



# BİRÜNİ

---

## LABORATUVARI

25. yıl



## BRUCELLA İNFEKSİYONLARINDA TANISMA

Brusella cinsi bakteriler koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların etleri; süt, idrar gibi vücut sıvıları; infekte süt ile hazırlanan süt ürünleri ve infekte hayvanın gebelik materyali aracılığıyla insanlara bulaşır. Brusella infeksiyonları titreme ile yükselen ateş, kas ve büyük eklem ağrıları ile seyreder.

Her yıl dünyada 500.000 yeni olgu saptanmakta olup, Akdeniz havzası ülkeleri, Meksika ve Orta Doğu ülkeleri gibi birçok ülkede, hiperendemik olarak görülmektedir. Hastalık ilk olarak Malta adasında saptandıktan sonra 'Malta humması' veya 'Akdeniz humması' olarak anıldığı gibi, klinik seyirdeki tipik ateşli trasesine göre dalgalı humma (undulant fever), B. melitensis'in koyunlardan insanlara bulaşması nedeniyle ile koyun hastalığı, hastalığın hayvanlardan insanlara bulaşması nedeniyle ile halk arasında 'mal hastalığı' gibi isimlerle de anılır. İnsanlarda hastalık etkeni olan Brusella

bakterilerinden; B. melitensis esas olarak koyun ve keçilerde, B.abortus daha çok sığır ve mandalarda, B.suis domuzlarda bulunur. Köpeklerde bulunan B.canis'in insanlarda hastalık yapması çok enderdir.

Brusella cinsi mikroorganizmalar 60°C derecede 10 dk.'da, % 0.1 fenolde 15 dk.'da tahrip olurlar. Normal mide asidi mikroorganizmayı öldürmeye yeterlidir. Bunun yanında hayvanların barındığı ahır tozlarında 6 hafta, suda 10 hafta, çelme suyunda 37 gün canlılığını sürdürebilir. Düşük yapımflı hayvan fetüsünde 75 gün, infekte çiğ süttten yapılmış dondurmada 30 gün, çiğ süttten yapılmış tuzsuz krema ya da buzdolabında 142 gün, %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, %17 tuz içeren salamura peynirlerin yapıldığı tarihleri tenekelerin üzerinde yazılı olmalı ve buna dikkat edilmelidir. Isı ve pastörizasyona

oldukça duyarlıdır. Tulum ve kaflar peyniri uzun süre bekletildiği için, yoğurt ise asiditesi fazla olduğundan hastalar fazla bulandırmazlar; aynı zamanda 3 ay buzhanede bekletilen peynirlerde de bulandı riskinin çok az olduğu bildirilmiştir.

### Klinik Özellikler

Brusella bakterilerinin inkübasyon periyodu yaklaşık 2-3 haftadır. Brusella infeksiyonlarının kendine özgü ayırt edici belirtileri yoktur. Diğer birçok hastalar taklit edebilirler. Bruselloz birçok organ sistemini tutarak afağıdaki klinik bulgular gösterebilir. En sık gastrointestinal sistem (%70) olmak üzere sırası ile hepatobiliyer sistem, kas iskelet sistemi, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, respiratuvar sistem, genitoüriner sistem, hematopoietik sistem, cilt tutulumu ve son zamanlarda göz tutulumu da bildirilmektedir. Eklem tutulumu genellikle monoartiküler olup sıklıkla sakroiliak eklemleri tutmaktadır. Hastaların başlangıcında en sık rastlanan semptomlar ateş (%90-95), titreme, terleme (%40-90), halsizlik (%80-95), vücutta yaygın kas ağrıları (%40-70), eklem ağrıları (%20-40) ve iftahaslıktır. Ondulan ateş paterni tipiktir. Bruselloz steril piyüri yapan hastalıklardan biridir. Bu nedenle idrar incelemeleri her hastada olduğu gibi bruselloz düflünülen vakalarda da göz ardı edilmemelidir. Sistemik brusella infeksiyonlarında tipik olarak hastaların semptomlarının

fazlalığına ve ağrılarına rağmen, fiziksel muayene bulguları bununla uyumlu değildir. En sık rastlanan bulgu ateş olup, antibiyotik almış hastalarda görülmeyebilir.

