

Brusellozda Brucellacapt (Immunocapture-agglutination) ve Rose Bengal testlerinin değerlendirilmesi*Assesment of Brucellacapt (Immunocapture-agglutination) and Rose Bengal tests in human brucellosis*

Erkan Yula¹, Turkan Toka Özer², Vicdan Köksaldı Motor³, Erhan Yengil¹, Melek İnci⁵,
Hüseyin Aksoy⁶, Çetin Kılınç⁵

¹ İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. İzmir, Türkiye

² Kızıltepe Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Mardin, Türkiye

³ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. Hatay, Türkiye

⁴ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği A.D. Hatay, Türkiye

⁵ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Hatay, Türkiye 6 Mehmet Ali Paşa, Aile Sağlığı Merkezi, İzmit, Türkiye.

Yazışma Adresi

Dr. Erkan YULA

Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Hatay, Türkiye E-mail:
erkanyula@gmail.com

Tel: +90326 229 1000-3428

Fax: +90326 245 54 35

Geliş tarihi / Received: 19.04.2014

Kabul tarihi / Accepted: 03.10.2014

ÖZET

Amaç: Bruselloz, Gram negatif bir bakteri olan brucella türlerinin neden olduğu son derece bulaşıcı bir zoonotik hastalıktır. İnsan brusellozunun tanısında çok çeşitli serolojik testler kullanılmaktadır. Brusellozun serolojik tanısında sıklıkla tercih edilen yöntem olan tüp aglütinasyon testi, blokan antikor varlığını tespit edemediğinden yalancı negatif sonuçlara yol açabilmektedir. Bu çalışmada farklı iki test olan Rose Bengal testi (RBT) ve immunocapture- aglütinasyon (Brucellacapt) testi sonuçlarının analiz edilmesi ve bu testlerin kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal Metod: Çalışmaya, Ağustos 2009 - Ağustos 2011 tarihleri arasında Kızıltepe Devlet Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli polikliniklerden gelen 220 hastadan alınan serum örneği dahil edilmiştir. Her bir hasta serumunda hem RBT (ADR Diagnostics, Medico Chemistry) hem de Brucellacapt (ADR Diagnostics, Medico Chemistry) testleri çalışılmıştır. Her iki test de üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Brucellacapt testinde 1/160 serum titresi eşik değer olarak kabul edilmiştir. Çalışma grubuna klinik bulgulara dayanarak bruselloz şüphesi olan 220 hasta dahil edilmiştir.

Bulgular: Serum örneklerin serolojik olarak incelenmesi ile her iki test 146 (%66,4) hastada negatif bulunurken, hem RBT hem de Brucellacapt testinin pozitif olduğu hasta sayısı ise 59 (%26,8) olarak bulunmuştur. Ek olarak sadece RBT testinin pozitif olduğu hasta sayısı 9 (%4,1), sadece Brucellacapt testinin pozitif olduğu hasta sayısı ise 6 (%2,7) olarak tespit edilmiştir. Toplamda RBT 68 hastada (%30,9), Brucellacapt testi ise 65 hastada (%29,5) pozitif olarak bulunmuştur.

Sonuç: Bölgemizde brusellozun endemik bir problem olarak devam ettiği tespit edilmiştir.

RBT, bruselloz tanısında, tecrübeli eleman gerektirmeyen, yorumlanması kolay, maliyeti düşük ve teknik olarak da kolay uygulanabilir bir testdir. Brucellacapt testi de kolay ve pratik bir test olup bruselloz tanısında tamamlayıcı bir test olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, Rose Bengal, Agglütinasyon

ABSTRACT

OBJECTIVE: Brucellosis is extremely infectious zoonosis caused by the Gram-negative bacteria of the genus *Brucella*. Several serological tests have been used for the diagnosis of human brucellosis. Although standard tube agglutination test is the frequently preferred method for the serodiagnosis of brucellosis, it may cause false negative results due to its incompetence in detecting the blocking antibodies. In this study, analysis of the results obtained with two different tests which are Rose Bengal test (RBT) and immunocapture- agglutination test (Brucellacapt) for detection of *Brucella*-specific antibodies in an area of endemicity and evaluation of usefulness of these tests were aimed.

