



Bruselloz etyolojisi ve tanısı

Yrd Doç Dr Gülşah AŞIK

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

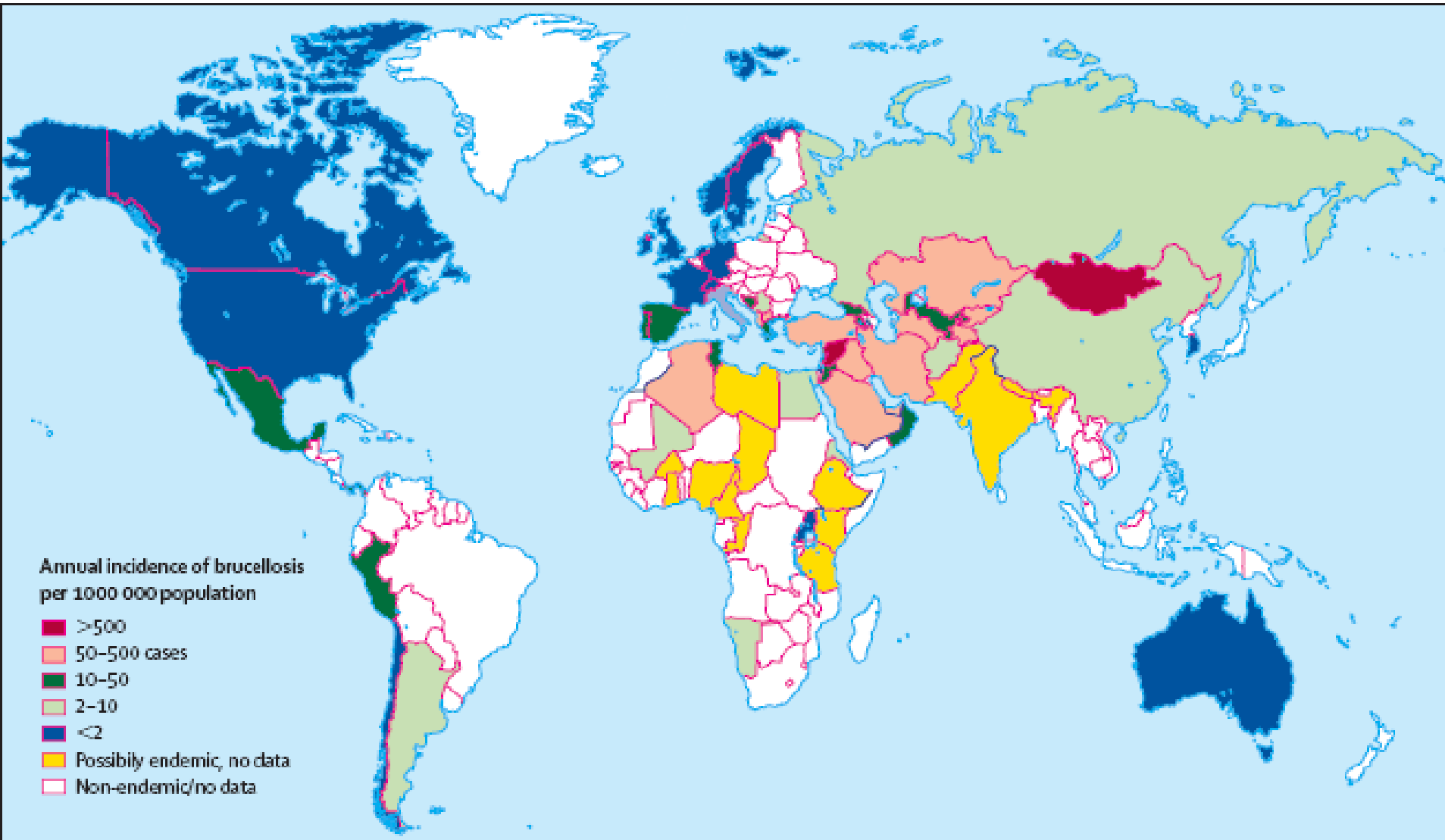
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bruselloz

- DSÖ verilerine göre bruselloz dünyada en sık rastlanan bakteriyel zoonozdur
- Tüm olgularda doğrudan ya da dolaylı olarak hayvan teması söz konusudur
- Her yıl yaklaşık 500.000 yeni olgu bildirilmektedir
- Ülkemizde bruselloz, endemik bir enfeksiyon
- Epidemiyolojisi ile ilgili yeterli bilgi yoktur

- Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle 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.
- İngiltere, Kuzey Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada'da bruselloz eradike edilmiştir.

