur (159). Karakteristik olarak mavi-yeşil renkli bu radikalın rengi antioksidanlarca redüklenerek kaybolmaktadır. Numunedeki antioksidanların renk açıcı ve/veya renksizleştirme etkisi onların toplam antioksidan kapasitesi olarak değerlendirilmiştir. Standart olarak geleneksel olarak kullanılan Vit E’ nin suda çözünür analogu olan Trolox kullanılmış ve sonuçlar µmol trolox equiv./L olarak ifade edilmiştir (159).

Total Antioksidan Seviye Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH:1.8) içerisinde 10 mM o-dianisidine dihydrochloride ve 45 uM Amonyum ferröz sülfat çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Clark tamponu (pH:1.8) içerisinde 7,5 mM Hidrojen peroksit (H₂O₂) çözülüp hazırlanır.

240 nm’de spektrofotometrik olarak End-Point ölçüm yapılır.

Testin Çalışma Prensibi

Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir (159).

3.7. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSI), örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir. Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrilir.

OSI'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (160,161).

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi (OSI)} = \frac{\text{Total Oksidatif Stres (TOS)}}{\text{Total Antioksidan Status (TAS)}}$$

3.8. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 11.5 paket programı ile (SPSS for Windows, 11.5, SPSS Inc., USA) yapıldı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası değişkenlerin karşılaştırılması Paired sample t-test ile yapıldı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası değişkenlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmasında Student's t-testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ SS olarak gösterildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi..

IV. BULGULAR

Çalışmaya alınan 30 akut bruselloz olgusunun 15'i (%50), kontrol grubunun 17'si (%45.9) erkek idi. Hasta ve kontrol grubunda yaş ortalaması sırasıyla 22.03 ± 12.52 (15-59) yıl ve 28.05 ± 12.19 (15-57) yıl; beden kitle indeksi (BKİ) ortalaması 22.24 ± 2.54 (18-27) ve 23.41 ± 2.58 (18-29) olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol grubuna ait demografik özellikler tablo 4.1'de sunulmuştur.

Çalışma grupları yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi (BKİ) ortalaması açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Tablo 4.1.: Akut bruselloz hastaları ve sağlıklı kontrol grubunda demografik özellikler

Özellikler	Akut Bruselloz (n=30)	Kontrol (n=37)
	Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS
Cinsiyet (E/K)	15/15	17/20
Yaş (yıl)	22.03 ± 12.52	28.05 ± 12.19
BKİ (kg/m^2)	22.24 ± 2.54	23.41 ± 2.58

BKİ : Beden Kitle İndeksi

Hastalarda brusellozun bulaş yolu olarak en sık (%86.7, n=26) taze peynir tüketme öyküsü vardı. Hayvancılık yapmak ve taze peynir tüketme %10 (n=3) oranında görülürken bir olguda kaymak yeme öyküsü mevcuttu.

Hastaların %86.7 (n=26)'sinde en sık saptanan şikayet ateşti. Diğer sık saptanan şikayetler %66.7 (n=20) ile eklem ağrısı, %53.3 (n=16) ile üşüme-titrete, %40 (n=12) ile diz ağrısı ve %23 (n=7) ile baş ağrısı idi. Bir olgu ateş ve göğüs ağrısı şikayeti ile başvurdu.

Olguların başvuru yakınmaları Tablo 4.2'de görülmektedir.

Tablo 4.2.: Olguların başvuru yakınmaları

Olguların Yakınması	Başvuru Sayı (n)	Yüzde (%)
Ateş	26	86.7
Eklem Ağrısı	20	66.7
Üşüme-titreme	16	53.3
Diz Ağrısı	12	40
Baş Ağrısı	7	23
Bel Ağrısı	4	13.3
Kalça Ağrısı	2	6.7
Terleme	1	3.3
Halsizlik	1	3.3
Göğüs Ağrısı	1	3.3
Karın Ağrısı	1	3.3
Kusma	1	3.3
Gözlerde sararma	1	3.3

Hastalarda en sık saptanan fizik muayene bulgusu ateşi (%80). Daha sonra splenomegali (%10) ve diğerleri gelmekte idi. Olguların fizik muayene bulguları Tablo 4.3 de görülmektedir.

Tablo 4.3.:Hastaların fizik muayene bulguları.

Fizik Muayene Bulguları	Sayı (n)	Yüzde (%)
Ateş	24	80
Splenomegali	3	10
Taşikardi	1	3.3
Skleralarda subikter	1	3.3
Kalça hareketlerinde kısıtlılık	1	3.3
Karında hassasiyet	1	3.3

Hastaların %73.3 (n=22)'ünde tüm abdomen ultrasonografi bulguları normaldi. Olguların altısında splenomegali, birinde hepatomegali, birinde hepatosplenomegali vardı. Hastaların tüm abdomen ultrasonografi bulguları Tablo 4.4'te görülmektedir.

Tablo 4.4.: Hastaların ultrasonografi bulguları

Ultrasonografi Bulguları	Sayı (n)	Yüzde (%)
Normal	22	73.3
Splenomegli	6	20
Hepatomegali	1	3.3
Hepatosplenmegali	1	3.3

Lökosit sayısı olguların %83.3'ünde (n=25) normal iken, %16.6'sında (n=5) yüksek saptandı. Hastaların hiçbirinde lökopeni tespit edilmezken birinde trombositopeni saptandı. Hastaların %43.3'ünde AST yüksekliği, %46.3 ALT yüksekliği saptandı. Olguların anormal laboratuvar bulguları tablo 4.5'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5.: Olguların anormal laboratuvar bulguları.

Laboratuvar Bulguları	Sayı (n)	Yüzde (%)
Hemoglobin<12 mg/dL	6	20
Trombosit <150.000 mm ³	1	3.3
Lökosit/mm ³ <4000	0	0
4000≤lökosit<10000	25	83.3
lökosit≥10000	5	16.6
ALT>40 IU/mL	14	46.6
AST>40IU/mL	13	43.3
Sedimantasyon (>20mm/saat)	13	43.3
CRP>0.5 mg/dL	18	60

ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, CRP: C-reaktif protein

Hastaların tümüne standart tüp aglütinasyon (STA) testi yapıldı ve tamamında STA testi pozitif saptandı. STA testi titreleri 1/160 ile 1/2560 arasında değişiyordu (Tablo 4.6).

Tablo 4.6.: Olguların STA titrelerine göre dağılımı

Titirasyon	Sayı(n)	Yüzde(%)
1/160	7	23.3
1/320	6	20
1/640	8	26.7
1/1280	6	26.7
1/2560	3	10

Hastaların %33.3'ünde (n=10) kan kültüründe *Brucella* spp. üredi.

Hastaların aldıkları tedavi dağılımı Tablo 4.7'de görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (102) önerileri doğrultusunda hastalara ilk seçenek doksisisiklin, rifampisin ve streptomisin ikili kombinasyonlar halinde verildi. Doksisisiklini tolere edemeyen 3 hastaya ve gebe olan bir hastaya üçlü ilaç verildi.

Tablo 4.7.: Hastaların aldıkları tedavi dağılımı

Tedavi	n	%
Rifampisin-Doksisisiklin	13	43.3
Streptomisin-Doksisisiklin	13	43.3
Gentamisin-TMP/SXT-Rifampisin	4	13.4

Tedavi öncesinde TOS ve OSİ düzeyleri tedavi sonrasına göre anlamlı derecede yüksek bulundu (hepsi için, $p<0.001$). TAS düzeyi tedavi öncesi grupta tedavi sonrasına göre düşük ve aradaki farklılık anlamlı idi ($p<0.001$) (Tablo 4.8 ve Şekil 4.1,2 ve 3.).