METHODS: A total of 220 sera from different groups of patients from various polyclinics were included the study between August 2009 and August 2011 dates. Rose Bengal test (ADR Diagnostics, Medico-Chemistry) and Brucellacapt (ADR Diagnostics, Medico-Chemistry) were performed for each serum sample. Both of the tests were performed according to manufacturer's recommendations. The threshold serum titre was accepted as 1/160 in Brucellacapt test. In this study, 220 patients with suspected brucellosis based on clinical findings were included.

RESULTS: As a result of Serological examination of the clinical samples both of the RBT and Brucellacapt tests were negative in 146 (66.4%) patients. Both of the RBT and Brucellacapt tests were positive in 59 (26.8%) patients. In addition, only RBT was positive in 9 (4.1%) patients and only Brucellacapt test was positive in 6 (2.7%) patients. Totally, RBT was positive in 68 patients (30.9%) and Brucellacapt test was positive in 65 patients (29.5%).

CONCLUSION: Brucellosis continues to be an endemic problem in our region. RBT is a very useful test for the diagnosis of human brucellosis and hasn't got technical difficulties since they didn't require skilled personnel and high-cost material and easy to interpret. Brucellacapt is also simple and practical test and it is suitable complementary test for diagnosis of brucellosis.

Key words: Brucellosis, Rose Bengal, Agglutination

GİRİŞ

Bruselloz, Gram negatif bir bakteri olan *Brucella* türlerinin neden olduğu ileri derecede enfeksiyöz olabilen ve çoklu organ sistemlerini etkileyebilen zoonotik bir hastalıktır. *Brucella abortus*, *Brucella suis* ve *Brucella melitensis*, brusellozun sıklıkla izole edilebilen üç türü olup sırasıyla sığır, domuz ve koyun ile keçileri enfekte ederler. Bu hayvanlar, insanlar için ciddi bir rahatsızlık olan insan brusellozu vakasının kaynağıdır. Bruselloz;

Malta humması, Cebelitarık, Kıbrıs ya da Akdeniz ateşi, Bang's hastalığı, Ondülan ateş gibi değişik isimlerle de adlandırılmaktadır. Hastalar ateş, üşüme, artralji, baş ağrısı, yorgunluk ve güçsüzlük gibi spesifik olmayan semptomlar gösterirler. Bruselloz insidansının bazı Akdeniz ülkelerinde ve özellikle hayvancılığın önemli olduğu gelişmekte olan ülkelerde yüksek olduğu bildirilmektedir. Bu ülkelerdeki rapor edilen hastalık insidansları büyük değişiklikler gösterir (<0,01->200/100.000).

Değişken oranlar patognomonik semptomların az olduğu bu hastalıkta tanı koymadaki zorluğu göstermektedir(1).

İnsan brusellozu tanısında birçok serolojik test kullanılmaktadır. Wright ve arkadaşları tarafından 1897 yılında geliştirilen serum tüp aglütinasyon testi (SAT) hala diğer testlerin karşılaştırıldığı referans test olma özelliğini sürdürmektedir. Rose Bengal testi (RBT), kompleman fiksasyon testi, indirekt Coombs testi, enzim immunoassay (ELISA) ve son zamanlarda kullanılan immuncapture-aglütinasyon (Brucellacapt) testi tanıda kullanılan diğer testlerdir. Ancak bu testleri yorumlamak populasyonun büyük bir kısmının hayvanlarla ve hayvansal ürünlerle temasının olduğu ve etkene karşı antikor geliştirebildiği endemik bölgelerde sıklıkla zordur (2).

RBT insan brusellozunun tanısında sıklıkla hızlı tarama testi olarak kullanılan bir plak aglütinasyon testidir. Bu testin duyarlılığı çok yüksektir (>%99) ancak özgüllüğü düşüktür

(3). Uygulaması kolay bir test olduğundan, kısıtlı imkanları olan küçük laboratuvarlar için uygun bir test olabilir. Ancak Dünya Sağlık Örgütü kılavuzları RBT sonuçlarının diğer testlerle doğrulanmasını önermektedir (4,5). Özellikle brusellozun endemik olduğu bölgelerde, hastalıkla tekrar karşılaşma durumunda veya yeni geçirilmiş enfeksiyon hikayesi olan bireylerde tanıda tek başına kullanılmaması tavsiye edilmektedir(6).

