

BRUCELLA'LARIN ÖZELLİKLERİ VE BRUSELLOZDA TANI YÖNTEMLERİ

A.Tevfik Cengiz* • G.İştar Dolapçı**

ÖZET

Brucella cinsi içerisinde, *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis*, *B.canis*, *B.ovis* ve *B.neotomae* türleri bulunmaktadır. *B.ovis* ve *B.neotomae* dışındakilerin hepsi insan patojeni olarak bilinmektedir. Bu bakteriler insan ve hayvanlarda intraselüler olarak bulunurlar. İnsanlarda başlangıçta genel infeksiyon ve septisemiye yol açan, sonra çeşitli organlara yerleşme eğilimi gösteren bruselloz hastalığının etkenidirler. Brusellozun laboratuvar tanısı için muayene maddesi olarak genellikle kan kullanılmaktadır. Kültür için zengin besiyerleri kullanılmalı ve en az 6 hafta inkübe edilmelidir. Ancak bruselloz tanısında indirek etiyolojik tanı tekniklerine daha sık başvurulmaktadır. Bu testler arasında standart tüp aglütinasyon testi, Rose-Bengal lam aglütinasyon testi, Coombs reaktifi ile yapılan tüp aglütinasyonu, Merkaptotanol/Rivanol tüp aglütinasyonu, kompleman birleşmesi deneyi, indirek hemaglütinasyon testi ve flouresan antikor testi sayılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Brucella*, tanı, seroloji

SUMMARY

Diagnostic Methods of Brucellosis

Among *Brucellae*, there are six species; *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis*, *B.canis*, *B.ovis* and *B.neotomae*. Except *B.ovis* and *B.neotomae*, they all are human pathogens. These microorganisms are intracellular pathogens in men and animals. They are the agents of brucellosis, a disease with general symptoms of infection and septicemia preceding multiple organ involvement. Blood is the generally used material for laboratory diagnosis of brucellosis. Rich medium must be used for culturing the microorganism and at least 6 weeks incubation period is necessary. However, for the diagnosis of brucellosis, several indirect diagnostic methods are preferred. Some of these are standart tube agglutination test, Rose-Bengal slide agglutination test, tube agglutination with Coombs reactive, Mercaptoethanol/Rivanol tube agglutination, complement fixation, indirect hemagglutination and fluorescent antibody test.

Key Words: *Brucella*, diagnosis, serology

Brucella cinsi içerisinde *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* ve *B. neotomae* türleri bulunmaktadır. *B. ovis* ve *B. neotomae* dışındakilerin hepsi insan patojeni olarak bilinmekle birlikte, insanlardan en sık izole edilen türler *B. abortus* ve *B. melitensis*'dir(1,2,3).

Brucella cinsinde bulunan bakteriler, insan ve hayvanlarda intraselüler olarak bulunurlar. Hareketsiz, sporsuz, küçük kokobasillerdir. Genellikle tek tek dururlar, nadiren kısa zincirler oluşturabilirler. Gram negatif bakterilerdir, bazen düzensiz boyanırlar. Mukoid koloni oluşturan suşlarda kapsül gösterilebilir. Aerop şartlarda ürerler. Ancak özellikle *B. abortus* ilk izolasyonda %5-10 CO₂'li ortama gereksinim duyar. Zorunlu anaerop şartlarda üremezler. *Brucella*

türleri intraselüler yaşadıklarından, beslenme ihtiyaçları komplekstir. Özellikle ilk izolasyonlarında zengin besiyerlerinin kullanılması gerekir. Pepton, glikoz ve tuz içeren besiyerlerinde iyi ürerler. Bazı türler için tiamin, niasin, nikotinik asit, vitaminler, biotin ve bazen serum gerekebilir. Optimal üreme ısıları 37°C olmakla birlikte, 10-40°C arasında üreyebilirler. Üremeleri için gerekli optimal pH 6.7-7.4'dür. Kültürde en az 48 saatlik inkubasyonu takiben koloniler; küçük, konveks, düzgün, yarı saydam ve hafif sarı renkte, ışığı yansıtan S koloniler olarak izlenirler. Zengin besiyerlerinde düzgün kenarlı, yuvarlak, nemli, parlak koloniler oluştururlar. Kolonileri hemolizsiz ve pigmentsizdir. *B. abortus* ve *B. melitensis*'in bazı türlerinin kolonileri eski kültürlerinde esmer renk-

* Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

** Arş.Gör.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

te görülebilir. *B. ovis* ve *B. canis*'in kolonileri normal olarak pürüzlü ve R şeklindedir (1,2,3,4,5).