Özetle brusella infeksiyonlarının kendine özgün ayırt edici belirtileri yoktur. İnfeksiyon 4 klinik formda görülebilir:

- 1) Asemptomatik
- 2) Akut infeksiyon, septisemi fleklinde
- 3) Subakut infeksiyon, lokal odaklarda 3 ay ile 1 yıl arasında süren form
- 4) Kronik infeksiyon, 1 yıl veya daha uzun süren form

Brusellozda nonspesifik laboratuvar bulguları: sedimentasyon; 20-50 mm/saat, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma (%15-60), lökopeni (%19), lökositoz (%9), polimorf lökositoz (%8), anemi (%35-70), trombositopeni (%15-35), hemolitik anemi, pansitopeni fleklinde hematolojik bulgular gözlenmektedir.

### Tanı

Brusella infeksiyonlarının klinik belirtilerinin çeşitliliği ve çoğu kez asemptomatik seyretmeleri tanıda güçlüklereden neden olduğundan, bakterinin kendisinin kültür veya PCR ile gösterilmesi veya bakterinin antijenlerine karşı oluşan immün yanıtın saptanması gerekmektedir.

## Özgül Olmayan Tanı Yöntemleri

Brusellozda en sık olarak lökopeni, anemi, trombositopeni, pansitopeni, sedimentasyon hızı artışı gibi hematolojik bulgular ile karaciğer enzimlerinde yükselme gibi biyokimyasal bulgular gözlenmektedir. Ancak rutin hematolojik ve biyokimyasal testler insan brusellozu tanısında spesifik olmadığı için tanıya yardımcı değildir.

## Özgül Tanı Yöntemleri

Brusella tanı için esas izlenmesi gereken yol özgül tanı yöntemleridir. Ancak hastanın değerlendirilmesi ve yorumunda bu testlerin avantajları ve tanısal sınırları iyi bilinmelidir.

a) Direkt Tanı : Kültür, Moleküler Yöntemler

b) İndirekt Tanı : Serolojik Yöntemler

### Kültür

Brusella kültürü kan, kemik iliği veya doku ile yapılmaktadır. Akut infeksiyonlarda kan kültürü yapılmalıdır. Genelde geç ve zor üreyen bir bakteri olmakla birlikte otomatize kan kültürü sistemleri ile ilk 7 günde üreme olmaktadır. Hastanın önceden antibiyotik kullanmış olması sonuçları olumsuz etkiler. Bakteriyemi bütün hastalarda görülmeyebilir ve üreme saptanmayabilir. Kan kültürleri ile hastalık tanımlanamadığında, serolojik testler tanıda önemli rol oynar.

Brusella kültürü hastanın evresi, tedavi uygulanmış olması, uygulanan protokol (örnek türü, sayısı, miktarı), kullanılan kültür yöntemi, bakterinin virülansı gibi pek çok faktörden etkilenebilir. Kemik iliğinde izolasyon başarıları daha fazladır. Ancak invaziv bir enfeksiyon olması, kan kültürünün tanısal kolaylığı, serolojik tanı olanaklarının varlığı nedeni ile rutin olarak uygulanabilen bir yöntem değildir. Kemik iliği kültürü, kan kültürünün ve serolojik yöntemlerin negatif olduğu durumlar, kronik brusellozu olanlar, relapslar, nedeni bilinmeyen ateşli olgular, açılmayan artrit ve hematolojik anomalilerde yapılmalıdır.