Tablo 4.8.: Hasta ve kontrol grubunun TAS, TOS ve OSİ düzeyleri

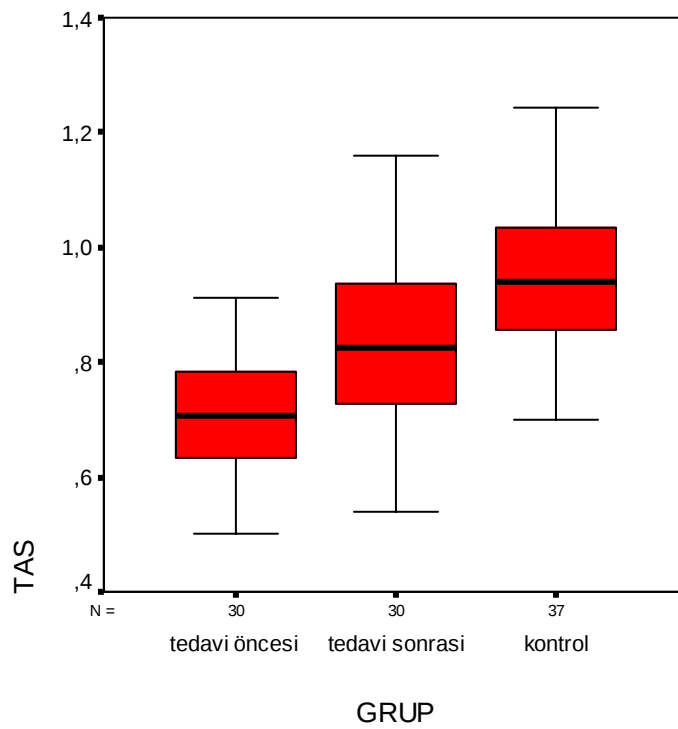
	Tedavi öncesi	Tedavi sonu	Kontrol
	Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS	Grubu
			Ortalama $\pm$ SS
TAS (mmol Trolox Eqv. /L)	0.70 $\pm$ 0.10	0.83 $\pm$ 0.15	0.95 $\pm$ 0.14
TOS (μ mol H ₂ O ₂ Eqv. /L)	26.48 $\pm$ 7.46	10.87 $\pm$ 4.04	7.52 $\pm$ 1.65
OSİ (Arbitrary Unit)	3.70 $\pm$ 1.16	1.38 $\pm$ 0.70	0.80 $\pm$ 0.18

TOS: Total Oksidan Seviye

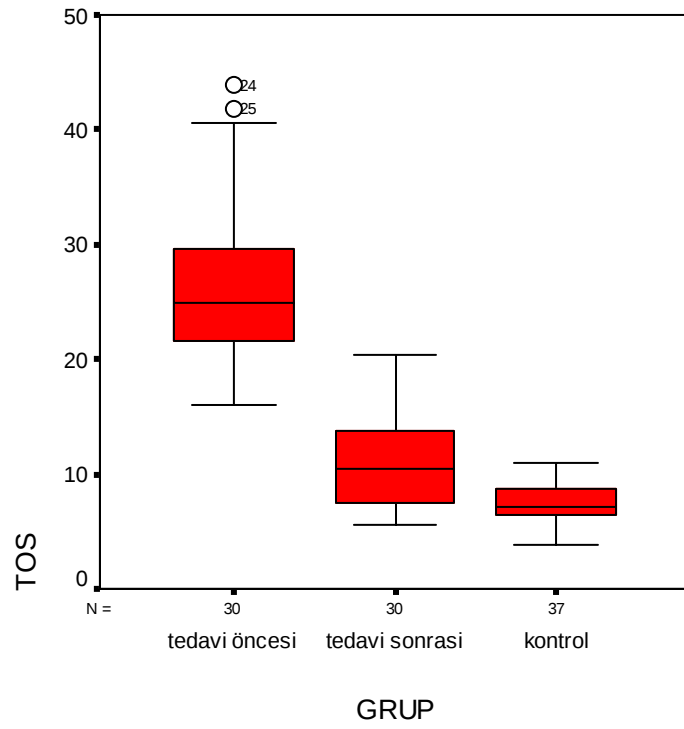
TAS: Total Antioksidan Seviye

OSİ: Oksidatif Stres İndeksi

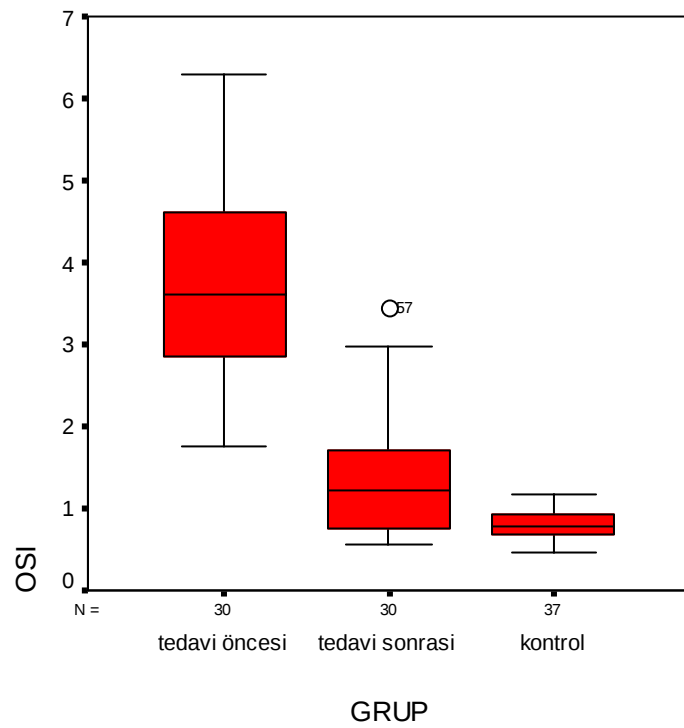
Gruplarda TAS, TOS ve OSİ düzeyleri grafiklerde gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubunda TAS düzeyleri



Şekil 4.2. Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubunda TOS düzeyleri



Şekil 4.3 Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubunda OSI düzeyleri

Bruselloz hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası TAS, TOS ve OSİ düzeyleri hem birbiriyle hem de ayrı ayrı kontrol grubuyla karşılaştırıldı (Tablo 4.9,10 ve 11). Tedavi öncesinde TOS ve OSİ düzeyleri tedavi sonrasına göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, her ikisi için). Tedavi öncesinde TAS düzeyleri tedavi sonrasına göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.001$). Tedavi öncesinde TOS ve OSİ düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$, hepsi için). TAS düzeyi tedavi öncesi grupta kontrol grubuna göre düşük ve aradaki farklılık anlamlı idi ($p<0.001$). Tedavi sonrasında TOS ve OSİ düzeyleri grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (hepsi için, $p<0.001$). TAS düzeyi tedavi sonrası grupta kontrol grubuna göre düşük ve aradaki farklılık anlamlı idi ($p=0.004$).

Tablo.4.9.: Bruselloz hastalarının tedavi öncesi TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin tedavi sonrası ile karşılaştırılması

		Ortalama $\pm$ SS	t	P<
TAS	TÖ	0.71 $\pm$ 0.08	-4.17	0.001
	TS	0.83 $\pm$ 0.15		
TOS	TÖ	26.48 $\pm$ 7.46	11.19	0.001
	TS	10.87 $\pm$ 4.04		
OSİ	TÖ	3.70 $\pm$ 1.16	9.91	0.001
	TS	1.38 $\pm$ 0.70		

TAS (mmol Trolox Eqv. /L): Total Antioksidan Seviye, TOS (μ mol H₂O₂ Eqv. /L): Total Oksidan Seviye, OSİ (Arbitrary Unit): Oksidatif Stres İndeksi

TÖ: Tedavi öncesi, TS: Tedavi sonrası

Tablo.4.10: Bruselloz hastaların tedavi öncesinde TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

		Ortalama $\pm$ SS	t	P<
TAS	TÖ	0.70 $\pm$ 0.10	-8.03	0.001
	KG	0.95 $\pm$ 0.14		
TOS	TÖ	26.48 $\pm$ 7.46	15.01	0.001
	KG	7.52 $\pm$ 1.65		
OSİ	TÖ	3.70 $\pm$ 1.16	15.01	0.001
	KG	0.80 $\pm$ 0.18		

TAS (mmol Trolox Eqv. /L): Total Antioksidan Seviye, TOS (μ mol H₂O₂ Eqv. /L): Total Oksidan Seviye, OSİ (Arbitrary Unit): Oksidatif Stres İndeksi

TÖ: Tedavi öncesi, KG: Kontrol grubu

Tablo.4.11.: Bruselloz hastaların tedavi sonrası TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

		Ortalama± SS	t	p
TAS	TS	0.83± 0.15	-3.02	0.004
	KG	0.95± 0.14		
TOS	TS	10.87±4.04	4.58	0.001
	KG	7.52 ± 1.65		
OSİ	TS	1.38 ± 0.70	9.91	0.001
	KG	0.80±0.18		

TAS (mmol Trolox Eqv. /L): Total Antioksidan Seviye, TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv. /L): Total Oksidan Seviye, OSİ (Arbitrary Unit): Oksidatif Stres İndeksi

TS: Tedavi sonrası, KG: Kontrol grubu

V. TARTIŞMA

Bruselloz, *Brucella* cinsi bakterilerinin yol açtığı, en sık görülen zoonotik hastalıklardan birisi olup, tüm olgularda doğrudan ya da dolaylı olarak hayvanın teması söz konusudur. Hayvanların aşılınması ve sütün pastörize edilmesi ile gelişmiş ülkelerde eradike edilen bu hastalık gelişmemiş ve ülkemizin de içinde yer aldığı gelişmekte olan ülkelerde güncelliğini koruyan önemli bir sağlık sorunu olmayı sürdürmektedir (2,3).