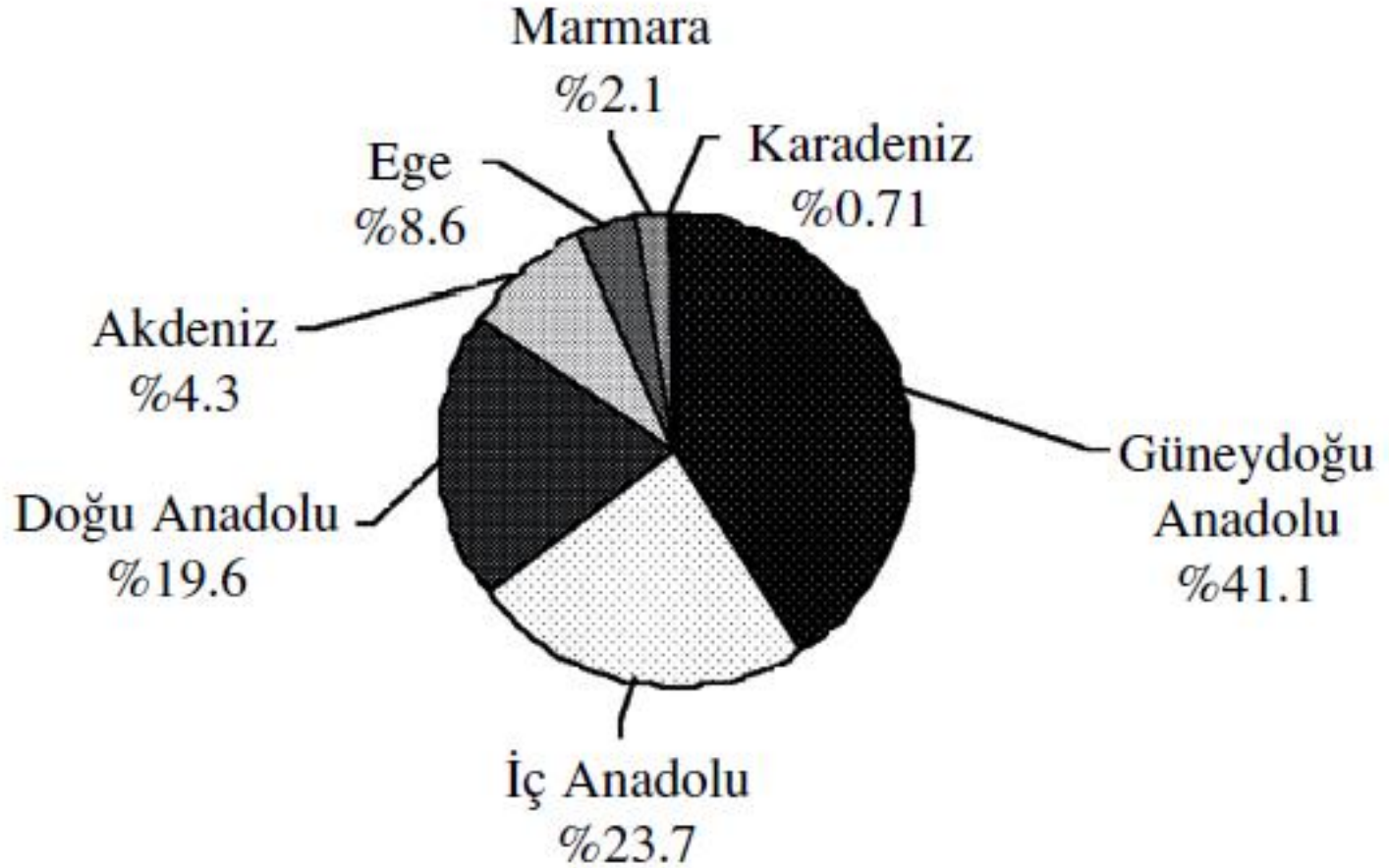
Dünyada brucelloz insidansı



Bruselloz Vaka ve Ölüm Sayıları, Morbidite ve Mortalite Hızları, Türkiye (1975-2006)