### Moleküler Yöntemler

PCR ile BCS P31 geni (31kDa kodlayan), 16 S rRNA geni kodlayan ve dış membran proteini kodlayan genler kullanılarak alt tiplendirmeler yapılmaktadır. PCR ile yaklaşık 700 cfu/mL bakteri saptanabilmektedir. Duyarlılık ve özgüllüğü %98,3-100'dür. Değerlendirmede hastalık geçtikten 5 ay sonra da PCR'nin pozitif olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

### Serolojik Yöntemler

Kültürden mikroorganizmanın izole edilmesi hastanın tanı için kesinleştirirse de bu yöntemin duyarlılığı hastanın evresine bağlı olarak değişmektedir. Kültür negatif olgularda klasik serolojik testler ile antikorların araştırılması önemli yer tutmaktadır.

Hastalıkta antikorlar 2 hafta sonra oluşmaya başlar. Ig M tipi antikorlar yaklaşık 1 haftada ortaya çıkar, 3 ayda en yüksek düzeye ulaşır. Hastalık geçtikten sonra negatifleşir veya düşük titrelerde yıllarca kalabilir. IgG antikorlar ise 3 haftada ortaya çıkar ve 6-8 haftada en yüksek düzeye ulaşır. Klinik olarak iyileşmeden sonra titreleri giderek düşer. Azalmayan IgG seviyesi persistan infeksiyonu, azaldıktan sonra tekrar artan IgG seviyesi nüksü gösterir.

Serolojik tanıda kullanılan testler:

- 1) Rose Bengal
- 2) Standart tüp aglütinasyonu (STA) (Wright)
- 3) Merkapoetanollü wright
- 4) Coombs'lu standart tüp aglütinasyonu
- 5) Immunocapture (Brucellacapt)
- 6) ELISA

### Rose Bengal

Total IgG ve IgM antikorların saptar. Standardize edilmemiş iyi tarama testidir. Aktif infeksiyonda duyarlılık yüksek iken (%96-100), özgüllük (%91-100), kronik infeksiyonda (% 33-50) düşer. Pozitif sonuçların mutlaka Wright testi ile titre edilmesi gerekir.

### Standart Tüp Aglütinasyonu (STA) (Wright)

Serolojik testler içinde en yaygın olarak kullanılan testtir. Serumda total IgG ve IgM antikorların ölçer. Melitensis, abortus ve suis türlerinin infeksiyonların saptar, ancak canis infeksiyonların saptayamaz. STA testinin avantajlar

basit, genellikle ilk pozitifleşen test olması, akut infeksiyonda yüksek duyarlılık ve özgüllükte olması, tekrarlanabilir ve güvenilir olmasıdır. Hastalık evresini saptayamaması, uzun süre yüksek titrede antikor varlığı, çapraz reaksiyon vermesi, prozon fenomeni nedeni ile yanlış negatif sonuç vermesi ise dezavantajlardır. STA testi bazen düşük titrelerde negatif iken, 1/320 üzerindeki titrelerde pozitiflik saptanabilir. Prozon olayı sonucunda düşük titrelerde meydana gelebilecek bu yanlış negatiflik nedeni ile aglütinasyon titresi klinik kufku durumunda 1/1280'e kadar uzatılmalıdır.

Akut infeksiyonlarda tek örnekte 1/160 titre ve üstü veya serokonversiyonun gösterilmesi tanı koydurucudur. Daha düşük titrede pozitiflik ise testin hastanın erken evresinde yapılmış olabileceğini düşündürür. Hastanın endemik olduğu bölgelerde bruselloz olmayan kiftlerde, bir yıl önce tanı konulup tedavi edilen hastalarda, kronik brusellozda veya relapslarda da düşük titrede pozitiflik saptanabilir. Ayrıca tularemi, yersiniya ve lenfoma gibi hastalıklara bağlı düşük titrelerde yanlış pozitiflik olabilir. Yanlış negatif reaksiyon ise infeksiyonun ilk haftasında, B.canis infeksiyonlarında, prozon fenomeni olduğu ve agamaglobulinemi vakalarında olabilir.