Brucella'lar çoğu kez ısıya, asitlere ve dezenfektanlara dirençli değildirler. Sütün pastörizasyonu ile ölürlür (3,5).

Katalaz ve oksidaz pozitifdirler. Üreaz oluşturmaları değişkendir. Nitratları nitritlere indirgerler. Asetilmetilkarbinol ve jelatinaz oluşturmazlar. Karbonhidratları parçalamakla birlikte, sınıflandırılmaları için yeterli miktarda ne asit, ne de gaz oluşturlar (1,3).

Genellikle *Brucella* tip ve biyotiplerinin ayırıcı tanısında; monospesifik serumlarla aglütinasyon, üre hidrolizleri, H₂S üretme yetenekleri, CO₂'e olan ihtiyaçları, anilin boyaları, thionin ve bazik fuksine olan duyarlılıkları araştırılır (1,3).

BRUCELLA BAKTERİLERİNİN ANTİJENİK YAPISI

Brucella bakterilerinin ultrasantrifüjasyon ya da dondurma-çözme işlemleri ile parçalandıktan sonra, elde edilen karışımın filtrasyonu sonucu ayrılan üst sıvı, bağışık seruma karşı immünelektroforeze tabi tutulduğunda, yirmiden fazla antijen-antikor reaksiyonunun varlığı görülür. Farklı suşlar ile yapılan karşılaştırma çalışmaları, birçok *Brucella* antijeninin tüm suşlarda ortak olarak bulunduğunu; sadece somatik lipopolisakkarit (LPS) antijenlerinin "S" tipinden olan ve olmayan suşlarda önemli farklılıklar gösterdiğini; dış membran proteinlerinin ise farklı türlerde değişik yapılarda olduklarını göstermiştir. *Brucella*'lar immündefüzyon ile incelendiğinde ortaya çıkan en belirgin antijen, bu S ve R tipi kolonilerde farklılıklar gösteren LPS'lerdir (S-LPS ve R-LPS). S tipi koloni oluşturan suşlarda *B. abortus*'da A, *B. melitensis*'de M epitoplalarının varlığı saptanmıştır. Bu major antijenin yanı sıra, bakterinin yapısında natif haptin (NH), B polisakkaridi (poly B) ve yirmi kadar protein / gliko-protein antijeni yer almaktadır. LPS antijenlerinin hücrenin yüzeyinde bulunmasına karşılık, protein antijenlerinin büyük kısmı hücre içindedir. İç antijenler de denilen bu protein antijenler deri deneylerinde rol oynarlar (6,7,8).

Brucella'ların yüzey katmanları diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi; en içteki sitoplazma membranı, bunu çevreleyen sert peptidoglikan tabakası ve fosfolipid-LPS-proteinleri (OMP) içeren dış membrandan (OM) meydana gelir. Bazı suşlarda ayrıca yüzeyel L zarf antijeni varlığı ortaya konmuştur. Daha çok *B. abortus* kökenlerinde bulunan bu L anti-

jeni yeni izole edilen bakterilerde var olup, onların immün serumlarla aglütinasyonuna engel olmakta, 100°C'de yarım saat ısıtıldıktan sonra ortadan kalkmaktadır. Bu özelliği ile *Salmonella*'lardaki Vi antijenine benzer (3,6,7).

Brucella bakterilerinin peptidoglikan tabakası da diğer Gram negatif bakterilerinkine benzer ve adjuvan özelliği nedeniyle immün yanıtta rol oynar (8).

Bu antijenlerden S-LPS, aglütinasyon, kompleman birleşmesi ve Rose-Bengal testlerinde rol oynayan major antijendir. NH ve poly B haptenleri ise infekte hayvanları aşılama çalışmalarında ayırt etmede immündefüzyon testlerinde kullanılır (6).

S tipi *Brucella* bakterileri ile *Escherichia coli* O:116 ve O:157, *Francisella tularensis*, N grubu *Salmonella*'lar, *Pseudomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* O:9 bakterileri arasında çapraz reaksiyonlar saptanmıştır. Bu ilişkiden sorumlu olan kısım, belirtilen tüm bu bakterilerde ortak olarak bulunan, S-LPS'lere bağlı karbonhidratın O zincirindeki 4-6 dideoksi-4-amino-D-mannoz (N-acil-D-perozamin) bölgesidir (3,4,6).

