

Endemik olmayan Bir Bölgede Bruselloz Seroprevalansı ve Serolojik Testler Bruselloz Seroprevalansı ve Seroloji

İlkay Bahçeci¹, Soner Yıldız¹, Ömer Faruk Duran¹, Yunus Emre Alpdoğan¹, Cengiz Kazdal²

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize, Türkiye

²Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Rize, Türkiye

Sorumlu Yazar: İlkay Bahçeci

Adres: Dr. Öğr. Üyesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize, Türkiye

Tel: 05057131865

E-mail: ilkay.bahceci@erdogan.edu.tr

Anahtar Kelimeler: Bruselloz; coombs testi; rose bengal testi

Başvuru Tarihi : 05.12.2023

Kabul Tarihi : 14.03.2024

Özet

Amaç: Bruselloz dünya üzerinde yılda 500.000'den fazla insanı etkileyen zoonotik bir enfeksiyondur. Ülkemiz Bruselloz için endemiktir. Bruselloz ateş, iştahsızlık, halsizlik, eklem ağrısı, yürüyememe, sabahları kendini iyi hissetme öğleden sonra kötü hissetme, depresyon gibi çok farklı klinik tablolar şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bu bağlamda hastalık prevalansının belirlenmesi ve tespitinde kullanılacak yöntemler önem arz etmektedir. Çalışmada Mikrobiyoloji laboratuvarında Bruselloz tespiti için kullandığımız yöntemleri ve Rize ilindeki seropozitifliği saptamak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ocak 2019 - Aralık 2021 tarihleri arasında Bruselloz ön tanısı ile laboratuvarımıza gelen serum örnekleri Rose Bengal Testi(RBT), Wright Agglütinasyon Testi/Standart Tüp Agglütinasyon Testi(WAT/STA) ve Coombs Testi(CT) yapılarak incelenmiş, agglütinasyon testlerinde 1/160 ve üzeri titreler pozitif kabul edilmiş ve veriler hastane bilgi yönetim sisteminden alınmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan 3434 hasta serumunun 31(%0,9) tanesi RBT pozitif saptanmıştır. RBT pozitif serumların 21 tanesi WAT ile 1/160 ve üzeri titrede pozitif bulunmuştur. RBT negatif serumların hepsinin WAT sonucu da negatif iken CT ile değerlendirilen 15 serumda



1/160 ve üzerinde titre saptanmıştır. CT ile pozitif saptanan 46 örneğe bakıldığında erkek ile kadın arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır($p=0,006$).

Sonuç: Yapılan çalışmada bölgemizde bruselloz prevalansının %1,3 olduğu endemik olmayan bölgelerle paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bruselloz için endemik olan ülkemizde bu konuda yapılan prevalans çalışmalarının özellikle riskli nüfusun fazla olduğu bölgelerde mutlaka belirli aralıklarla yapılmasının oldukça önemli olduğu kanaatindeyiz. Ayrıca ticaret ve turizmin gelişmesiyle seyahatlerin artması endemik bölge olmasa da prevalans çalışmalarının çok önemli olduğunu göstermektedir. Kadın hastalar erkeklere göre anlamlı oranda daha fazladır Klinik olarak bulgusu olan ve uzun süreli ortopedik semptomları olan hastalarda tarama testleri negatif olsa da CT mutlaka yapılması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz; coombs testi; rose bengal testi; seroprevalans; wright aglütinasyon testi

Giriş

Bruselloz, primer olarak keçi, koyun ve sığır gibi hayvanların vücut sıvılarından ve pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinden direkt temas ya da inhalasyon yoluyla bulaşabilen, Brucella cinsi gram negatif kokobasil şekilli, hareketsiz ve sporsuz bakterilerin sebep olduğu zoonotik bir enfeksiyondur^{1,2}. Brucella'ya ait türler farklı hayvan gruplarında bulunabilir. B. melitensis keçilerde, B. abortus sığırlarda ve B. suis domuzlarda görülmektedir². Dünyada Akdeniz bölgesi, Ortadoğu ve Afrika'da yer alan ülkeler, ülkemizde ise hayvancılığın yoğun olduğu Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bruselloz için endemik bölgelerdir³. Hastalık genel olarak ateş, haftalarca süren eklem ve kas ağrıları, gece terlemesi, kilo kaybı gibi non-spesifik semptomlar ile kendini gösterip özellikle uzun süreli hayvan teması olan hastalarda akılda bulundurulması gerekmektedir⁴. Hastalığın tanısında kan, kemik iliği ve diğer doku kültürü gibi testler altın standart iken etkenin yavaş üremesinin bir sonucu olarak serolojik testler hastalığın tanısında yaygın kullanım alanına sahip olmuştur. Brucella'nın smooth lipopolisakkaridlerine karşı oluşturulan antikörlerin saptandığı Rose Bengal testi, Wright aglütinasyon testi ve Coombs testi gibi serolojik testler kullanılmaktadır⁵.