Türkiye'nin bruselloz açısından endemik bir ülke olması, tanı

konulmamış birçok bruselloz vakasının farklı hastalık tefhisleri ile yanlış tedaviye maruz kalması yalnızca negatifliğin engellenmesinin önemini daha da artırmaktadır.

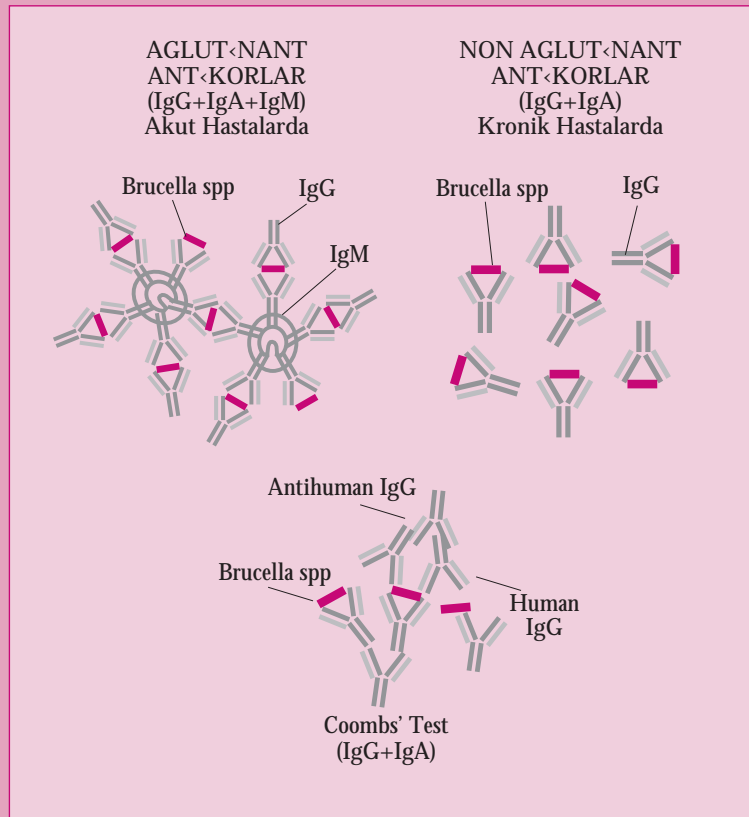
### Merkaptoetanollü STA (Wright)

STA IgM ve IgG'leri saptarken merkaptoetanollü STA'da IgM'lerin aglütinasyon yeteneği ortadan kaldırılır. Sadece IgG'lerin aglütinasyon reaksiyonuna katılması ile IgG'lerin aynı zamanda, indirekt olarak da IgM'lerin tanınması sağlanmıştır.

### Coombs'lu STA (Wright)

Klinik olarak bruselloz belirgin olduğu halde yapılan aglütinasyon test sonucunun negatif bulunması sık

rastlanan bir durumdur. Ayrıca kronik infeksiyonlarda, tekrarlamalarda ve endemik bölgelerde *Brucella*'ya karşı oluşan antikor seviyeleri artar. Bu vakalarda artan antikorların çoğu aglütinasyon göstermeyen IgG antikorlardır (blokan antikorlar, inkomplet antikorlar). Blokan antikorların arastırılması için Coombs testi veya serumun inaktivasyonuna gereksinim vardır. Prozon olayının ortadan kaldırılması için dilüsyonların oldukça ileri oranlarda yapılması gerekmektedir. Tanı koymak için blokan antikorlar ortaya çıkan Coombs antiserumu ile yapılan Wright testi uygulanmalıdır. Bu test IgG ve IgA tipindeki antikorları saptar.