BRUSELLOZ

Bruselloz ajanı olan *Brucella* türleri, keçiler, domuzlar, inekler ve köpekleri içeren pek çok hayvanın, genital ve üriner sisteminin normal florasında bulunmaktadır (1). Bruselloz sığır ve koyun yetiştiriciliği yapılan pek çok ülkede olduğu gibi, ülkemizde de yaygın olarak rastlanılan; insanlarda başlangıçta genel infeksiyon ve septisemiye yol açan, sonra çeşitli organlara yerleşme eğilimi gösteren *Brucella* bakterilerinin neden olduğu bir infeksiyon hastalığıdır (6,7). *Brucella* bakterileri ile infekte hayvanlar bakterileri özellikle laktasyon döneminde sütleri ile çıkarırlar. Pek çok insan hastalığı kontamine sütlerin içilmesi yoluyla alır ya da hastalığa mesleki olarak maruz kalır (1,6). Bu nedenle infekte hayvanların süt ve süt ürünleri önemli infeksiyon odaklarıdır. Koyun sütünden hazırlanan peynir bir diğer önemli kaynağı oluşturur. Taze peynirin infeksiyon kaynağı olduğu ülkelerin başında Akdeniz ülkeleri; Fransa, İtalya, Yunanistan ve Orta Asya ülkeleri gelir. *Brucella* bakterileri +4°C'de muhafaza edilen etlerde de uzun süre canlılıklarını korurlar. Yeterince pişmemiş et ve et ürünlerini yiyenlerin yanı sıra bu etlerin ambalajlanmasında çalışanların ellerinden de bulaşma söz konusudur (5,6). İnsana bruselloz bulaşması sindirim sisteminin yanı sıra, temas ve solunum yolundan da olabilmekte-

dir. Ayrıca kaza sonucu sağlık personelinin laboratuvarında infekte olması; nadir de olsa cinsel temas veya inkubasyon döneminde alınmış kan ile yapılan transfüzyon sonucu bulaşmalar da söz konusudur. Sindirim yolundan bulaşma genellikle barsak mukozasından olur, temas yolu ile bulaşta ise başlıca rolü eller oynamaktadır. Bu tip bulaşma özellikle veterinerler arasında görülmekte, ayrıca mezbahalarda kesim sırasında, kontamine eller ile ağıza veya konjonktiva ya taşınan bakteriler infeksiyona yol açmaktadır. Ayrıca yine mezbaha çalışanları arasında solunum yolundan inhalasyon ile bulaşma sonucu oluşan salgınlar da bildirilmiştir (4,6).

BRUSELLOZDA BAKTERİYOLOJİK TANI YÖNTEMLERİ

Brusellozun laboratuvar tanısı için muayene maddesi olarak KAN kullanılır. Bruselloz şüphesinde kan kültürleri birkaç kez tekrarlanmalıdır. İnfekte dokulardan apse içeriklerinden, kemik iliğinden, karaciğer biyopsisi ile elde edilen materyalden de kültür yapılabilir. Daha seyrek olarak BOS, plevra ve periton sıvısı, eklem sıvısı ve idrar gibi örnekler de Brucella kültürü için kullanılabilir. Kültür için, triptik soy buyyon, triptik soy agar, tiyonin triptoz agar, triptoz agar, serum veya %5 koyun kanı ilave edilmiş agar besiyeri, Brucella agar, tripticase agar, serumlu patatesli infüzyon agar, serumlu dekstroz agar kullanılır. Ayrıca Kuzdas ve Morse tarafından geliştirilmiş olan basitrasın, polimiksin B, sikloheksimid ve sirkülin içeren besiyeri; basitrasın, polimiksin B, nalidiksik asit, vankomisin, sikloheksimid ve nistatin içeren Farrell's selektif besiyeri ve modifiye Thayer-Martin besiyeri kullanılabilir (1,2,3).