İnkomplet antikorları tespit eden Coombs testi ve immunocapture-aglütinasyon testleri insan brusellozu tanısında daha yüksek sensitivite ve spesifisite ile hastalığın hem ilk evresinde, hem de ileri dönüşümlü vakalarda, ayrıca relaps ve reeneksiyonların tanısında benzer performans göstermişlerdir (3). SAT, bruselloz tanısında en çok tercih edilen test olsa da blokan antikor tespitinde inkompetansa yol açarak yalancı negatif

sonuçlanabilmekte fakat Coombs testi ile blokan antikorlar tespit edilebilmektedir. Bu test uzun sürmesi ve zahmetli olması nedeniyle laboratuvarlarda rutin tanıda direkt olarak kullanılmaz. Son zamanlarda total antikor tespitinde bloklayıcı antikor varlığını hiç engellemeyen ve daha pratik olan Brucellacapt kullanılmaktadır (7). Brucellacapt testindeki kuyucuklar insan kaynaklı IgG, IgM ve IgA antikorlarına karşı antikorlarla (Coombs antikorları) kaplıdır. Brucellaya karşı oluşan her üç antikoru ve blokan antikorları da tespit ettiği için daha yüksek titreler elde edilmektedir. Ayrıca SAT ve Coombs yöntemine göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllüktedir (8).

Bu çalışmada bruselloz için endemik bir bölgemizde farklı iki test olan RBT ve Brucellacapt test sonuçlarının analiz edilmesi ve bu testlerin kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, Ağustos 2009- Ağustos 2011 tarihleri arasında Kızıltepe Devlet Hastanesi'ne gelen ve bruselloz şüphesi olan 220 hasta dahil edilmiştir. Hasta grubu; uzun süreli yorgunluk, baş ve sırt ağrısı, iştahsızlık, kilo kaybı, üşüme, ateş, gece terlemesi, lenfadenopati, hepatosplenomegali, depresyon, halsizlik ve uykusuzluk gibi belirti ve bulguları olan, brusellozdan şüphelenilen yetişkin kişilerden oluşturulmuştur. Her bir hasta serumunda eş zamanlı olarak RBT (ADR Diagnostics, Medico chemistry) ve Brucellacapt (ADR Diagnostics, Medico chemistry) testlerinin her ikisi de çalışılmıştır.

RBT için 50 µl serum örneği ile negatif ve pozitif kontroller için damlalar lam test üzerinde farklı halkalara konulmuştur. Rose Bengal reaktifi (ADR Diagnostics, Medico chemistry) kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilerek hafifçe çalkalanmış ve test edilecek örneğin yanına bir damla ilave edilmiş ve karıştırılarak tüm halka yüzeyine yayılmıştır. Lam 4

dakika boyunca çalkalanarak görünen her çökme ve/veya tipik kenar görüntüsü pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Brucellacapt testi üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmıştır. Kısaca, serum dilasyonlarından 50'şer µl anti-total insan immunoglobulini ile kaplı U-tabanlı mikrotitre plakalara konmuş ve sonra 50 µl antijen süspansiyonu tüm çukurlara eklenmiştir. Plakalar yapışkan bir bantla ayrılmış ve 37°C'de 24 saat boyunca karanlık ve nemli ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 1/160 ve üzeri titrasyonlarda çukurun tabanındaki çökme görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Test sonuçlarının istatistiki olarak karşılaştırılmasında McNemar Testi kullanılmış (SPSS V16.0) ve anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 220 bruselloz şüpheli serum örneğinin serolojik incelenmesi sonucunda hem RBT hem de Brucellacapt testi 59 hastada (%26.8) pozitif olarak bulunurken, 146 (%66.4) hastada her iki test negatif olarak belirlenmiştir. Sadece RBT testinin pozitif olduğu hasta sayısı 9 (%4,1), sadece Brucellacapt testinin pozitif olduğu hasta sayısı ise 6 (%2,7) olarak tespit edilmiştir. Toplamda Rose Bengal testi 68 hastada (%30,9), Brucellacapt testi ise 65 hastada (%29,5) pozitif olarak bulunmuştur (Tablo 1). İki test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.607$). İki test arasındaki uyum iyi derecede ($kappa=0.838$) ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.001$).