Hastalık dünyanın her bölgesinde görülmekle birlikte Portekiz, İspanya , Güney Fransa , İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Kuzey Afrika ülkelerinin yer aldığı Akdeniz havzası ile Arap yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da hiperendemiktir. Tüm dünyada yıllık 500.000 yeni bruselloz olgusu tahmin edilmektedir. İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avusturalya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloz eradike edilmiştir (3,162).

Ülkemizde toplam vakalar en sık Güneydoğu Anadolu Bölgesi (%49.2)'nde, Doğu Anadolu Bölgesi (%21.7)'nde, İç Anadolu Bölgesi (%19.9)'nde, Ege Bölgesi (%5)'nde görülürken, bildirilen olguların sadece %0.01'i Karadeniz Bölgesi'nde görülmüştür (163). Bu çalışma, hastalığın endemik olduğu Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yapılmıştır.

Türkiye'de hastalık her yaş ve cinsiyette görülmekte olup, hastalık görülme sıklığı 15-35 yaş arasında en yüksektir. Cinsiyetler arasında görülme sıklığı olarak belirgin bir fark görülmemektedir (34). Bu çalışmada, hastaların yaş ortalaması, diğer çalışmalarla benzerdi. Epidemiyolojik bir çalışma olmadığından, hasta grubunda kadın ve erkek hasta sayıları eşitlendi, kontrol grubu ise hasta grubuyla uyumlu yaş ve cinsiyet özellikleri gösterecek şekilde seçildi ($p>0.05$).

Brucella bakterileri, hayvanlarda yaşam boyu kalmakta ve kronik enfeksiyona yol açmaktadır. Hastalığın endemik olduğu ülkelerde başlıca bulaş yolları pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi iken, gelişmiş ülkelerde daha çok temas ve inhalasyon yolu ile bulaşın ön planda olduğu görülmektedir (3,63). İnsandan insana bulaş çok nadirdir, literatürde cinsel yolla bulaştığı ileri sürülen olgular bildirilmiş olup, epididimoorşitli hastaların sperm sıvısında bakteri üretilmektedir (3,27,164). Hastalığın kan transfüzyonu ile bulaşabildiğini gösteren değişik çalışmalar vardır ve bu durum hastalığın endemik bölgelerde donörlerin bruselloz semptomları açısından sorgulanması gerektiğini düşündürmektedir (165,166). Olası anne sütü kaynaklı olgu bildirimleri de vardır (29).

Türkiye’de hastalık, yılın tüm aylarında görülebilmekle birlikte ilkbahar ve yaz aylarında; insanların kırsal kesime seyahat etmesi, koyunların yavrulama dönemi olması ve taze peynir yapımının ve tüketiminin artması sebebiyle daha sıktır (32). Bu çalışmada, brusellozun başlıca bulaş yolu diğer çalışmalarla benzer olarak, taze peynir tüketimi sonrasında olduğu tespit edildi. Hayvancılık ile uğraşanlar, aynı anda kendi yaptıkları peynirleri taze olarak tüketenlerde de hastalık geliştiği izlendi. Bruselloz ile enfekte hayvanın, sütünün çiğ olarak veya taze peyirinin salamura edilmeden tüketilmesi bu duruma neden olmaktadır.

Bruselloz sistemik bir enfeksiyon hastalığı olup, birçok organ ve dokuyu etkileyebilmektedir. *Brucella* enfeksiyonlarının kendine özgü, diğer enfeksiyonlardan ayırt edici belirtileri yoktur. Çok farklı klinik semptom ve bulgularla ortaya çıkabilir ve birçok hastalıkla karışabilir. İncelenen makalelerde; hastalarda ateş %59-100, terleme %41-91, halsizlik %58-98, kas ağrısı %14-60, eklem ağrısı %40-84, baş ağrısı %20-64, kilo kaybı %10-53, iştahsızlık %31-73, döküntü %3-15, splenomegali %11-50, hepatomegali %9-55, periferik artrit %5-30, lenfadenopati %3-28 oranlarında saptanmıştır (167,168). Bu çalışmada, hastalarda en sık görülen semptom, diğer çalışmalarla benzer olarak ateşti. Eklem ağrısı, üşüme ve titreme, diğer en sık görülen semptomlardı. Çalışmada bir hasta göğüs ağrısı şikayetiyle başvurdu. Literatürde brusellozun akciğer ve kalp tutulumunu gösteren yayınlar mevcuttur (169). Ancak hastanın yapılan fizik muayenesinde ve tetkiklerinde akciğer ya da kardiyak tutulumuna dair bulguya rastlanmadı, hastanın ağrısının kas kaynaklı olduğu düşünüldü.

Bruselloz tanısında, semptom ve fizik muayene bulgularının yanında anemi, lökopeni, lenfositoz, sedimantasyon yüksekliği ve karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk tanıyı destekleyen laboratuvar sonuçlarıdır (3). Tansel ve ark.’nın yaptığı çalışmada klinik bulgular, standart tüp aglütinasyon testi ve/veya kan kültürü ile tanısı konulan 40 bruselloz olgusunun

%30'unda lökopeni, %35'inde trombositopeni, %40'unda anemi, %90'unda eritrosit sedimentasyon hızında atış, %82.5'inde CRP pozitifliği, %67.5'inde AST, %55'inde ALT atışı tespit edilmiştir (170). Geyik MF ve ark.'nın yaptığı çalışmada klinik ve seroloji ile brucelloz tanısı alan 154 hastanın %25'inde lökopeni, %7'sinde lökositoz, %30'unda sedimentasyon atışı, %28'sinde anemi, %39'unda AST yüksekliği, %38'inde ALT yüksekliği %85'inde Brucella aglutinasyon testi pozitifliği ve %6'sında kültür pozitifliği saptanmıştır (168). Yine Özer S ve ark.'ları klinikle beraber aglutinasyon titresi ve/veya kan kültürü ile tanısı konulan 33 brucelloz olgusunun %61'inde eritrosit sedimentasyon hızının atışını, %55'inde anemi, %3'ünde lökopeni, %6'sında lökositoz, %82'sinde CRP pozitifliği, %42'sinde ALT ve AST yüksekliğini tespit etmişlerdir (171). Bu çalışmanın sonuçları, brucellozda laboratuvar değerlerinin değerlendirildiği çalışmalarla benzerlik göstermekle birlikte diğer çalışmalardan farklı olarak hiçbir hastamızda lökopeni görülmedi. Burada irdelenen olguların tamamı akut brucelloz idi. Dolayısıyla öykünün çok uzun süreli olmamasına bağlı lökositlerde ciddi düşüş olmadığı kanısındayız.

Brucellozda, karaciğer tutulumu genellikle granülomatöz hepatit (GH) şeklindedir. Bu hastalarda GH'in oranı ortalama %20'dir (%7-100) (168-170). Bu çalışmada, brucellozlu hastalarda hepatomegali ve karaciğer enzimlerinde artış tespit edildi. Bu durum brucellozdaki karaciğer tutulumunun bir sonucu olarak değerlendirildi.