Yıllar	Yıl Ortası Nüfus	Vaka Sayısı	Morbidite Hızı (/100.000)	Ölüm Sayısı	Mortalite Hızı (/1.000.000)
1975	40.078.000	69	0,17	0	0,00
1980	44.438.000	186	0,42	0	0,00
1985	50.306.000	1.177	2,34	0	0,00
1990	57.582.446	5.003	8,69	2	0,03
1995	63.206.510	8.506	13,46	9	0,14
2000	67.844.903	10.742	15,83	6	0,09
2001	69.081.716	15.510	22,45	2	0,03
2002	70.415.064	17.765	25,23	1	0,01
2003	71.772.711	14.572	20,30	0	0,00
2004	71.152.000	18.264	25,67	2	0,03
2005	72.065.000	14.644	20,32	1	0,01
2006	65.789.167	10.810	16,43	3	0,05

Türkiye’de bruselloz olgularının bölgelere göre dağılımı-2004



Enfeksiyon kaynakları

- *Brucella abortus* → sığır
- *Brucella melitensis* → koyun ve keçi
- *Brucella ovis* → koç
- *Brucella canis* → köpek
- *Brucella suis* → domuz
- *Brucella neotomae* → çöl faresi
- *Brucella ceti* → deniz memelileri
- *Brucella pinnipedialis* → deniz memelileri
- *Brucella microti* → kırmızı tilki, tarla faresi
- *Brucella inopinata* → meme implantından izole edilmiş

- *B. melitensis* en virülan, *B. canis* virülansı en düşük
- Türkiye’de hastalık etkeni *B. melitensis*
B. canis birkaç olgu, *B. suis*’e bağlı olguya rastlanmamıştır.
- Brusellozun daha az görüldüğü ülkelerde olgular meslek hastalığı şeklinde, *B. abortus* ya da *B. suis* kaynaklıdır. *B. melitensis* enfeksiyonu çok düşük oranda görülür.

***Brucella* türlerinin yaşam süreleri**

Isıtma (60°C)	10 dakika
Phenol 1%	15 dakika
Direk güneş ışığı	Birkaç saat
Tuzsuz krema	142 gün
Taze peynir	3 ay
%10 tuzlu peynir	45 gün
%17 tuzlu peynir	1 ay
Tereyağı	4 ay
Dondurma	1 ay
Musluk suyu	57 gün
Toz	6 hafta
Nemli toprak	10 hafta
Hayvan dışkısı	100 gün

İnsanlara bulaş yolları

- Pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri,
- Direkt temas,
- İnhalasyon,
- Konjunktiva'ya inokülasyon
 - Endemik ülkelerde gıda kaynaklı
 - Gelişmiş ülkelerde daha çok temas ve inhalasyon yolu ile bulaş ön planda
 - Et ürünleri ile bulaş nadir



İnsandan insana

- Yakın kişisel veya cinsel temas ?
- Transplental
- Kan transfüzyonu veya doku nakli
- Kemik iliği nakli
 - Kan ve doku vericilerinin bruselloz açısından taranması
(endemik bölgelerde)