TARTIŞMA

İnsan brusellozunun tedavisinde başarısızlıklar ve relapslar, kas eklem tutulumu, nörobruselloz ve endokardit gibi şiddetli komplikasyonlara yol açabilmektedir. Hastalığın

kesin tanısı brusellaya neden olan etkenin kan, kemik iliği ya da diğer dokulardan izolasyonuna dayanır. Ancak kültür işlemleri zaman alıcıdır ve duyarlılığı kişisel laboratuvar pratiği, kandaki bakteri miktarı ve kullanılan metoda göre değişmekle birlikte %15-70 arasındadır. Retiküloendotelial sistemde brusella konsantrasyonu göreceli olarak daha yüksek olması nedeniyle kemik iliği kültürü bruselloz tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Fakat bu yöntem invazif bir yöntemdir ve duyarlılığı yüksek değildir. Bu nedenlerle klinisyenler sıklıkla hastalığın indirekt kanıtlarını dikkate alma eğilimindedirler. Özgül antikorların yüksek ya da yükselen değerleri geçici tanıya olanak sağlar. Rutin tanıda birçok serolojik test mevcuttur ancak yalnızca negatif sonuçları engellemek için en az iki serolojik test kombinasyonu önerilmektedir. Genellikle serum aglütinasyon testi ilk kullanılan testtir. Kompleman fiksasyon ya da Coombs testi ise aglütinasyon testinin sonucunu onaylarlar. Bruselloz tanısında ELISA diğer serolojik testlerden daha duyarlı ve özgüdür (9).

Hastalığın ilk haftası boyunca serumda lipopolisakkarit antijenlerine karşı gelişen IgM antikorları görülür. Bunu ikinci haftada görülmeye başlayan IgG antikorları takip eder. Her iki antikor izotipi de 4. haftada zirve değere ulaşır. Antibiyotik kullanımı hem IgM hem de IgG sınıfı antikorların azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. SAT hastalığın tanısının doğrulanmasında

en sık kullanılan serolojik testtir. Tanı uygun klinik semptomlarla birlikte, serokonversiyon tespiti ya da yüksek antikor titreleri ($\geq 1/160$) mevcudiyeti ile konulur. Klinik olarak ciddi biçimde brusellozdan şüphelenilen hastalardaki seropozitivite eksikliği hastalığın erken safhasındaki test performansına ve "prezone" fenomeni de denen bloklayıcı antikorların (non- agglutinating, inkomplet) varlığına bağlı olabilir. Klinik görünüm için spesifik IgM, IgG ve IgA antikorlarını ölçen ELISA yöntemi daha iyi

klirik yorum sağlar ve SAT ile görülebilen yalancı negatiflik/pozitiflik engellenmiş olur (10).

Ayrıca endemik olmayan alanlarda genellikle mikrobiyolojik kültür metodları ve ileri immünolojik değerlendirmelerin yapılması teknik olarak zahmetlidir ve yorumlanması zordur. Bu testler tanının gecikmesine yol açabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı küçük laboratuvarlarda bile uygulanabilecek basit, hızlı ve doğru sonuç veren bir tanı metoduna gereksinim duyulmuştur. Bu durum bizi brusellozun sık grldği bölgemizde immnkaptr tekniğine bağlı test yöntemi ile RBT yöntemini değerlendirmeye teşvik etmiştir.

Mantur ve ark. immnkaptr tekniğinin hastalığın tüm evrelerinde SAT'a üstünlüğü olduğunu göstermişler ancak Coombs testine göre anlamlı bir üstünlük tespit etmemişlerdir . Ayrıca relaps tanısında faydalı bir metod olduğunu göstermişlerdir. İmmnkaptr ve Coombs testlerinin bruselloz sonuçlarının değerlendirilmesindeki karışıklığı gidermede daha sensitif olduğu bulunmuştur. Coombs testi zahmetlidir, yorumlaması subjektiftir ve beceri isteyen bir testtir. İmmnkaptr tekniğinde ise subjektif okuma hataları yoktur, uygulanması kolaydır ve bu yöntemin sonuçları tekrarlanabilir görünmektedir. Bu nedenle immnkaptr tekniğini özellikle brusellozun endemik olduğu ülkelerde önermektedirler(11).