Kan kültürleri 35-37⁰C'de en az 6 hafta inkübe edilmelidir. Mikroorganizmalar kan kültür vasatlarında herhangi bir gözle görünür belirti yapmaksızın bulunabilirler. Bu nedenle kan kültürlerinden en iyi sonucu alabilmek için, haftalık olarak Brucella broth'a körlemesine pasajlar (subkültürler) yapılması tavsiye edilir. Bu tekrarlanan subkültürler boyunca muhtemel kontaminasyonu önlemek için Castenada tipi bifazik kan kültür şişelerinin kullanılması tercih edilir. Brucella cinsindeki bakteriler kural olarak, sadece hastalığın akut safhasında veya nükslerde izole edilebilirler (1).

SEROLOJİK PROFİL

İnsandaki akut infeksiyonda önce IgM yükselir ve ilk hafta süresince tespit edilebilen tek immunglobulin

olabilir. IgM hastalığın başlangıcından yaklaşık 3 ay sonra en yüksek düzeye ulaşır ve sonra düşmeye başlar. IgG seviyesi hastalığın 2. haftasında yükselmeye başlar ve tedavi edilmemiş hastalarda en az bir yıl yüksek kalır. Yeterli derecede tedavi edilmiş hastalarda IgG antikorları, hastalığın başlangıcından 6 ay sonra ya kaybolur ya da çok düşük seviyelere iner (2,4,7). IgG antikor titrelerinin sürekli yüksek kalması RES'de veya diğer infeksiyon odaklarında canlı hücre içi organizmaların varlığına bağlı olabilir. Fakat ileri çalışmalarla bu teoriyi desteklemeye ihtiyaç vardır. IgA antikor seviyeleri IgG'den haftalar sonra tespit edilebilir düzeye gelir fakat hiçbir tanı değeri yoktur. Hastalığın reinfeksiyonu ya da reaktivasyonu süresince IgG ve muhtemelen IgM antikorları yükselir bununla birlikte Brucella relapslarında yüksek hale gelen IgM antikorlarının seviyesi tartışmalıdır ve son çalışmalarda Brucella relapslı hastalarda IgG'nin yükseldiği fakat IgM'in yükselmediği bulunmuştur (4).

BRUSELLOZ TANISINDA KULLANILAN SEROLOJİK YÖNTEMLER

Tüm infeksiyon hastalıklarının laboratuvar tanısında olduğu gibi, brusellozun etiyolojik tanısında da doğal olarak ilk başvurulması gereken işlem, bakteriyolojik kültür yöntemleridir. Ancak incelenecek örneklerde etkenin üretilebilmesi için muayene materyalinin hastalığın belirli dönemlerinde alınmasının gerekliliği, ateşsiz dönemlerde kültür alınması ya da kandaki bakteri sayısının düşük olması, hastanın antibiyotik kullanması gibi durumlarda etkenin izolasyon şansının çok azalması, özellikle kronik olgularda kültür yöntemlerinin her zaman sonuç vermemesi ve kültür tekniklerinin her laboratuvarında bulunmayan bazı özel koşulları gerektirmesi gibi nedenlerden ötürü, bruselloz tanısında indirek etiyolojik tanı tekniklerine daha sık başvurulmaktadır (6,9,10,11).

Laboratuvarlarda en yaygın uygulanan testlerin başında, **Standart Tüp Aglutinasyon Testi** (TA, Wright aglutinasyon testi) gelmektedir (6,9,10,11). Bu testte olası bir prozon olayını gözden kaçırmamak için, hasta serumu bir dizi tüpte, en az 1/640 oranında sulandırılıp, üzerine eşit miktarda standart Brucella antijeni (B.abortus S 99 ve B.abortus 1119) ilave edilir. İnkübasyonu takiben (2 saat 37⁰C ve bir gece oda ısısı), tüpteki sıvının tamamen berrak olması, aglutinasyonun tüpün dibinde yaygın bir kümeleşme şeklinde görülmesi, pozitif sonuç olarak

değerlendirilir. 1/40 ve yukarı sulandırılmadaki aglütinasyon olayı tanı için gereklidir; 1/160 sulandırılmadaki pozitiflik ise kesin olarak brusellozun göstergesidir (1,4,6). Saptanan antikorların hangi sınıftan olduklarının belirlenememesi, düşük titrede alınan pozitiflikleri yorumlamadaki güçlükler ve bu test ile saptanan titrenin zaman içinde süratle azalması, TA'nun olumsuz özellikleridir (4,6,9,10,11). TA'nun değişik yapıdaki blokan antikorlar nedeniyle negatif sonuç verdiği ya da bruselloz dışında bir nedenle IgM antikorlu yüksek olan kişilerde yanlış olarak pozitif bulunduğu olgular da vardır. Ancak bu olumsuz özelliklerine rağmen bugün tüm dünyada ve ülkemizde hemen hemen bütün sağlık kuruluşlarında, brusellozun serolojik tanısında en yaygın kullanılan testtir. Bunun nedenleri arasında testin uygulama kolaylığı, erken pozitifleşmesi ve bu deneyde antijenlerin her üç tipe karşı oluşmuş antikorlar tarafından aglütine edilebilmesi sayılabilir (10,11,12).