Bu çalışmada hastanemize başvuran hastalardan Bruselloz ön tanısı ile gönderilen kan örneklerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi, prevalansının belirlenmesi ve serolojik testlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç Ve Yöntem

Ocak 2019 – Aralık 2021 tarihleri arasında mikrobiyoloji laboratuvarımıza Bruselloz ön tanısı ile gelen kan örneklerinden çalışılan test sonuçları hastane bilgi ve yönetim sisteminden retrospektif olarak taranmıştır. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen kan örnekleri 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlara Rose Bengal Testi(RBT) uygulandı. Bu test için Rose Bengal Pleyt Test (Seromed, İstanbul) kullanıldı. Buna göre plate üzerine damlatılan 1 damla (0,05ml) serum örneğine aynı miktarda brusella antijeni eklendi. Karışım rotator ile 4 dakika karıştırıldı. Gözle görülen, iri taneli çökelti oluşturanlar ‘pozitif’, homojen görüntü oluşturanlar ‘negatif’ sonuç olarak değerlendirildi. Sonucu pozitif çıkan serum örneklerine Wright Tüp Aglütinasyon (STA) (Seromed, İstanbul) uygulandı. Testin uygulanışında 9 adet steril tüp alındı. İlk tüpe 900 µl sf konulup üzerine 100 µl hasta serumu eklenerek 4-5 kez pipetaj yapıldı. Kalan 8 tüpün her birine 500 µl sf konuldu. İlk tüpteki hasta serumu ve sf karışımından 500 µl alınıp 2. tüpe aktarıldı ve aynı şekilde pipetaj yapıldı. Bu işlem diğer tüplerde de uygulandı. Son tüpten 500 µl çekilip çöpe atıldı. Bu işlemden sonra 2. tüpten itibaren 500 µl brusella antijeni eklendi. Tüpler 37 °C’de 18-20 saat inkübasyonun ardından değerlendirildi. Berrak olan tüpler anlamlı kabul edilip titre verildi. Test sonucunda 1/160 titre ve üzerinde saptanan sonuçlar pozitif olarak değerlendirildi. STA uygulanan testlerde yanlış negatif sonuca sebep olabilen blokan antikorları ekarte edebilmek için Coombs Testi(CT) (Red Cell Brucella Gel Test, İstanbul) uygulandı. Bu test için 190 µl Brucella dilüent kuyucuğa konuldu ve üstüne 10 µl hasta serumu eklendi. 8 kuyucuğa da 50 µl dilüent konuldu. İlk kuyucuktan 50 µl karışım alınıp diğer kuyucuklarda sırayla dilüe edildi. Son kuyucuktan 50 µl alınıp çöpe atıldı. Daha sonrasında her kuyucuktan 50 µl örnek alınıp içinde jel bulunan tüplere aktarıldı ve her tüpe Brucella antijeni eklendi. 3000 rpmde 20 dakika santrifüj edildikten sonra gözle değerlendirildi. Antijen-antikor kompleksinin oluşturduğu pembeliğin jelin üstünde kalması durumunda anlamlı kabul edilip 1/160 ve üzeri titreler pozitif olarak değerlendirildi. Verilerin değerlendirilmesinde $p < 0.05$ olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

İstatiksel Analiz

Tüm analizler SPSS 20 (IBM SPSS Statistics, Chicago, USA) programı kullanılarak hazırlandı. Sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma (SD) veya medyan (minimum-maksimum) değerleri ile kategorik değişkenler ise frekans (n) ve yüzde (%) değerleri ile ifade edildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Tüm veriler için $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