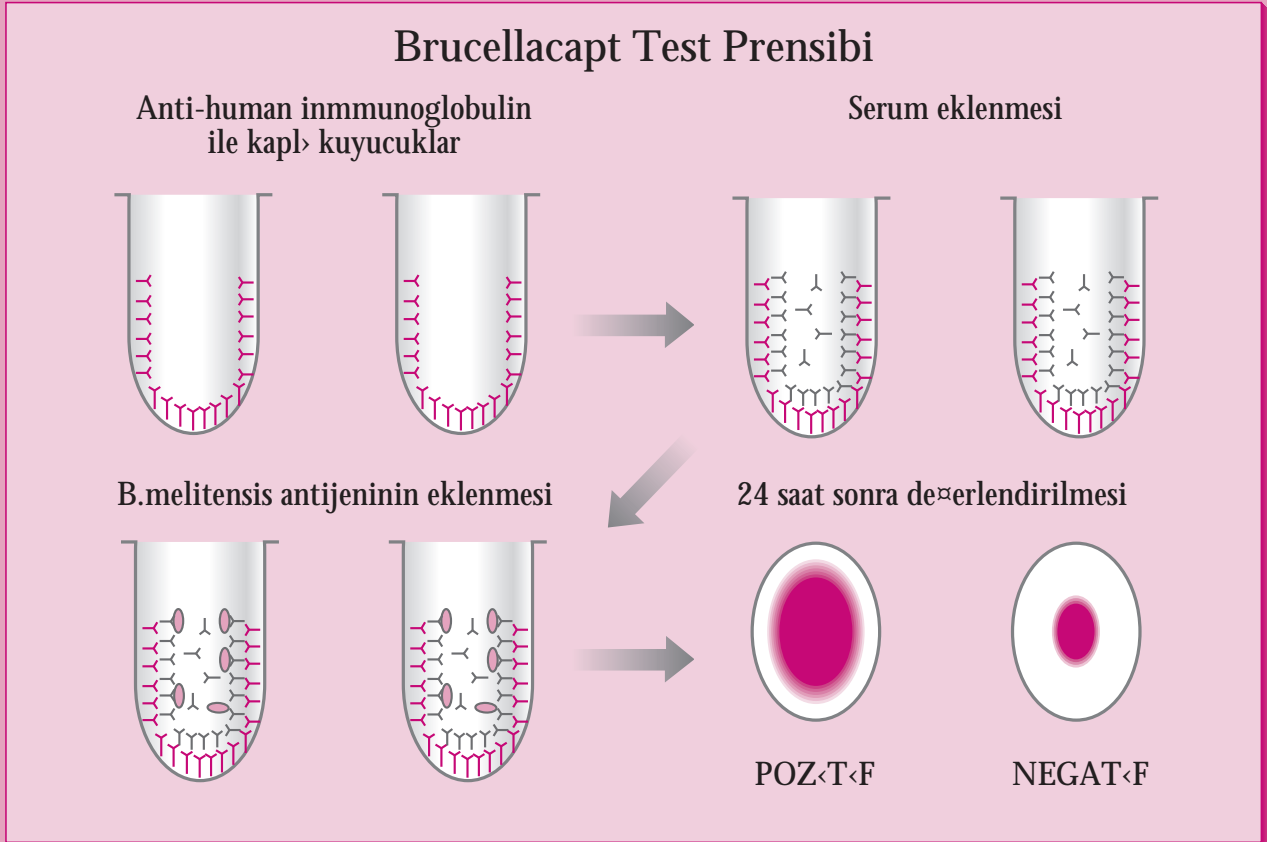
Şekil 1. Akut ve kronik bruselloz hastalarında gelişen antikorlar.