Mesleki bulaş - Riskli meslekler

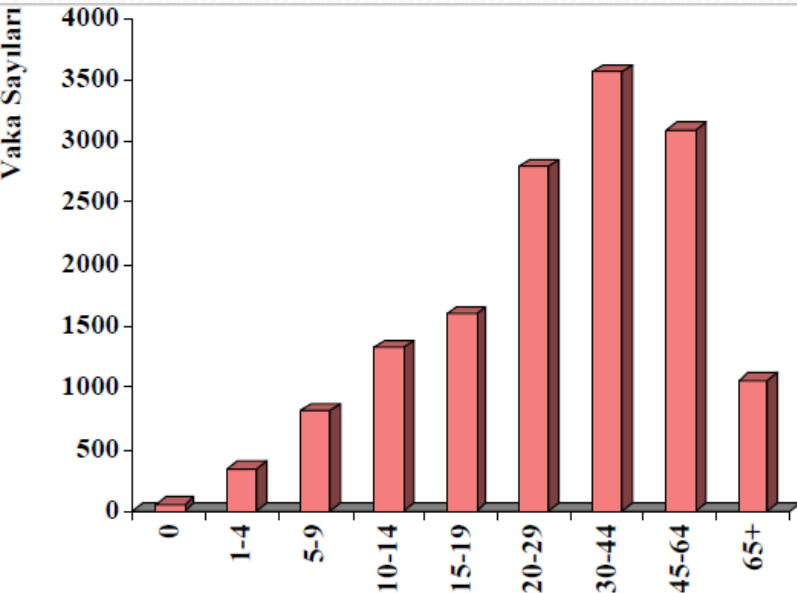
- Hayvansal gıda üretiminde, hazırlanmasında çalışanlar
 - kasaplar,
 - et paketleyenler,
 - süt ve süt ürünleri hazırlama işinde çalışanlar
- Hayvan çiftliklerinde çalışanlar,
- Veterinerler,
- Hayvancılık yapan aile bireyleri,
- Yün ve deri ile uğraşanlar
- Laboratuvarlarda çalışan hekim ve teknisyenler

Mevsimsel fark

- Ilıman ve soğuk iklime sahip ülkelerde;
 - İlkbahar ve yaz aylarında
- Tropikal ve subtropikal bölgelerde;
 - Mevsimsel deęişkenlik yok
- Türkiye'de tüm aylarda görölmekle birlikte ilkbahar ve yaz aylarında sık

Yaş dağılımı

- Genç ve orta yaşlı erişkin (20-45 yaş)
- Çocuk ve yaşlılarda insidansı düşüktür
- Ülkemizde olguların %50-60'ı 20-50 yaş,

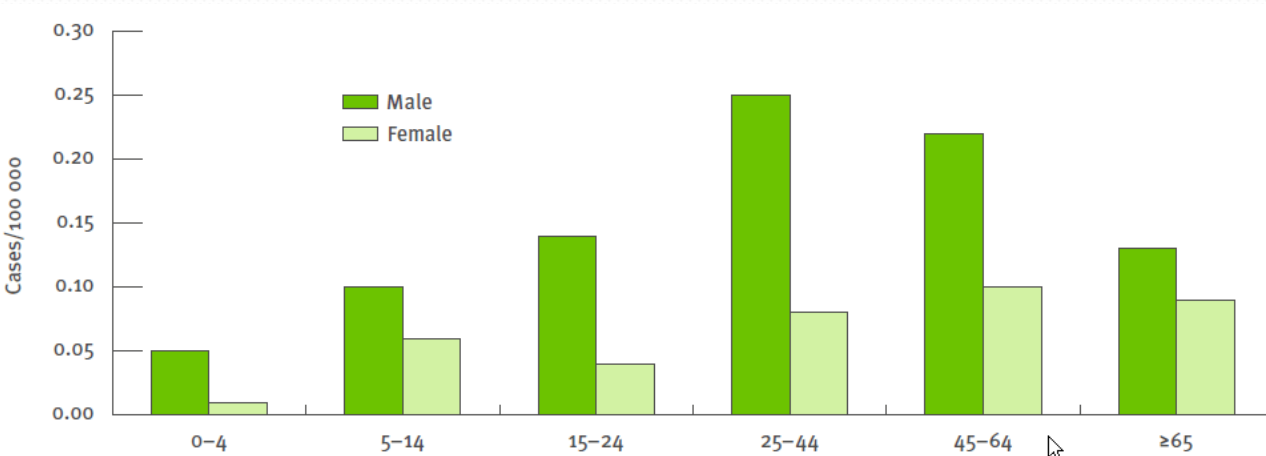


• 10-15'i çocuklar,

• 10'u 65 yaş üzeri

Cinsiyet dağılımı

- İnsidansın düşük olduğu ülkelerde erkeklerde
- Endemik ülkelerde cinsiyet farkı yoktur
- Ülkemizde de bildirilen olgu serilerinde cinsiyet açısından fark gözlenmemektedir