Orduna ve ark. benzer şekilde SAT, Coombs anti-Brusella testi ve Brucellacapt testlerini değerlendirilmiştir. Bu alışma sonucunda Brucellacapt testi insan brusellozu tanısında hastalığın ilk evrelerinde, uzun dönüşümlü olanlarda, relapslarda ve reenfeksiyonlarda yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip bulunmuş olup bruselloz tanısında Brucellacapt ve Coombs testlerinin sonuçlarının paralellik gösterdiği bildirilmiştir. Brucellacapt testini Coombs testi ile karışılaştırdığımızda, her ne kadar tanısıl sınır

olarak kullanılan 1/320 den daha düşük titrelerde spesifitesi hafif şekilde düşse de, Coombs testine göre daha sensitiftir ve genellikle daha yüksek titreler gösterir(8).

Çiftçi ve ark. bruselloz şüphesi olan hastalarda RBT, SAT, Coombs testi, Rivanol tp aglütinasyon testi ve ELISA (IgA, IgG ve IgM) testlerinin sonuçlarını karışılaştırmışlar. Örneklerde prezon fenomeninin görülmediğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada önceki çalışmalardan farklı olarak Brusella Coombs tp aglütinasyon testi tanı şansını arttırmamıştır. Ayrıca Brusellanın serolojik tanısında RBT ve SAT testlerinin hala etkili olduğu, Rivanol tp aglütinasyon testinin sonularınının SAT testi ile benzer bulunduğu ve bu testin özellikle bruselloz relapsı olan hastalarda kullanılabileceği bildirilmiştir. Ek olarak IgA ve IgG antikör titrelerini birlikte ölçen ELISA testinin brusellozda tanı koyabilme şansını arttıran ve hastalığın takibinde faydalı bir metod olarak bulunduğu vurgulanmıştır(12).

Güzelant ve ark. RBT, SAT, Brucellacapt ve ELISA testlerini karışılaştırdıkları çalışmalarında kültür uygulanamayan hastalarda bruselloz tanısında SAT'ın yeterli olmadığını, Brucellacapt ve/veya ELISA ile kombine edilmesi gerektiğini önermişlerdir. Ayrıca bruselloz takibinde Brucellacapt testinin uygun olmadığını; onun yerine ELISA (IgM ve IgG) testlerinin kullanımının daha uygun olacağını bildirmişlerdir. Sırmatel ve ark. brusellozun serolojik tanısında SAT, RBT ve ELISA-IgG ve IgM yöntemlerinin performanslarını değerlendirmişlerdir. ELISA ve RBT, SAT'dan daha az duyarlı buldukları için bruselloz tanısında SAT'nın hala en güvenilir metod olduğu sonucuna varmışlardır (13,14). Yine başka bir çalışmada Alışkan ve ark. Brucellacapt testinin brusellozun tanısındaki değerini araştırmışlardır. alışmalarında Coombs ve Brucellacapt metodları arasındaki uyumu %100 olarak tespit etmişler ve kültür referans metod

olarak kabul edildiğinde Brucellacapt testinin duyarlılığını %92 (23/25), özgüllüğünü ise %100 (31/31) olarak bulmuşlardır. Çalışmalarının verilerine göre bruselloz tanısında Brucellacapt testi iyi performans göstermiş olmasına rağmen, daha geniş ve kapsamlı verilere ihtiyaç olduğu kanaatine varmışlardır (7). Ardıç ve ark. Coombs ve immünkaptür-aglütinasyon testlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında Coombs testi cut-off değeri 1:160 olarak alındığında duyarlılık, özgüllük, PPV ve NPV değerlerini sırasıyla %97,3, %55,6, %90 ve %83,3 olarak bildirmişlerdir. SAT için aynı oranları sırasıyla %97,3, %88,9, %97,3 ve %88,9 olarak bildirmişlerdir. Cut-off değerleri 1:320 olarak kabul edildiğinde Brucellacapt testi ve SAT için bu değerleri sırasıyla %100, %59,1, %86,6, %100 ve %88,6, %90,1, %96,9 ve %71,4 olarak bildirmişlerdir. Özgüllükleri her ne kadar biraz düşük olsa da Brucellacapt testinin her iki cut-off değeri için de duyarlılıklarının diğer çalışmalarla uyumlu olduğunu tespit etmişlerdir (15). Bruselloziste bakterinin izole edildiği testlerin zaman alıcı ve zor oluşlarından dolayı bu testlere nazaran dahada pratik olan serolojik testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Özgüllük ve