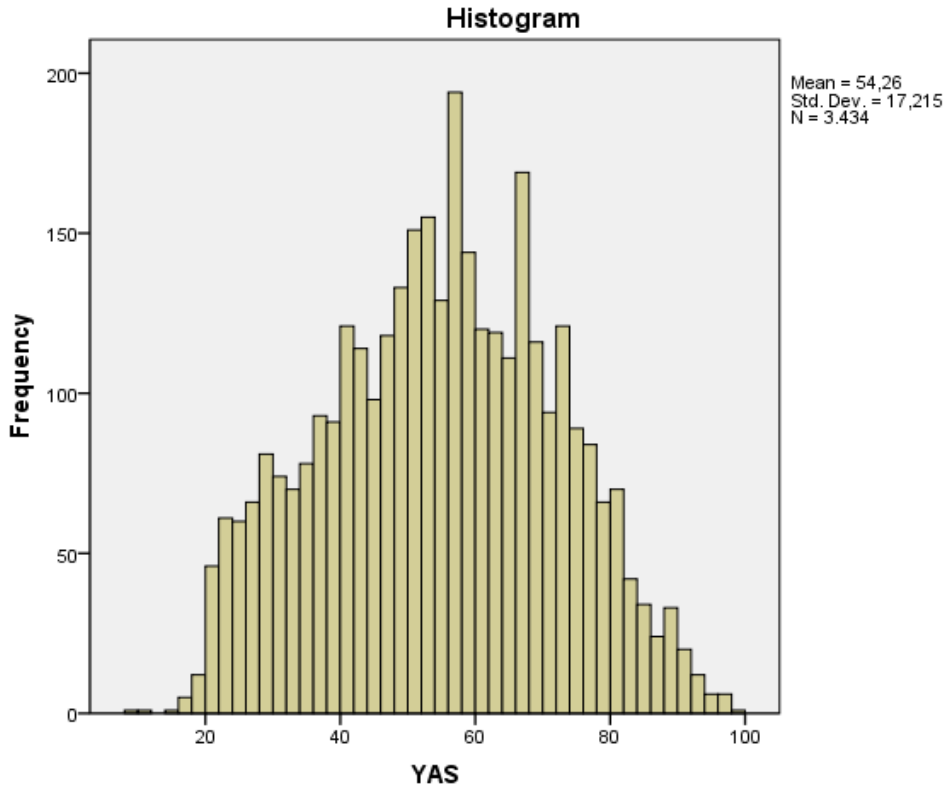
Etik onayı

Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı (40465587-171) ile Helsinki Deklerasyonu Prensipleri'ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Çalışmaya totalde 3436 hasta serumu dahil edildi. Aynı hastaya ait farklı zamanlı gönderilen örneklerden ilk gönderilen örnek değerlendirmeye alınmış olup diğer istemler çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların 1480'si(%43,1) erkek, 1954'ü(%56,9) kadın olarak tespit edildi. Hastalar 9 ile 99 yaş arasındaydı. Yaş ortalaması $54,2 \pm 17,2$ olarak saptandı (**Grafik 1**).

Veriler incelendiğinde RBT pozitif saptanan 31(%0,9) adet numune tespit edildi. STA'ya bakıldığında örneklerin 21'inde (%0,6) 1/160 ve üzeri, Coombs testine bakıldığında ise 46'sında(%1,3) 1/160 ve üzeri titrede aglütinasyon saptandı. Bu hastaların 29'u(%0,8) erkek, 17'si(%0,5) kadındı. RBT ile negatif saptanan hastaların hepsinde STA'da 1/160 altında titre saptanırken, CT'de 1/160 ve üzeri titre saptanan 15 serum tespit edilmiştir.



Grafik 1: Brucella seropozitifliğinin yaşlara göre dağılımı

Tartışma

Bruselloz dünya çapında bakıldığında her yıl 500 000'den fazla kişiyi etkileyen ciddi bir sağlık sorunudur³. Gelişmiş ülkelerde hayvanlar adına eradike edilmiş olmakla birlikte ülkemiz endemik bir bölgede yer aldığından dolayı özellikle hayvancılıkla uğraşan bölgelerde yaşayanlar için risk oluşturmaktadır. (2)Karadeniz bölgesine bakıldığında bildirim sıklığı düşük iken, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde bildirim sıklığının yüksek olduğu raporlanmıştır⁶.

Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında Erzincan'da 2007 yılında yapılan bir çalışmada Brucella seropozitiflik oranı normal popülasyonda %1,8⁷, İnönü Üniversite'sinde 2942 serum örneği ile yapılan bir çalışmada %5,5⁵, İzmir ili ve çevresinde yapılan 26357 serum örneğinin değerlendirildiği bir çalışmada %0,1⁸, Kahramanmaraş'ta Aral ve ark. yaptığı bir çalışmada %1⁹, Samsun bölgesinde yapılan bir çalışmada %3¹⁰ olarak saptanmıştır. Yüce ve Alp-Çavuş¹¹ 2006 yılında ülkemizdeki bölgelerin Brucella seropozitiflik oranına bakmış ve %0,67 ile en düşük oranın Karadeniz bölgesinde tespit edildiğini belirtmiştir. Bizim çalışmamızda seropozitiflik oranı %1,3 olarak tespit edilmiştir.