Seyahat İlişkisi

- Endemik bölgelere seyahat eden turistler, iş adamları ve bu kişilerin getirdiği, infekte peynir veya süt ürünlerini tüketen yakınları
 - Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa'daki akut bruselloz olgularının çoğu son zamanlarda dışarıdan gelen olgular

WHO/CDS/EPR/2006.7



Bruselloz Laboratuvar tanı

Nonspesifik Tanı Yöntemleri

Hematolojik ve
Biyokimyasal
testler

Spesifik Tanı Yöntemleri

Direkt Tanı Yöntemleri

Kültür
Moleküler tanı

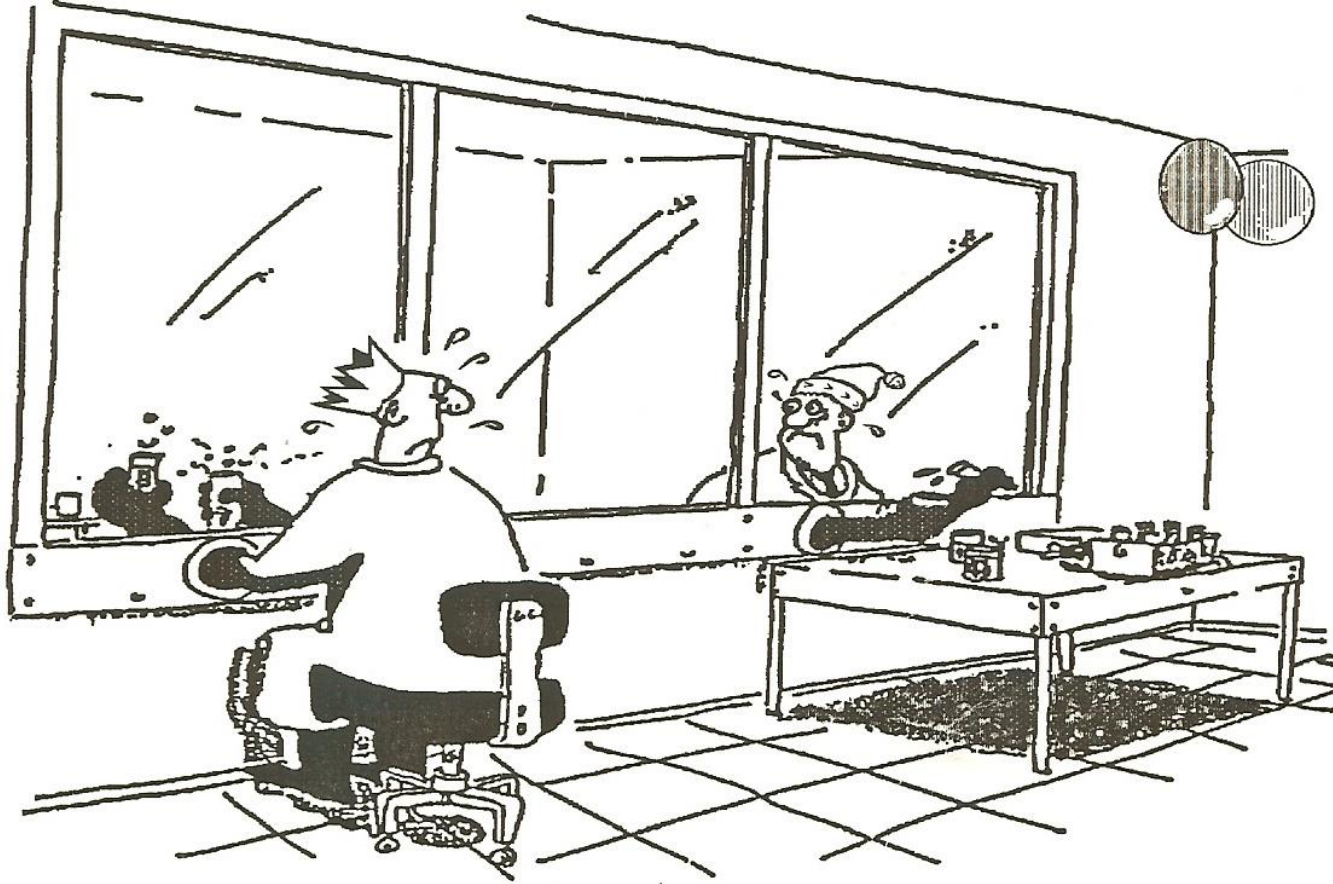
İndirekt Tanı Yöntemleri

Serolojik tanı

Laboratuvar Tanı

- Direkt Tanı Yöntemleri:
 - Kültür,
 - Moleküler
- İndirekt Yöntemler:
 - Hızlı Aglütinasyon,
 - Tüp Aglütinasyon,
 - Kompleman birleşme,