duyarlılıkları farklılık gösteren serolojik testler ile daha sağlıklı sonuçlara ulaşabilmek için bu testlerin kombine olarak kullanılması istenmektedir (16,17). Günümüzde RBT ile birlikte sıklıkla kombine olarak kullanılan STA testi blokan antikörlerin saptanmasında yeterli olamamakta ve yalancı negatif sonuçlar verebilmektedir. Blokan antikörlerin tespiti için kullanılan coombs testi ise pratik bir test olmadığı ve zaman aldığı için laboratuvarlarda sıklıkla kullanılmamaktadır. Yeni geliştirilen ve oldukça pratik bir test olan brucellacapt testi ise blokan antikörler da dahil olmak üzere total antikör varlığının tespitinde kullanılmaktadır (7). Bizim çalışmamızın sonuçları RBT ve Brucellacapt testlerinin brusella tanısında benzer oranlarda pozitiflik verdiğini göstermiştir.

Sonuç olarak, bölgemizde bruselloz endemik bir problem olarak devam etmektedir. Uygun anamnez ve klinik bulgularla birlikte RBT insan brusellozu tanısında maliyet olarak çok ucuz, karmaşık bir eğitim gerektirmeyen, sensitivitesi yüksek ve serum seyreltmelerine kolay adapte olabilen yararlı bir testtir. Pratik bir test olan Brucellacapt testinin ise kolay uygulanabilir olması bu testi bruselloz tanısında en uygun tamamlayıcı test yapmaktadır.

Kaynaklar

1. Díaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyón I. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLoS Negl Trop Dis*, 2011;19(4):e950.
2. Gomez MC, Netio JA, Rosa C, Geijo P, Escribano MA, Munoz A, Lopez CP. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clin Vaccine Immunol*, 2008;15(6):1031-3.
3. Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. *Indian J Med Microbiol*, 2007;25(3):188-202.
4. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, 2007;7(12):775-86.
5. Corbel MJ, Alton GG, Banai M, Di'az R, Dranovskaia BA, et al. *Brucellosis in human and animals*. Geneva: WHO Press, 2006:22-3.
6. Ruiz-Mesa JD, Sanchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martin L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(3):221-5.
7. Alishan H, Colakoglu S, Turunc T, Demiroglu YZ, Yazic AC, Arslan H. Evaluation of diagnostic value of Brucellacapt test in brucellosis. *Mikrobiyol Bul*, 2007;41(4):591-5.
8. Orduña A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Dueñas A, Cuervo M, Abad R, Hernández 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):4000-5.
9. 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.
10. Alishan H. The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis. *Mikrobiyol Bül*, 2008;42(1):185-95.
11. Mantur BG, Amarnath SK, Parande AM, Patil GA, Walvekar RR, Desai AS, Parande MV, Shinde RS, Chandrashekar MR, Patil SD, Shivaram C, Salagare RC. Comparison of a novel immunocapture assay with standard serological methods in the diagnosis of brucellosis. *Clin Lab*, 2011;57(5-6):333-41.
12. Ciftçi C, Öztürk F, Öztekin A, Karaoğlu H, Saba R, Gültekin M, Mamikoğlu L. Comparison of the serological tests used for the laboratory diagnosis of brucellosis. *Mikrobiyol Bul*, 2005;39(3):291-9.
13. Güzelant A, Kurtoglu MG, Kaya M, Keşli R, Terzi Y, Baysal B. Comparison of the Brucellacapt with other serological tests used for the diagnosis of Brucellosis. *Selçuk Tıp Derg*, 2009;25(3):125-131.
14. Sirmatel F, Türker M, Bozkurt AI. Evaluation of the methods used for the serologic diagnosis of brucellosis. *Mikrobiyol Bul*, 2002;36(2):161-7.
15. Ardıc N, Ozyurt M, Sezer O, Erdemoglu A, Haznedaroglu T. Comparison of Coombs' and immunocapture-agglutination tests in the diagnosis of brucellosis. *Chin Med J (Engl)*. 2005;118(3):252-4.
16. Thakur SD, Kumar R, Thapliyal DC. Human brucellosis: review of an under-diagnosed animal transmitted disease. *J Commun Dis* 2002;34(4):287-301.
17. Memish ZA, Almuneeff M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the Brucella Standard Agglutination Test with the ELISA IgG and IgM in patients with Brucella bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44(2):129-32.