Bruselloz insidansının düşük olarak saptandığı ülkelerde cinsiyet olarak erkeklerin daha sık enfekte olduğu görülürken, insidansı yüksek ülkelerde bu fark anlamlı saptanmamıştır¹². Koşar ve ark.¹⁴ yapmış olduğu 280 bruselloz olgulu bir çalışmada kadın hastaların oranını % 64 olarak bulurken, D. G. Çelik ve ark.¹² çalışmasında kadınlar daha fazla sayıda olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda erkek ile kadın arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır(p=0,006).

Çalışmamız yaş dağılımına bakıldığında Brusellozun Türkiye gibi endemik olan coğrafyalarda her yaşı tutabileceği bilgisi ile paralellik göstermekle birlikte 40-65 yaş arası nüfusun Brucella enfeksiyonunda en fazla etkilenen kesim olduğu belirlenmiştir (**Grafik 1**). Çalışmamıza paralel olarak Öner ve ark.⁴ yaptığı bir çalışmada 41 yaş ve üstü grupta görülme oranı daha yüksek saptanmıştır. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi'nin (ECDC) 2017 raporunda brusellozun 25-44 yaş arasında en yüksek oranda görüldüğü belirtilmiştir¹⁵

Araştırmamızda; **Tablo 1** de görüldüğü üzere 31(%0,9) hasta RBT pozitif saptanmıştır. RBT pozitif saptanan 12 kişide STA sonucu negatif bulunmuştur(1 kişide 1/20, 3 kişide 1/40 ve 2 kişide 1/80 titrede aglütinasyon tespit edildi). STA sonucu pozitif 21 kişinin 8'inde 1/160, 10'unda 1/320, 2'sinde 1/640 ve birinde 1/1280 titrede aglütinasyon saptanmıştır. RBT negatif saptanan her hastanın STA sonucu da negatif bulunmuştur. RBT'nin STA'a göre duyarlılığı %100, seçiciliği %99,6, pozitif prediktif değeri %63,6, negatif prediktif değeri %100 olarak

bulunmuştur. Dabanlıoğlu ve ark.⁷ yaptığı çalışmada RBT'nin WAT'a göre duyarlılığı %91,8 iken Gündem ve ark.¹³ çalışmasında %76,5, Al Dahouk ve ark.¹⁶ yaptığı çalışmada %90'ın üzerinde tespit edilmiştir. Çalışmalarda bildirilen duyarlılık oranları arasındaki farkın STA'nın pozitif olarak kabul edildiği titre aglütinasyon seviyeleri ve çalışmaların yapıldığı bölgelerdeki endemisite farklılıklarından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. RBT ile CT arasındaki karşılaştırma **Tablo 2**'de görülmektedir. Buna göre RBT pozitif her hastanın CT 1/160 titre ve üzeri saptanmıştır. RBT negatif saptanan 15 hastanın CT 1/160 titre ve üzerinde bulunmuştur. Bu bağlamda RBT'nin CT'ye göre duyarlılığı %68,4, seçiciliği %100, pozitif prediktif değeri %100 ve negatif prediktif değeri %99,5 tespit edilmiştir.

Tarama testlerinde ideal olarak yüksek duyarlılık ve seçicilik beklenmektedir¹⁷. Bizim çalışmamız düşük maliyeti, kullanım kolaylığı ve duyarlılığı yüksek olan RBT'nin tarama testi olarak kullanılmasını destekler niteliktedir. Ancak RBT ve STA negatif olduğu halde anamnezi ve klinik durumu şüpheli hastalarda CT bakılmasının yanlış negatif sonuçları azaltacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak Bruselloz için endemik bir bölge olan ülkemizde bu konuda yapılan prevalans çalışmalarının riskli nüfusun fazla olduğu bölgelerin tespitinde ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde eradike edilebilmesinde yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Tablo 1: Rose Bengal ve Standart Tüp Aglütinasyon Testi sonuçlarının karşılaştırılması

	Standart Tüp Aglütinasyon Test Sonuçları				Toplam	
	Pozitif		Negatif			
Rose Bengal Test Sonuçları	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	21	100	12	0,4	33	1
Negatif	0	0,0	3403	99,6	3403	99
Toplam	21	100	3415	100	3436	100

Tablo 2: Rose Bengal ve Coombs testi sonuçlarının karşılaştırılması

	Coombs Testi Sonuçları				Toplam	
	Pozitif		Negatif			
Rose Bengal Test Sonuçları	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	31	68,4	0	0	31	0,9
Negatif	15	32,6	3388	100	3403	99,1
Toplam	46	100	3388	100	3434	100

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Makale için herhangi bir finansal destek kullanılmamıştır.