Rose-Bengal Lam Aglütinasyon Testi (RBLA):

Aglütinasyon testi B. abortus'un 99 S kökeninden hazırlanan ve özel teknikle Rose-Bengal boyası ile boyanan, tamponlu tuzlu sudaki yoğun Brucella antijeni kullanılarak, lam aglütinasyonu şeklinde de uygulanabilir. Antijen süspansiyonunda kullanılan tampunun pH'ı 3.6-3.7'ye ayarlandığından, serumdaki IgM'lerin aktivitesi önlenmiş olur ve sonuçta bu test ile saptanan antikorların büyük bölümü IgG yapısındadır. Lam aglütinasyon testinin serum yerine tam kan ile (parmak ucundan bir damla) uygulanan şekli **Spot Test** olarak isimlendirilir ve özellikle kitle taramalarında tercih edilir (6,7).

Bumin ve arkadaşlarının (11) yaptığı çalışmada TA ile RBLA karşılaştırılmıştır. TA'da 1/40 ve üzeri dilüsyonlarda görülen aglütinasyon reaksiyonları pozitif kabul edilerek, RBLA'a sonuçları ile karşılaştırıldığında, RBLA'nun TA'na göre duyarlılığı %92.6, seçiciliği de %97.1 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre serolojik olarak pozitif ve negatif kişileri saptama açısından iki test arasında önemli bir fark olmadığı, bruselloz serolojik tanısında RBPT'nin, STAT kadar güvenilir ve geçerli bir test olduğu kanısına varılmıştır (11).

Göktaş ve arkadaşlarının çalışmasında da 1200 serum örneği incelenmiş, TA ile pozitif sonuç alınan 98 olgunun tümünde RBLA ile de pozitif sonuç alınmıştır. RBLA ile 5 olguda daha zayıf pozitif sonuç alınmış, bu olgular TA ile negatif olarak bulunmuştur. Sonuçların değerlendirilmesinde RBLA'nun TA'ne göre daha çabuk sonuç veren, kolay, ucuz ve aynı

zamanda güvenilir bir yöntem ve tarama testi amaçlarına uygun olduğu, bu test ile pozitif sonuç alınan olgularda, TA ile titre belirlenmesi yapılmasının uygun olacağı görüşüne varılmıştır (10).

Saz ve arkadaşlarının çalışmasında da RBLA, TA'dan daha duyarlı bulunmakla birlikte, bu araştırmacılar ELISA yönteminin bu her iki testten de daha duyarlı olduğunu saptamışlardır (13).

Coombs Reaktifi İle Yapılan TA:

Bazı serumlar spesifik Brucella antikorları içermelerine rağmen, aglütinasyon meydana gelmez. Bu serumlar blokan antikorlar bakımından araştırılmalıdır. Bu antikorlar daha çok subakut klinik olgularda oluşurlar ve IgG yapısındadırlar (6,7). Bu antikorlar tarafından bloke edilen inkomple antikorların, anti-insan globülini (Coombs reaktifi) kullanılarak, antijenle reaksiyon vermeleri sağlanabilir. Bu amaçla, klasik TA uygulamasında aglütinasyon görülmeyen tüpler santrifüjde çevrilir; üç kez yıkanan çökeltide, Coombs reaktifi ilavesi sonucu aglütinasyon olup, olmadığına bakılır. Blokan antikorlar varlığında, antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon meydana gelmemektedir. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. Bu test, özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önem taşır (6).

Merkaptoetanol / Rivanol TA:

Klasik TA testinde saptanan immunglobülinlerin hangi sınıftan olduklarını belirlemek mümkün olmaz. Ancak deney öncesinde hasta serumu 2 merkaptoetanol veya rivanol ile muamele edilirse, IgM sınıfı antikor moleküllerinin polipeptit zincirleri kırılarak, bu moleküllerin yıkıma uğratılması mümkündür. Bu işlemi takiben saptanacak pozitiflik IgG'lere bağlı olarak gelişecektir (4,6).