## Brucellacapt (STA+Coombs)

Brucellacapt testi STA ve Coombs testini bir arada bulundurmaktadır. Brucellacapt, kuyucuklarda gerçekleşen ve Coombs antiserumu ile yapılan Brusella aglütinasyon testidir. Brucellacapt yönteminde kuyucuklar insan kaynaklı IgG, IgA ve IgM antikorlarına karşı antikorlarla (Coombs antikorları) kaplı olduğundan Brusella'ya karşı olunan 3 antikor da tespit eder. Brucellacapt RB veya STA ile pozitif bulunan vakalar için bir doğrulama testi değildir, tam tersi olarak belirtilen testler ile yakalanamayan bruselloz vakalarını tespit eder.

STA ve Coombs testi için pozitiflik sınırı 1/160 ve üstü, Brucellacapt için ise 1/320 ve üstü olarak alınmaktadır. Coombs testi ile IgA ve IgG antikorları, Brucellacapt ile ise IgG, IgA ve IgM total antikorları tespit edildiği için Brucellacapt titrasyonları Coombs'lu STA testine göre daha yüksek çıkmaktadır.

Brucellacapt yönteminin blokan antikorları da yakalayıp yüksek titrede antikor tespit etmesinin brusellozun tanımı ve takibinde tedavinin izlenmesi açısından güvenle kullanılabilmesini düşündürmektedir. Brucellacapt titreleri



Şekil 2. Brucellacapt testinin pozitif ve negatif reaksiyonu

tedaviden 3 ay sonra ortalama 1/640 ve 6 ay sonra 1/320 titreye Coombs testinden daha çabuk düflmektedir.

Immunocapture aglütinasyon testi (Brucellacapt) Coombs testinin daha standardize ve değerlendirilmesinde hatalı sonuç olma olasılığı daha düflük bir testtir.

### ELISA

ELISA yöntemi ile Brusella'ya karşı olufan IgG, IgA ve IgM tipi antikorları saptar.

Akut, kronik veya geçirilmifl infeksiyonları saptamada kullanılır. ELISA daha zor ve zaman alıcı olmakla birlikte tüp aglütinasyon testleri gibi çapraz reaksiyon vermez.

Akut ve subakut olguların tespitinde, nörobruselloz tanısında, mesleki maruziyete bağlı aktif ve subklinik vakaların ayrımda yararlıdır. ELISA testi ile, bir serum örneğinde spesifik IgM saptanması her zaman akut infeksiyon lehine değerlendirilmemeli, hangi evrede olursa olsun IgG ve IgM birlikte değerlendirilmeli, tedavi gören olguların izleminde de IgM çalflmalıdır. Avantajları blokan antikorlardan etkilenmemesi, kantitatif olması, objektif sonuç vermesi, kolay uygulanabilmesi ve kitle taramalarına uygun olmasıdır.

### Sonuç

- 1) Her bölge endemik durumuna göre laboratuvar metodunu tercih etmelidir.
- 2) Akut infeksiyonlarda kan kültürü yapılmalıdır.
- 3) RB akut infeksiyonlarda tarama testi olarak önemlidir.
- 4) STA ucuz ve kolaydır ama endemik bölgelerde klinik ile bağdaftırılmalıdır.
- 5) ELISA zaman alıcı olmakla birlikte çapraz reaksiyon vermemektedir.
- 6) PCR pahalı, zor ve zaman alıcı olabilir, ama alt türleri belirlemede önemli olabilir.
- 7) Coombs 1/320 aktif infeksiyonu gösterir; kronik ve persistan olgularda tercih edilir.
- 8) Coombs + STA bir arada olan Immuncapture testi kronik, relaps ve STA (-) olgularda tercih edilmelidir. Coombs'lu STA'ya göre daha kolay, 24 saatte sonuç veren ve standardizasyonu daha iyi bir testtir. Özel cihazlar gerektirmeyen aglütinasyon testleri, ELISA'nın tüm avantajlarına rağmen hala bruselloz serolojisindeki yerini korumaktadır.