Brucelloz tanısı genellikle klinik belirti ve bulguların varlığında standart tüp aglutinasyon testinin pozitif olmasıyla ($STAT \geq 1/160$) konulmaktadır (75). Testin ucuz olması, özel aletlere ihtiyaç göstermemesi gibi avantajları olmakla birlikte, sensitivitesinin %94 düzeylerinde olduğu bildirilmektedir (175). Ancak bu hastalığın kesin tanısı, etkenin kültürlerde üretilmesi ile mümkündür. Genelde kan ve kemik iliği kültürüne başvurulmasına karşın uygun durumlarda eklem sıvısı ve beyin omurilik sıvısı kültüründen de yararlanılmaktadır. Bu amaçla yıllardır konvansiyonel hemokültür sistemleri (klasik yöntemler ve Castaneda besiyeri gibi) kullanılmıştır (176,177). Son yıllarda kullanıma giren ve gittikçe yaygınlaşan yarı ve tam otomatik kan kültürü sistemleriyle, bu bakteriler hem daha kısa sürede (genellikle ilk 7 gün içinde), hem de daha yüksek oranda (>%90) üretilmektedir (178).

Kan kültüründe üreme oranının %20'den düşük olması ve üreme için çoğu kez 30 günden fazla zaman gerekmesi nedeniyle serolojik tanı yöntemleri daha büyük önem kazanmıştır. Günümüzde hızlı izolasyon yöntemleri kullanılarak tanı süresinin kısaltılmasına ve duyarlılığın artırılmasına çalışılmaktadır (68). Bu çalışmada, hastaların tamamında

brusella tanısı, serumda yapılan $\text{STAT} \geq 1/160$ olması ile konuldu. Takip edilen hastaların üçte bir kadarında da beraberinde kan kültüründe *Brucella* spp üremesi oldu.

Akut bruselloz ile kronik ve subakut bruselloz hastalarında kan kültüründe etkenin üretilme oranları farklıdır. Özellikle kronik bruselloz vakalarında kan kültürlerinin her zaman olumlu sonuç vermeyebileceği bilinmektedir. Subakut veya kronik brusellozis vakalarında etkenin üretilmesi için kemik iliği kültürü önerilir. Lokal formlarda ise doku, aspirasyon örnekleri, BOS ve lenf bezi biyopsi kültürlerinden mikroorganizmayı üretmek olasıdır (2). Osteoartiküler komplikasyonları olan brusellozisli hastalarda kan kültürü pozitifliği osteoartiküler tutulumu olmayan hastalara göre belirgin oranda düşük bulunmuştur. Serolojik testlerinin pozitiflik oranında, rose bengal titrelerinde ve indirek immünoflöresanda ise fark bulunmamaktadır (179). Türkiyede yapılan çalışmalarda bakteriyi üretme oranları %6-73 oranlarında bildirilmiştir (34,167,168,170).

Bu çalışmada hastaların üçte bir kadarında kan kültüründe *Brucella* spp. üremesi oldu. Hastaların tamamının akut bruselloz tanısı alması nedeniyle daha yüksek oranda kan kültürü üremesi beklerdik, ancak hastalar poliklinik takibinde olduklarından ateşli dönemlerinde hastalara ulaşamadı, alınan kan kültürü sayısı az olduğundan kültür üreme oranının düşük olduğunu düşünmekteyiz.

Brusella bakterilerine in vitro etkili antibiyotikler; tetrasiklinler, trimetoprim/sulfametoksazol, rifampisin ve florokinolonlardır (106) Tedavide hücre içi bakterilere de etki edebilen antibiyotikler seçilmelidir (106). Erişkinde akut bruselloz tedavisinde altın standart, doksisisiklin, rifampisin ve streptomisin'in en az ikili kombine olarak kullanımıdır. Doksisisiklin 2*100 mg, rifampisin 1*600 mg ve streptomisin 1*1g dozlarında uygulanır. Alternatif olarak hastanın durumuna göre trimetoprim/sulfametoksazol, ampicilin sulbaktam, gentamisin ve kinolonlar da kullanılabilir (100). Bu çalışmada, DSÖ'nün önerileri doğrultusunda en sık doksisisiklin, rifampisin ve streptomisinden en az ikisi kullanılarak hastalar tedavi edildi. İlaç dozu ve tedavi süresi DSÖ'nün akut bruselloz için önerdiği doz ve süre kadar uygulandı. Hastalar tolere edebildiği sürece ilgili ilaçlarla başarının yüksek olduğu düşüncesindeyiz.

Çalışma başlangıcında hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun vücut kitle indeksleri (BMI) ölçüldü. Yapılan çalışmalarda, obezitede oksidatif stresin arttığı, antioksidan değerlerin azaldığı gösterilmiştir. Çalışmanın sağlığı açısından, obez hasta grubunu dışlamak için bu değerlere bakıldı. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı fark olmadığı gibi ($p>0.05$), her iki grupta da BMI düzeyleri normal ve normalin üst sınırındaydı.

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır (180,181). Serbest

radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Serbest oksijen radikallerinin, ilaç ve toksinle oluşan reaksiyonlar, kurşun zehirlenmesi, aminoglikozit nefrotoksisitesi, ağır metal nefrotoksisitesi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, glomerulonefritis, hepatitis B, iskemi ve reperfüzyon, Vit E eksikliği, kanser, amfizem, hiperoksi, bronkopulmoner displazi, arteroskleroz, pankreatitis ve romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogenezisinde etkili oldukları öne sürülmektedir (182,183).

Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir (131). Antioksidan sistem hasar öncesi radikal oluşumunu önler, oksidatif hasarı onarır, hasara uğramış molekülleri temizler ve oksidatif mutasyonları önler (156). Hücreler metabolik sürecin bir parçası olarak devamlı serbest radikal ve reaktif oksijen türlerini oluştururlar. Bu serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri kompleks bir antioksidan sistem tarafından nötralize edilirler. Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri veya serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizliktir ve bu dengesizlik önemli hücre bölümlerinde geri dönüşümsüz hasara neden olabilir. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir (150).

Sağlıklı bir organizmada toplam oksidan ve antioksidan düzeyleri bir denge halindedir. Organizmada normal fizyolojik olaylar sırasında gelişen ya da çevresel zararlı ajanlara maruz kalınmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri belirli düzeyi aşarsa veya antioksidanlar yetersiz kalırsa denge oksidanlar lehine bozulursa oksidatif stres ortaya çıkar. Serbest oksijen radikalleri organizmanın yapı elamanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlere zarar vererek kalıcı hasara yol açarlar (150).

Enfeksiyon hastalıklarında, inflamatuvar hücrelerin aktive olarak reaktif oksijen ve nitrojen türleri salgıladıkları gösterilmiştir. Birçok enfeksiyon hastalığında oksidatif stresle ilgili araştırma yapılmış, malaryada, intraabdominal sepsiste, kızamıkta, farelerde alt üriner sistem enfeksiyonlarında, *H. capsulatum* enfeksiyonunda, hepatit B ve hepatit C enfeksiyonunda, *N. gonore* enfeksiyonunda, sepsiste, gebelerdeki üriner sistem enfeksiyonunda, hepatit C ile enfekte son dönem böbrek hastalarında, *P. brasiliensis* enfeksiyonunda oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (7,8,9,10,11,12).

Brusellozun patogenezinde serbest oksijen radikallerinin yükselmesi ve antioksidan kapasitenin düşmesinin rolü olabileceği düşünülmektedir (9). Başkent Üniversitesi tarafından

yapılan bir çalışmada, 69 brusellozlu hasta ile 69 sağlıklı erişkin, peroksit, malondialdehit, katalaz, OSI, TAC değerleri açısından karşılaştırılmış, hasta grubunda, malondialdehit, peroksidaz değerlerinin yükseldiği, TAC değerinin arttığı görülmüş, tersine sağlıklı grupta bu değerlerin düşük seyrettiği görülmüştür. OSI düzeyi, brusellozlu hastalarda yüksek, kontrol grubunda düşük bulunmuştur (13). Literatürde, brusellozda oksidatif stresin değerlendirildiği başka bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, akut brusellozlu hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönem ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldı. Çalışmanın, brusellozda tedavi öncesiyle sonrasını kıyaslayan ilk çalışma olması nedeniyle orijinal ve bu hastalarda tedavinin etkinliğini göstermesi açısından da değerli olduğunu düşünmekteyiz.