Kompleman Birleşmesi Deneyi:

Bruselloz tanısında güvenilir bir test olan kompleman birleşmesi deneyinde özellikle IgG'ler, daha az oranda IgM'ler rol oynar. Bir süre sonra negatifleşen, bu nedenle geçirilmiş olguların belirlenmesinde yetersiz kalan bu test, TA ile sonuç alınamayan kronik brusellozun tanısı için uygundur. Ancak TA'nunda saptanan çapraz reaksiyonlar kompleman birleşmesi testi için de geçerlidir. Kompleman birleşmesi testi, makro veya mikro yöntem uyarınca, soğukta veya sıcakta gerçekleştirilebilir (6,7).

İndirek Hemaglütinasyon Testi:

Bakterinin LPS kısımları ile kaplı, tannik asitle muamele edilmiş koyun eritrositlerinin kullanıldığı bu testte, çözünmüş

antijenlerden de yararlanılabilir. Çok duyarlı olan bu yöntemde, nanogram düzeyindeki immunglobülinleri bile saptamak mümkündür (6).

Flouresan Antikor Testi (FA): Veterinerlik alanında fötal membranlarda ve düşük materyalinde antijen aramak için geliştirilmiş olan FA yöntemi, daha sonra spesifik antikorların araştırılmasında indirek-FA şeklinde de kullanılmıştır (6).

Deri Deneylei: Allerjik tanı için bakterilerden elde edilen ve saflaştırılmış nükleoprotein kompleksinden oluşan "Brucellergen" deri içine enjekte edilerek yapılan bir testtir. 24 saat içinde enjeksiyon yerinde kızartı, ödem ve sertlik şeklinde görülen reaksiyon olumlu kabul edilerek, bu kişilerin Brucella'lara karşı aşırı duyarlı oldukları anlaşılır. Hastaların birçoğunda bu test olumlu ise de olumsuz olması bruselloz tanısını uzaklaştırmaz. Ayrıca kısıtlı kullanım alanı olan bu testler ile, geçirilmiş olgular, kronik brusellozdan ayırt edilememektedir (6,7).

Belirtilen bu tanı tekniklerinin akut ve kronik bruselloz olgularındaki sonuçları farklı olmaktadır. Örneğın; TA deneyi akut olgularda pozitif sonuç verirken, sadece IgG'lerin belirlendiğı 2 merkaptotoetanollü TA'ı negatif sonuç vermekte; zamanla TA titresi azalırken, merkaptotoetanol ile saptanan titre artış göstermektedir. Diğeri yandan uygulama koşulları nedeniyle, bruselloz tanısında kullanılan kompleman birleşmesi testinde IgM'ler saptanamaz ve bu test infeksiyonun erken dönemlerinde negatif sonuç verebilir (6).

Yeni tanı tekniklerinden RIA ve ELISA bruselloz tanısında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. ELISA uygulamalarında TA için hazırlanmış ölü bakteri süspansiyonu, LPS ekstraları veya çeşitli protein fraksiyonlarından antijen olarak yararlanılabilir. Bildirilen çeşitli ELISA çalışmalarında, bu yöntemin akut olguları belirlemede en uygun teknik olduğı saptanmıştır. ELISA tekniğı, kronik

brusellozun tanısında da TA ve RBLA'dan daha uygun sonuçlar vermektedir (14,15,16,17). Bilgin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da, brusellozun serolojik tanısında, ELISA, TA ve RBLA'larının karşılaştırılması yapılmış, hem IgG, hem de IgM için yapılan ELISA testlerinin TA ve RBLA'ndan daha duyarlı olduğı saptanmış ve insan brusellozunun serolojik tanısında, TA ve RBLA'nda görülen yetersizliklerin ELISA ile giderilebileceğı sonucuna varılmıştır (9).

Nörobrusellozda BOS'da antikor aramak için de ELISA testi uygun bir yöntemdir. Bazı araştırıcı grupları ELISA ile spesifik IgG ve IgM'lerin birlikte incelenmesinin ve elde edilecek sonuçların kompleman birleşmesi deneyi bulguları ile beraber yorumlanmasının en sağlıklı tanı yöntemi olduğunu ileri sürmektedirler (6).