Makale herhangi bir yerde poster ve sözel sunum olarak sunulmamıştır.



Kaynaklar:

1. Sabah-Özcan S, Daar-Ede G, Yılmaz N. Yozgat çevresinde yaşayan çocuklarda brusella antikör seropozitifliği. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 125-130
2. Sertçelik A, Buzgan T. Bruselloz düşünüyorum ama doğrulayamıyorum: Seronegatif Bruselloz. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 469-472
3. Gür Vural D, Çınar C, Çoban Ç, Tanrıverdi Çaycı Y, Bilgin K, Birinci A. Bir Üniversite Hastanesinde 5 Yıllık Brusella Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. J.Biotechnol Strateg Heal Res. 2021;0-4.
4. Öner SZ, Türkoğlu E. Düşük Endemisite Beklenen Bir Bölgede Bruselloz Seroprevalansı. Med J West Black Sea. 2020;4(1):18-23.
5. Duman Y, Tekerekoglu M, Bati N, Otlu B. Brucellosis Seroprevalance in Inonu University Medical Faculty Hospital: The Results of Rose Bengal, Wright, Coombs Agglutination Tests. Med Sci | Int Med J. 2013;2(3):679.
6. Köksal MO, Beka H, Ali A, Durmuş MA. Bir Üniversite Hastanesine Başvuran Hastalarda Brucella Seroprevalansı ve Risk Faktörlerinin Araştırılması. Ankem Dergisi. 2020;34(2):65-70.
7. Dabanlıoğlu B, Doğan HO, Kılıç H. Erzincan İlinde Bruselloz Seroprevalansı Ve Rose-Bengal, Wright Aglutinasyon Test Sonuçlarının Karşılaştırılması. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2007; 16(3): 152-158.
8. Avni Tarakçı H, Gökgöz A, Tekin S. Brucellosis prevalence and related risk factors in İzmir province. Klimik Derg. 2020;33(3):260-3.
9. Aral M. , Köprülü N. D. , Ekerbiçer H. Ç. , Gül M. , Çıragil P. , Koçtürk S. A. Kahramanmaraş İl Merkezinde Bruselloz Hastalığının Seroprevalansı. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2011; 4(1): 17-23.
10. Görgün S. Seroprevalence of Brucellosis Cases Among Children and Adults in Samsun Region Samsun Bölgesindeki Çocuk ve Yetişkinlerde Bruselloz Olgularının Seroprevalansı. J Immunol Clin Microbiol. 2020;5(3):106-14.
11. Yüce A, Alp Çavuş S. Türkiye’de Bruselloz: Genel Bakış. Klimik Derg. 2006;19(3):87-97.
12. Çelik DG, Sirekbasan S, Abdelkareem A, Yüksel P, Aslan M, Ziver T, et al. Bruselloz Tanısında Serum Aglutinasyon (Wright) ve Rose-Bengal Test Sonuçları : Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Seroloji Laboratuvarından 6 Yıllık Retrospektif Seroepidemiolojik Değerlendirme. Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 2018;42(1):80-5.
13. Kalem F, Gündem NS. Bruselloz şüpheli olgularda Rose Bengal, Standart Tüp Aglutinasyon ve Brucellacapt sonuçlarının değerlendirilmesi. Genel Tıp Derg. 2015;25(2):46-46.
14. Koşar A, Aygündüz M, Yaylı G. İkiyüzseksen bruselloz olgusunda farklı iki tedavinin karşılaştırılması. İnfeksiyon Dergisi 2001,15:433- 437



15. European Centre for Disease Prevention and Control. Introduction to the Annual Epidemiological Report. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2019 [cited 08 November 2019]. Available from: <http://ecdc.europa.eu/annualepidemiological-reports/methods>.
16. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. Clin Lab. 2003;49(11-12):577-89. PMID: 14651329
17. Durmuş R, Kaya İ, Kamaş A. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2004.