Her üç grupta; TAS, TOS ve OSI düzeyleri karşılaştırıldı. Üç grubun da birbirinden farklı olduğu görüldü. TOS ve OSI düzeyleri akut bruselloz tedavi öncesi grupta en yüksek, tedavi sonrası grupta daha düşük, kontrol grubunda ise en düşük bulunurken, TAS düzeyi akut bruselloz tedavi öncesi grupta en düşük, tedavi sonrası grupta daha yüksek, kontrol grubunda ise en yüksek bulundu. Tedavi edilen bruselloz hastalarında TOS ve OSI düzeyleri sağlıklı kontrol grubu seviyelerine indiği görüldü ama hiç hasta olmayalardan yine yüksek tespit edildi. Yine TAS seviyesinin tedavi edilen bruselloz hastalarında tedavi öncesine göre yüksek fakat sağlıklı kişilerdeki kadar yüksek olmadığı izlendi. Bu durum hastalık geçirilse bile hastalarda bir miktar oksidatif hasarın da kalabildiğini ancak belki daha uzun süreli bir takiple tamamen veya tama yakın oranda düzelme olabileceğini düşündürmektedir.

Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (14,15). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da tedavi öncesi akut brusellozda tedavi sonrasına göre, tedavi sonrası hasta grubunda ise sağlıklı kontrol grubuna göre toplam antioksidan kapasite anlamlı olarak düşük bulundu. Bu sonuca göre, TAS'ın hastalığın takibinde önemli bir parametre olabileceği kanısına varılabilir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ağrı, mental ve sosyal fonksiyonlar gibi bazı yaşam kalitesi skorlarının, antioksidan enzim aktiviteleri ve NO seviyeleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (185).

Bruselloz, ateş, halsizlik, iştahsızlık gibi genel enfeksiyon belirtilerinin yanında yaptığı eklem ağrısıyla yaşam kalitesini bozan, sosyal hayatı olumsuz etkileyen bir hastalıktır (186).

Bu çalışmada, yaşam kalite skorlarının düşük olduğu diğer hastalıklarda yapılan araştırmalarla uyumlu olarak oksidatif stresin arttığı, antioksidan değerlerin düştüğü gösterildi. Bu nedenle hastalığın asıl tedavisine ek olarak verilebilecek antioksidan

destekleyici tedavisi bu hastaların daha çabuk iyileşmesine katkıda bulunabileceği gibi, hastaların sosyal yaşamını etkileyen belirti ve semptomlarında daha kolay bir şekilde düzelmesine katkıda bulunabileceğide ortaya konuldu.

VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bruselloz, ülkemizde endemik olarak görülen zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır ve ana bulaş yolu çiğ süttten yapılmış ürünlerin tüketimidir. Brusellozla savaşımında halkın bilgilendirilmesi, hayvanların aşılınması, süt ve süt ürünlerinin pastörize edilmesi son derece önemlidir. Bruselloz, hemen her organı etkilediği için zengin klinik görünümüne sahiptir. Brusella enfeksiyonlarının kendine özgü, diğer enfeksiyonlardan ayırt edici belirtileri yoktur. Tanının gecikmesiyle komplikasyon sıklığında artış olması, hastalığın kronikleşme eğilimi olması gibi nedenlerden dolayı ülkemizde ateş, terleme ve eklem ağrısı gibi yakınmalarla sağlık kuruluşlarına başvuran hastalarda ve nedeni bilinmeyen ateş vakalarında ayırıcı tanıda bruselloz mutlaka düşünölmelidir.

Menenjit, endokardit gibi yaşamı tehdit eden klinik tablolar da yapabilen brusellozun patogenezinde oksidatif stresin rolü olabileceği düşünölmektedir. Mortalitesi düşük, morbiditesi yüksek olan bu hastalıkta oksidatif stresin arttığı, total antioksidan kapasitenin ise düştüğü gösterilmiştir. Bruselloz tedavisi ile oksidatif stresin azaldığı görölmüştür. Bu da hem bruselloz patogenezinde oksidatif hasarın etkili olabileceği, hem de tedavi takibinde kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca destekleyici tedavi olarak antioksidanların da bruselloz tedavi protokolüne eklenmesinin hem sosyal hemde medikal tedavide daha yüz güldürücü sonuçlar doğuracağını çalışma bulgularımız ışığında söyleyebiliriz. Ancak bu sonucumuzun teyit edilebilmesi için tedavi grubu yanı sıra tedavi artı destekleyici antioksidan tedavi alan grubunda çalışmaya dahil edildiği daha geniş bir populasyon üzerinde daha kapsamlı ve geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

VII. KAYNAKLAR

1. URL:<http://www.who.int/healthinfo/statistics/mortestimatesofdeathbycause/en/index.html> (The world health report 2004 - changing history; erişim tarihi 26.03.2008).
2. Doğanay M, Meşe EA. Bruselloz. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel tıp kitapevleri, 2008: 897-908.
3. Young EJ. Brucella species. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R(eds). Elsevier Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005:2669-74.
4. Dilek O.N. Serbest Radikaller ve Cerrahi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği III. Ulusal Kongresi. Afyon, 23-30 Mart 2003:6.
5. Skrzydlewska E, Stankiewicz A, Sulkowska M. Antioxidant status and lipid peroxidation in colorectal cancer. J Toxicol Environ Health A 2001; 64(3): 213-22.
6. Breimer LH. Molecular mechanisms of oxygen radical carcinogenesis and mutagenesis:the role of DNA base damage. Mol Carcinogenesis 1990; 3(4): 188-97.
7. Gantt KR, Goldman TL, McCormick ML, et al. Oxidative response of human and murine macrophages during phagocytosis of Leishmania chagasi. J Immunol 2001;167:893-901.
8. Murray HW, Teitelbaum RF. l-arginine-dependent reactive nitrogen intermediates and the antimicrobial effect of activated human mononuclear phagocytes. J. Infect Dis 1992; 165: 513-7.
9. Draganov D, Teiber J, Watson C. PON1 and Oxidative Stress in Human Sepsis and an Animal Model of Sepsis. Adv Exp Med Biol. 2010; 660: 89-97.
10. Erbay A, Erbay AR, Baykam N. Oxidative Stress In Measles. Turkish Journal Of Infection 2003; 17 (4): 381-3
11. Bayraktar N, Kilic S, Bayraktar MR, Aksoy N. Lipid Peroxidation And Antioxidant Enzyme Activities in Cancerous Bladder Tissue And Their Relation With Bacterial İnfection: A Controlled Clinical Study. J Clin Lab Anal. 2010; 24(1): 25-30.
12. Horoz M, Bolukbas C at all. Oxidative stress in hepatitis C infected end-stage renal disease Subjects BMC Infectious Diseases 2006, 6:114.
13. Serefhanoglu K, Taksin A, at all. Evaluation of Oxidative Status in Patients with Brucellosis. Braz .J. Infect Dis. 2009 ;13(4):249-51
14. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions, Clin Biochem, 2004; 37(2): 112-19.

15. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, et al. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data, *Free Radic Biol Med*, 2000; 29(11): 1106-14.
16. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi, Tümbay E, Mete Ö. Temel ve klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara 1999; 571-77
17. Capasso L. Bacteria in two-millennia-old cheese, and related epizoonoses in Roman populations. *J. Infect* 2002; 45: 122-27
18. T.C. Tarım Bakanlığı Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü: ‘Sığırlarda Brusellosis ve Tüberkülozis Mücadele Projesi-14 yıllık’ Tarım Bakanlığı Brusellosis ve Tüberkülozis Şubesi, Ankara ;1965
19. Golem SB: Memleketimizdeki insan ve ehli hayvanlarda Brucella bakımından serolojik araştırma, *Türk Hıfsız. Tetr Biol Mec* 1943; 1: 105.
20. Chu MC, Weyant RS: Francisella and Brucella. Murray Patrick R.(Eds):Manuel of clinical microbiology. ASM pres. Washington DC 2003:789-808.
21. Eduardo G, Carlos C: Brucella. In: Sherwood L, Gorbach MD,John G. Barlett MD, Neil R.Blackow MD. Infectious Diseases Second Edition, Philephia: Wb Saunders Company 1998;1837-45
22. Sağlık Bakanlığı verileri (www.saglik.gov.tr İstatistikler / Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı 2005).
23. Günay O. Brusellozun epidemiyolojisi ve korunma yolları Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kayseri 26-28 Haziran 1990.
24. Öztürk R, Soysal F, Atış K. Sperm kültüründe Brucella melitensis Üretilen Bir Epididimo-Orşit Bruselloz Olgusu. *Türk Mikrobiyol Cem. Derg.* 1993; 23: 148-50.
25. Dahouk SA, Tamaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis-A Review of literature. Part 1:Techniques for direct detection and identification of Brucella spp. *Clin. Lab.* 2003; 49:487-505.
26. WHO Weekly Epidemiological Record. No: 45, Nov.1986
27. Öztürk R, Soysal F, Atış K. Sperm kültüründe Brucella melitensis Üretilen Bir Epididimo-Orşit Bruselloz Olgusu. *Türk Mikrobiyol Cem. Derg.* 1993; 23: 148-50
28. Palanduz A, Palanduz S, Guler N. Brucellosis in a mother and her young infant: probable transmission by breast milk. *Int J Infect Dis* 2000; 4:55-6.
29. Çelebi S, Hacımustafaoğlu M, Yılmaz E. Çocuklarda nörobruselloz: Üç vaka takdimi. *Çocuk Sağ. Hast. Derg* 2004; 47 (1): 46-9.
30. Yakupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11:1180-85.

31. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of notifiable diseases. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2003; 50:1-108.
32. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K ve ark. Complications of brucellosis in different age groups: A study of 283 cases in Southeastern Anatolia of Turkey. *Yonsei Medical Journal* 2003; 44: 33-44.
33. Göktaş P. Erzincan bölgesinde bruselloz olgularında artış. *İnfeksiyon Dergisi* 1990; 4: 475-81.
34. Taşova Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, İnal S. Bruselloz: 238 erişkin olgunun klinik, laboratuvar ve tedavi özelliklerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12:307-12.
35. Meyer ME. Evolutionary development and taxonomy of the genus *Brucella*. In: Adams LG (ed). *Advances in Brusellosis Research*, 1st. Edition. Texas USA, 1990;12-35
36. Erdenliğ S. Türkiye’de *Brucella* kökenleri. 11. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Kongre Kitabı, 2003; 214-6.
37. Altoparlak Ü. Brusellozun etiyolojisi. *Aknem Derg* 2003; 17(3):330-2.
38. Özsan K: *Brucellosis’in tarihçe ve etiyolojisi*. 24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 26-28 Haziran, Kayseri, 1990.
39. http://staff.vbi.vt.edu/pathport/pathinfo_images/Brucella_abortus/Brucella_melitensis_colonies
40. Aydın N. *Brucella* İnfeksiyonları, Özel Mikrobiyoloji ve Bakteriyel enfeksiyöz Hastalıklar, A.Ü.Vet. Fak. Yayınları No.386, Ankara; 1982; 225-2.
41. Yakupsky P. Minireview: Detection of brucellae in blood cultures. *J. Clin Microbiol.* 1999;37: 3437-42.
42. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteriyel Enfeksiyonlar . Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, 2000:199-214
43. Erdenliğ S, Şen A. Koyun atıklarından izole edilen *Brucella* cinsi mikroorganizmaların izolasyonu ve biyotiplendirilmesi. *Pendik Vet. Mikrobiol Derg* 2000; 31 (2): 31-42.
44. Yılmaz S, Karaman Z. 1971-81 yılları kapsayan süre içerisinde sığır ve koyunlarda yapılan *brucella* jerm izolasyonları, *Etlik Vet. Mik. Enst. Derg* 1981; 1.2.3:29-33.
45. Baysal B. *Brucella*. In : Ustaçelebi Ş. (eds). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Basım Ankara. Güneş Kitapevi, 1999:571-7.
46. Artan C. Deneyisel Fare Bruselloz Modelinde Doksisiklin ile Levofloksasinin etkisinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı. Kayseri.2001.

47. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3.basım. Fakülteler Kitapevi. İzmir 2002; 475-8.
48. Badur S. Brusellozda serolojik tanı ve seroepidemioloji. Klimik Dergisi 1990; 3: 17-20.
49. Corbel MJ: Recent advances in the study of Brucella antigens and their serological cross-reactions. Vet. Bull. 1985; 55(12): 927-47.
50. Corbel MJ. Microbiology of the genus Brucella. In: Young EJ, Corbel MJ, ed. Brusellosis: clinical and Laboratory Aspects, Florida USA: Crc Pres Inc 1989; 54-67.
51. Martin NL, Hancock REW. Function and structure of the major components of the outer membrane of gram negative bacteria Brucella. In: Adams LG(ed). Advances in Brusellosis , Texas USA, 1990; 55-75.
52. Winter AJ. Mechanisms of protective immunity against Brucella abortus in the Mouse model system of infection. Advances in Brusellosis Research 1st Edition, Texas USA, 1990; 137-43
53. Limet JN, Bosseray N, Garin-Bastuji B, Dubray G, Plommet M. humoral immunity in mice mediated by monoclonal antibodies against the A and M antigens of Brucella. J. Med. Microbiol 1989; 30:37-43.
54. Corbel MJ. Microbiology of the genus Brucella. In: Young EJ, Corbel MJ (ed). Brusellosis: clinical and Laboratory Aspects, Florida USA: Crc. Pres . Inc, 1989: 54-67.
55. Anonymous. Brusellosis in sheep, goats and swine, OIE Manuel, Vol-III (B/023-24-52), Paris France, 1991:75017
56. Brinley Morgan WJ. Comparasion of various media for the growth and isolation of Brucella. Res. Vet. Sci 1960; 1(1): 47-52
57. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Woods G, Schreckenberger P. Color atlas and textbook of diagnostic Microbiology. Baltimore, 2006 : 482-91
58. Esenal ÖM, Yardımcı H, Yıldırım M, İlhan Z, Altay G, Özgür M. Brucella türlerinin identifikasyonunda boya emdirilmiş disklerin kullanılması, III. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 23-25 Eylül 1998, U.Ü. Veteriner Fakültesi, Bursa, 1998:9-10
59. Jiang X, Baldwin C. L.: Iron Augments Macrophage-Mediated Killing of Brucella abortus Alone and in Conjunction with Interferon Gamma. Cell. Immunol. 1993; 147: 397-407.
60. Ang R, Banai M, Lishner M, Rubinstein E. Brusellosisi: International Journal of Mikrobial Agents .1995; 5: 203-8.
61. Chugh TD, Nusrat H, Mustafa AS. A study of secreted cytokine profile in human bruscellosis. 11 th ECCMID 1-4 April Congress Book, İstanbul, Turkey. 2001; 601.

62. Campbell GA, Adams LG: The Long-Term Culture of Bovine Monocyte-Derived Macrophages and Their Use in the Study of Intracellular Proliferation of *Brucella abortus*. Vet. Immunol. Immunopatol, 1992; 34: 291-305
63. Amstrong D, Cohen J. *Brucella* spp. In Infectious Disease, London: The CV Mosby Company, 1999: 8(20):3-5
64. Slack MPE. Gr(-) Coccobacilli, *Brucella* spp. In Infectious Diseases. Armstrong D, Cohen J (eds), Harcourt Publishers Ltd. London, 1999; (1):20(8), 3-5
65. Yılmaz M. Bruselloz. Türkiye’de Sık Karşılaşılan Hastalıklar I Sempozyum Dizisi No: 55 . Ocak 2007: 215-26
66. Gotuzzo E, Carillo C. *Brucella* ; In Infectious Diseases. Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklov NR(es). 2th ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia 1998; 1837-45.
67. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Genus *Brucella*, In Diagnostic Microbiology. Bailey & Scott’s (eds)., 9th ed. St. Louis, Missouri, 1994:408-10
68. Mousa ARM, Saeed AM, Almudallal DS, et al. Osteoarticular complications of brucellosis: A study of 169 cases. Rev. Infect. Dis. 1987 ; 9(3) : 531-43.
69. Kılıçturgay K. Brusellozin kliniği 24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kayseri, 26-28 Haziran, 1990.
70. Koneman EW, Allen DS, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn CW. *Brucella* Species, In Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology. 5th ed, Lippincott, Philadelphia, New York 1997; 431-6
71. Finegold SM. Genus *Brucella*, In Diagnostic Microbiology. Ed. Bailey & Scott’s, 9th ed. St. Louis, Missouri, 1994; 4:408-410.
72. Aktaş O. Brusellozda mikrobiyolojik tanı. ANKEM Derg 2003; 17: 336-9.
73. Gedikoğlu S, Helvacı S, Özakın C, Gökırmak F, Kılıçturgay K. Detection of *Brucella melitensis* by Bactec NR 730 and Bactec 9120 system. Eur. J. Epidemiol. 1996; 12: 649-50.
74. Matar GM, Khneisser IA, Abdelnoor AM. 1996. Rapid Laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence on the 31-kilodalton *Brucella* antigen DNA. J. Clin Microbiol. 34:477-8.
75. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. N. Engl. J. Med. 2005; 352: 2325-36
76. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S17.

Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.

77. Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Rev Mol Diagn.* 2004; 4(1):115-23

78. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, Forootan A, Jonak J, Lind K, Sindelka R, Sjoback R, Sjogreen B, Strombom L, Stahlberg A, Zoric N. The rel-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine.* 2006; 27: 95-125.

79. Redkar R, Rosa S, Bricker B, DelVecchio V. 2001. Real-time detection of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *Mol Cell Probes* 15;43-52.

80. Leal-Klevezas DS, Martinez- Vazquez LO, Lopez-Merino A, Martinez-Soriano JP. Single –Step PCR for detection of *Brucella* spp. From blood and milk of infected animals. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(12): 3087-90

81. Köksal F. Nükleik Asit Çoğaltma Yöntemleri. *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitapevleri* , 2001;15-34.

82. Monis PT, Giglio S. Nucleic acid amplification-based techniques for pathogen detection and identification. *Infection, genetics and evolution* 2006; 6; 2-12.

83. Bilgehan H. Brucelloz tanısında aglütinasyon. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3. baskı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitapevi, İzmir, 2002; 223-7*

84. Dahouk SA, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D: Laboratory-based diagnosis of Brucellosis-A review of the literature. Part II: Serological test for brucellosis. *Clin Lab* 2003; 49: 577-89.

85. Bilgehan H. Brucelloz tanısında aglütinasyon. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3. baskı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitapevi, İzmir, 2002; 223-7*

86. Tümtürk A, Yetkin MA, Tülek N, Kılıç D. Brusellozun tanı ve takibinde serum aglütinasyon testi ve "enzyme-linked immunosorbent assay" yönteminin yeri. *Klinik* 2004; 17(2):107-12.

87. Garin-Bastuji B, Blasco JM, Marin C, Albert D. The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. *Small Ruminant Research* 2005; 62: 63-70.

88. Araj GF, Brown GM, Haj MM, Madhvan NV: Assessment of brucellosis card test in screening patients for brucellosis. *Epidemiol Infect* 1988; 100: 389

89. Sippel JE, El-Marsy NA, Farid Z. Diagnosis of human brucellosis with ELİSA. *Lancet.* 1982; 3; 2(8288); 19-21.

90. Smits HL, Basahi MA, Diaz R, Marrodan T, Dauglas JT, Rocha A, Veerman J, Zheludkov MM, Witte OWM, deJong J, Gussenhoven GC, Goris MGA, Vander Hoom MAWG.

Development and evaluation of a rapid dipstick assay for serodiagnosis of acute human brucellosis. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37(12) : 4179-82.

91. Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K: Competitive enzyme immunoassay for diagnosis of human brucellosis, *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 3245.

92. Araj GF, Kaufmann AF. Determination by enzyme-linked immunosorbent assay of immunoglobulin G(Ig G), Ig M and Ig A to *Brucella melitensis* major outer membrane proteins and whole-cell heat-killed antigens in sera of patients with brucellosis. *J. Clin Microbiol.* 1989; 27:1909-12.

93. Rolain JM, Maurin M, Raoult D. Bactericidal effect of antibiotics on *Bartonella* and *brucella* sp : clinical implications. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000; 46: 811-4.

94. Altuğlu I, Zeytinoğlu A, Bilgiç A, Kancıoğlu S, Karakartal G, Smiths H, Evaluation of *Brucella* dipstick assay for the diagnosis of acute brucellosis. *Diag Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 241-3

95. Orduna A, Almaraz A, Prodo A, Gutierrez MP, Pascual AG, Duenas A, Cuervo M, Abad R, Hernandez B, Lorenzo B, Bratos MA, Torres AR. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38:11: 4000-05.

96. Nielsen K, Gall D: Fluorescence polarization assay for the diagnosis of brucellosis: review, *J. Immunoassay Immunochem.* 2001; 22: 183-6.

97. Hoşoğlu S, Kaya H, Çobaner A, Ayaz C, Yılmaz S, Özbek N. Brusellozda kemik sintigrafisinin önemi. *Klinik Dergisi* 1998; 3: 92-4.

98. Yaylı G. Bruselloz. *Antimikrobiyal Tedavi Bülteni.* 1999; 3(2); 66-72.

99. Cengiz AT. Bruselloz'da korunma ve tedavi. Bruselloz simpozyumu. Prof. Dr. Kemal Özsan Tıp Günleri-1. Ankara, 2000: 57-67.

100. Özsüt H.: Bruselloz tedavisi. *Klinik Derg.* 1990; 3(1): 26-9.

101. Öztürk R. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinde Sorunlar: *Brucella*. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı Kitabı, 11-12 Nisan 1997, İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını no: 33, 56-64.

102. Türkçapar N, Kurt H. Bruselloz. *Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları.* Uzun Ö, Ünal S(eds). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2001; 1015-23.

103. Sümerkan B. *Brucella* Türleri. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Cilt 2, Etkenlere göre enfeksiyonlar, Nobel tıp kitabevleri. 2002:1647-52.

104. Cengiz AT. Brusellozda korunma ve tedavi, Prof. Dr. A. Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Bruselloz Sempozyumu Kitabı, Ankara, 2000; 57-67.
105. Salata RA, Radvin JJ, Brucella species (Brucellosis) In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Second edition, New York: John Wiley and Sons 1985: 1283-90
106. FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis (Sixth Report). Geneva: World Health Organization, 1986; 740: 56-7.
107. Hall HW: Modern Chemotherapy for Brucellosis in Humans. Rev Infect Dis 1990; 12: 1060.
108. Gotuzzo E, Cellillo C. Brucella. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Diseases. 2nd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia 1992; 1513-21.
109. Taşyaran MA, Kaya A, Aktaş O, Yılmaz Ş. Ceftriaxone in the treatment of acute brucella meningitis. The New Journal of Medicine 1995; 12: 120-1.
110. Murray PR, Rosenthal KS, Kabayashi GS et al. Eds. Brucella. In Medical Microbiology. Fourth edition, St Louis Missouri, Mosby, 2002: 312-5.
111. Jahans KL, Fosler G, Broughton ES. The characteristics of Brucella strains isolated from marine mammals. Vet Microbiol. 1997; 57: 373-82.
112. Yılmaz M. Bruselloz .İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No: 55. Ocak 2007: 215-26
113. Milligan A , Brown G. :Prolidase Deficiency : a Case Report and Literature Review. Brit J. Dermatol, 1989; 121:405 –9
114. Dündar Y, Aslan R. Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü, Hayvancılık Araştırma Dergisi. 1999; 9(1-2): 32-9
115. Abuja P.M, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clinica Chimica Acta. 2001; 306:1-17
116. Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. Clinical chemistry. 3th Ed. Mosby Year Book, Inc. 1996; 765-77.
117. Yeum K-J, Russell M.R, Krinsky I.N, Adlini G. Biomarkers of antioxidant capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2004; 430: 97-103.
118. Dormandy T L. An approach to free radicals. Lancet, 1983; 322:1010-13.
119. Kaynak K. Akciğer kanserinde oksidatif hasarın rolü. Solunum, 2002; 4(4); 468-73.
120. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 2th Ed. Oxford: Clarendon Press, 1989:125.