Bruselloz tanısındaki önemli bir gelişme de, çeşitli vücut sıvılarında ELISA ile direkt antijen aranması ile ilgili olup, farelerde yapılan ön çalışmalarda başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Sonuç olarak ELISA, bruselloz tanısı için, duyarlı, özgül, süratli ve rutin laboratuvarlar için çok sayıda örneğın bir arada incelenmesine olanak tanıyan bir tekniktir (6,9,17).

İmmünradyolojik metodlar da Brucella spesifik immunglobülinlerinin tek tek direkt ölçülmesini sağlayıp, şüphede kalınan olgularda doktora yeterli miktarda bilgi verirler. Ayrıca bu metodla konvansiyonel serolojik tekniklerle elde edilemeyen, immunolojik cevap görünümleri de elde edilebilir (15).

Kittelberger ve arkadaşları da B. ovis hücrelerinden ekstrakte edilen antijen esasına dayalı basitleştirilmiş elektroforetik immunoblotting tekniğı, koyunlarda, kompleman birleşmesi testi, ELISA ve jel difüzyon testi ile karşılaştırmışlardır. Bu test, standart testlere benzer duyarlılık ve özgülük göstermiştir (16).

KAYNAKLAR

1. Gram negative facultatively anaerobic bacilli and aerobic coccobacilli. In: Bailey and Scott's Diagnostik Microbiology Edited by: Baron EJ, Finegold SM. 8th edition. The CV Mosby Company 1990; pp:408-30.
2. Wilfert CM. Brucella In: Zinsser Microbiology Edited by: Joklik WK. 20th edition Appleton and Lange Connecticut, 1992; pp:609-14.
3. Gürler N: Bruselloz'da bakteriyolojik tanı yöntemleri. Klimik Derg 1990; 3(1): 21-2.
4. Mikolich DJ, Boyce JM. Brucella species In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Edited by Mandell, Douglas, Bennett. 3rd edition Churchill Livingstone 1990; pp:1735-41.
5. Moyer NP, Holcomp LA, Hausler WJ. Brucella In: Manuel of Clinical Microbiolgy. Edited by Balows A. 5th ed. American Society of Microbiology.1991; pp:457-62.
6. Badur S. Bruselloz'da serolojik tanı ve seroepidemioloji. Klimik Derg. 1990; 3(1):17-20.

7. Bilgehan H. Brucella; Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. Barış yayınları,1992; s: 157-68.
8. Zygmunt MS, Dubray G, Limet JN et al. Antigenic structure of Brucella: Protective and diagnostic antigens In: Brucella and Brucellosis in man and animals. Edited by Tümbay E, Hilmi S, Anđ Ö. Ege University press İzmir 1991: pp:27-38.
9. Bilgin M, Gün H. Bruselloz'un serolojik tanısında Elisa, standart tüp aglutinasyon ve Rose-Bengal plate testlerinin karşılaştırılması. İnfeksiyon Derg. 1991; 5(3):171-3.
10. Göktaş P, Sümer S, Oktay G ve ark. Bruselloz tanısında iki testin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1991; 21(2):199-203.
11. Bumin MA. Bruselloz'un serolojik tanısında Rose-Bengal testinin önemi. Türk Hij Den Biyol Derg. 1988; 45(1):1-8.
12. Göktaş P. Bruselloz'da serolojik yanıtın seyri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1990; 20(3-4):199-203.
13. Saz JV, Bertran M, Agulla A et al. Enzyme Linked Immunosorbent Assay for diagnosis of Brucellosis. Eur J Clin Microbiol 1987; 6: 71-3.
14. Barbuddhe SB, Yadava VK, Singh DK. Detection of IgM and IgG antibodies against Brucella by Dot-Elisa in humans. J Commun Dis. 1994; 26(1):1-5.
15. Hewitt WG, Dayne DJH. Estimation of IgG and IgM Brucella antibodies in infected and noninfected persons by a radioimmune technique. J Clin Pathol 1984; 37:692-6.
16. Kittelberger R, Hansen M, Ross GP. A sensitive immunoblotting technique for the serodiagnosis of Brucella ovis infections. J Vet Diagn Invest 1994; 6(2):188-94.
17. Nielsen KH, Wright PF, Kelly WA. A review of Enzyme Immunoassay for detection of antibody to Brucella abortus in Cattle Veterinary Immunology and Immunopathology 1988; 18: 331-47.