## Kaynaklar

1. Maria Pia Franco, Maximilian Mulder, et al Human brucellosis Lancet Infect Dis 2007; 7: 775-86
2. Mehmet Özdemir, Metin Doğan, Bülent Baysal Brusellozun serolojik tanısında yeni bir yöntem: <mmuncapture aglutinasyon testi Genel Tıp Derg 2007; 17(1): 9-13
3. A. Orduna, A. Prado, et al Brucellacapt: A new method immunecapture-agglutination test for the diagnosis of human brucellosis Clin Microbiol Infect 2000; 6(Suppl. 1): 166
4. M.A. Casao, E. Navarro, J. Solera Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis J Infect 2004; 49(2): 102-8
5. M.C. Gomez, C. Rosa, et al (Comparative study of the Brucellacapt test versus the Coombs test for Brucella) Enferm Infecc Microbiol Clin 1999; 17: 283-5
6. J. Navarro, et al. Diagnosis of human brucellosis using PCR Expert Rev Mol Diagn 2004; 4(1): 115-123
7. J. Serra, J. Velasco, et al. (Can the Brucellacapt test be substituted for the Coombs test in the diagnosis of human brucellosis?) Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19(5): 202-5

### MECİDİYEKÖY

Büyükdere Cad.  
Gökfiliz Afl Merkezi No: 11 Kat: 3  
34387 Mecidiyeköy - İstanbul  
Tel. : (212) 217 41 41  
Faks : (212) 217 41 10

### KADIKÖY

Cemil Topuzlu Cad. Fazilet Sitesi  
No: 44 Kat: 2  
34726 Çiftelavuzlar - Kadıköy - İstanbul  
Tel. : (216) 369 17 67  
Faks : (216) 369 01 61

### BAKIRKÖY

İncirli Cad. Santral Çkmaz  
Toprak Bloklar A-Blok 1-2  
34147 Bakırköy - İstanbul  
Tel. : (212) 570 88 60  
Faks : (212) 570 93 00

### ETİLER

Tepecik Yolu  
No: 28/A  
34337 Etiler - İstanbul  
Tel. : (212) 358 51 00  
Faks : (212) 358 50 56

### NİFLANTAfi

Valikonaş Cad. Çam Apt.  
No: 161 Kat: 1  
34363 Niflantaşı - İstanbul  
Tel. : (212) 233 22 95  
Faks : (212) 233 38 42

### ULUS

Etiler Adnan Saygun Cad. Uydu Sok.  
Gündel Apt. No: 2/B Kat: 1  
34340 Ulus - İstanbul  
Tel. : (212) 287 43 00  
Faks : (212) 287 33 83

### ERENKÖY

İemsettin Günaltay Cad.  
No: 184/B  
34738 Erenköy - İstanbul  
Tel. : (216) 411 31 66  
Faks : (216) 411 20 61

### FINDIKZADE

Millet Cad. Emir Han  
No: 55 Kat: 2  
34096 Fındıkzade - İstanbul  
Tel. : (212) 633 41 42  
Faks : (212) 633 49 05

### ACIBADEM

Acıbadem Cad. Aydın Apt.  
No: 109 Kat: 2  
34718 Acıbadem - İstanbul  
Tel. : (216) 545 72 72  
Faks : (216) 545 74 77

### YEfiİLKÖY

İstasyon Cad.  
No: 21 Kat: 1  
34149 Yeşilköy - İstanbul  
Tel. : (212) 662 99 77  
Faks : (212) 662 68 00

### ÇEKMEKÖY

Aydın Menderes Cad.  
Carpe-Diem Afl Merkezi Kat: 1  
34782 Çekmeköy - İstanbul  
Tel. : (216) 642 43 00  
Faks : (216) 642 54 84

### KEMERBURGAZ

İstanbul Cad.  
Artell Forum Çarşı No: 38/14  
34075 Göktürk - Kemerburgaz - İstanbul  
Tel. : (212) 322 68 22  
Faks : (212) 322 68 28