121. Zwart De LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999; 26: 202-26.
122. Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayiroğlu F. Serbest Radikal Türlerin Membran Lipid Peroksidasyonuna Etkileri ve Antioksidan Savunma, *Y.Y.Ü Sağlık Bil Derg* 1995;2(1); 137-42.
123. Byung PY. Cellular Defenses Against Damage from Reactive Species. *Physiological Review*, 1994; 74(1): 139-72.
124. Young I. S, Woodside J.V. Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol*, 2001; 54:176-86
125. Clarkson P.M, Thompson H.S. Antioxidants: What role do they play in physical activity and health. *Am. J. Clin. Nutr*, 2000;72:637-46
126. Mccord JM: Human disease, free radicals, and the oxidant / antioxidant balance. *Clin. Biochem* 1993; 26, 351-7.
127. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioksidant Activity and Phenolic Compounds Of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated With Anticancer, *Life Sciences*, 2004; 74; 2157-84.
128. Sökmen A, Gürel E.” Bitki Biyoteknolojisi”. Babaoğlu M, Gürel E , Özcan S (eds). Bölüm 7, Sekonder Metabolit Üretimi. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 2001; 211-61.
129. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, et al. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery, *Plast Reconstr Surg*, 1987; 79: 6, 990-7.
130. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?, *Lancet*, 1994; 344: 8924, 721-4.
131. Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995: 1-15
132. Sies H. Oxidative stress. From basic research to clinical application. *Am. J. Med*, 1991; 91(3): 31-8.
133. Urso ML, Clarkson MP. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 2003; 189: 41-54
134. Halliwell B, Gutteridge JMC .Free Radicals in Biology and Medicine, Third Edition, Oxford Science Publications, 2001: 22-4.

135. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1992; 119(6): 598-620.
136. Church DF, Pryor WA. Free Radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Perspect*, 1985; 64: 111-26
137. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001; 31(11): 1287-317
138. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv*, 2004; 13:120-13
139. Zimmerman, B. J.; Granger, D. N. Mechanisms of reperfusion injury. *Am. J. Med. Sc.*, 1994; 307: 284–92.
140. Kontos H, Wei E. P, Ellis E. F, Jenkins L. W, Povlishock J. T, Rowe G. T, Hess M. L. Appearance of superoxideanion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ. Res.* 1985; 57:142–15.1
141. McIntyre M, Bohr D. F, Dominiczak A. F. Endothelial function in hypertension. *Hypertension*, 1999; 34: 539–45.
142. Oruç Özcan E. 2,4-Diamin ve Azinfosmetilin *Tilapia Nilotica*'da Karaciğerde Antioksidan Enzim Aktivitelerine ve Lipid Peroksidasyonuna Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 1998
143. Hinder R.A, Stein H.J. Oxygen-derived free radicals. *Arch. Surg.*1991;126:104-5
144. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 1984; 219: 1-14
145. Gutteridge J M C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995; 41:1819-28
146. Ünal B. B Talasemi ve G6PD Enzim Eksikliğinde MDA Düzeyi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, 1999.
147. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland,1996.
148. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania, 1999.
149. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 1997; 3-4: 92-5.
- 150.Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların Patogenez ve Tedavisinde Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidanlar. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 1997; 3-4: 96-101.

151. Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. Arşiv. 2002;11:299.
152. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. Arşiv, 2004; 13:120-23
153. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes, Diabetes, 1991; 40(4): 405-12.
154. Bankson DD, Kestin M, Rifai N. Role of free radicals in cancer and atherosclerosis, Clin Lab Med, 1993; 13: 2, 463-80.
155. Altan N, Dinçel A.S, Koca C..Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. Türk Biyokimya Dergisi 2006; 31 (2); 51–6.
156. Sorg O. Oxidative stres: a theoretical model or biological reality. C.R.Biologies 2004; 327: 649-62.
157. Bowler R.P, Crapo J.D. Oxidative Stres in Allergic Respiratory Diseases. J. Allergy Clin İmmunol 2002;110(3): 349-56.
158. Yao JK, Reddy R, McElhinny LG, et al. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia, Schizophr Res, 1998; 32: 1, 1-8.
159. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005; 38(12):1103-11.
160. Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol 2005; 192: 656-7
161. Harma M, Erel O: Measurement of the total antioxidant response in preeclampsia with a novel automated method. Eur. J .Obstet Gynecol Reprod Biol; 2005;118(1): 47-51
162. Pappas G, Papadimitriov P, Akritidis N, Christov L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis 2006; 6: 91-9
163. Ayaz C. Brusellozun Türkiye’deki durumu. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı. Antalya, 2005:100-1.
164. Yüce A, Alp-Çavuş S, Türkiye’de Bruselloz: Genel bakış. Klimik Derg 2006; 19(3): 87-97
165. Doğanay M, Aygen B, Eşel D. Brucellosis due to blood tranfusion. J. Hosp. Infect. 2001; 49(2): 151-2.
166. Akçakuş M, Esel D, Çetin N, Kısaarslan A, Kurtoğlu S. Brucella melitensis in blood cultures of two newborns due to Exchange transfusion. Turk J. Pediatr 2005; 47: 272-4.
167. Yüce A, Alp-Çavuş S, Yapar N, Çakır N. Bruselloz: 55 Olgunun Değerlendirilmesi. Klimik Derg, 2006; 19(1):13-7.

168. Geyik M F, Kökoğlu Ö F, Hoşoğlu S, Ayaz C. Brusellozlu 154 Hastanın Değerlendirilmesi. Dicle Tıp Dergisi 2002; 29 :1-2.
169. Batmaz E, Çakır Edis E. ve ark. Brusellozda Akciğer tutulumu: Olgu Sunumu. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2007; 24(1): 70-3
170. Tansel Ö, Yavuz M, Kuloğlu F, Akata F. Trakya Üniversitesi Hastanesine Başvuran 40 Bruselloz Olgusunun Değerlendirilmesi. İnfek. Derg. 2003;17:1-4.
171. Özer S, Oltan N, Gencer S. Bruselloz. 33 Olgunun Değerlendirilmesi. Klimik Derg 1998;11:82-4.
172. Mert A, Bilir M, Özaras R, Tahan V, et al. Hepatik gramülomların etyolojisinde sarkoidoz ve tüberkülozun yeri: 56 olgunun geriye dönük değerlendirilmesi ve literatür derlemesi. Flora 2000; 5(4): 258-63.
173. Harrington PT, Gutierrez JJ, Ramirez-Ronda CH, Quinones-Soto R, Bermudez RH, Chaffey J. Granulomatous hepatitis. Rev Infect Dis 1982; 4(3): 638-55.
174. Uslusoy H, Kıyıcı M ve ark. Brusellozis'e bağlı akut hepatit: Olgu sunumu. Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2006; 5 (1): 65-7
175. Çiftçi C, Öztürk F, Öztekin A ve ark. Comparison of the serological tests used for the laboratory diagnosis of brucellosis. Mikrobiyol Bul 2005; 39: 291-9
176. Ulusoy S, Dirim Ö, Erdem İ, Yüce K, Büke M. Akut brusellozlu 75 olgunun klinik laboratuvar ve sağaltım yönünden değerlendirilmesi. Enfeks. Derg, 1995; 9(3): 263-5
177. Memish Z, Mah MW, Mahmoud SA, Shaalan MA, Khan MY. Brucella bacteremia: clinical and laboratory observations in 160 patients. J. Infect 2000; 40:59-63
178. Ruiz J, Lorente I, Perez J, Simarro E, Martinez-Cambos L. Diagnosis of brucellosis by using blood cultures. J. Clin. Microbiol. 1997; 35(9): 2417-8
179. Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, et al. The sensitivity and specificity of Brucella agglutination tests. Diagn Microbiol Infect Dis 2003; 46:241-3.
180. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafarizadeh K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. Comp. Biochem. Physiol. C, 2003 ; 135: 331-6.
181. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A : Pesticides and oxidative stress : a review. Med. Sci. Monit., 2004;10: 141-7
182. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. Ann. Intern. Med, 1987; 107: 526-45.
183. Özdem SS, Şadan G. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg., 1994; 11: 63-71

184. Murray HW, Teitelbaum RF. l-arginine-dependent reactive nitrogen intermediates and the antimicrobial effect of activated human mononuclear phagocytes. *J. Infect. Dis* 1992;165:513-7.
185. Özgöçmen S, Kaya H, Fadillioğlu E, Aydoğan R, Yılmaz Z. Role of antioxidant systems, lipid peroxidation, and nitric oxide postmenopausal osteoporosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2007; 295 (1-2): 45-5214.
186. Şahan S, Ataman Hatipoğlu Ç, Bulut, Tekin Koruk S, Tuncer Ertem, Tülek N, Kınıklı S, Demiröz AP. Brusellozlu hastalarda tedavinin yaşam kalitesi üzerine olan etkisi. *Klimik Dergisi* 2008; 21(1): 17-20