 - ELISA,
 - IFA,
 - RIA ...

Kesin tanı *Brucella* izolasyonu ya da spesifik immün yanıtın kanıtlanması ile



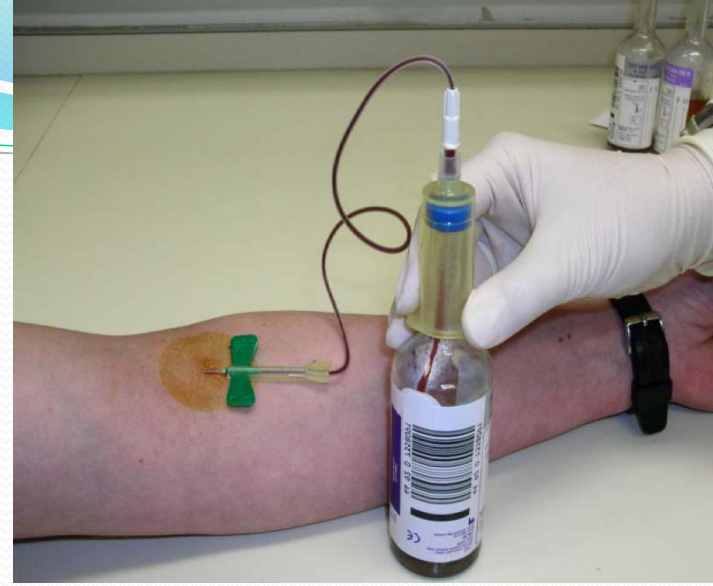
BİYOGÜVENLİK DÜZEY 3 RİSK GRUBUNDA YER ALAN PATOJEN !!!

KÜLTÜR

- *Brucella* için kültür örnekleri kan ve kemik iliği, nadiren dalak ve karaciğer biyopsileri, abse, BOS, eklem, periton ve perikard sıvıları ve idrar örnekleridir.
- Çift ekim yapılır; biri %5-10 CO₂'li ortamda inkübe edilir. İnkübasyon süresi 3-21 gün

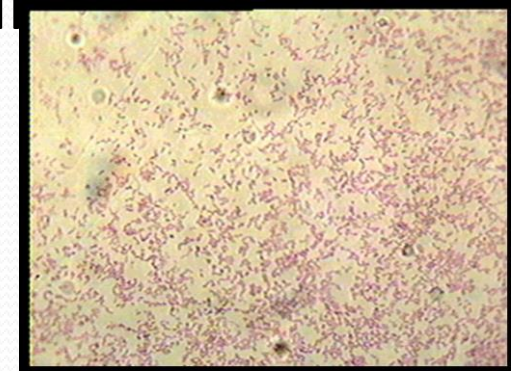
KÜLTÜR

- Kültür antibiyotikten önce alınmalı
- Antibiyotik kullanımında izolasyon
 - kan kültürü ile %50,
 - kemik iliği kültürlerinde %90,
- Antibiyotik kullanmayanlarda izolasyon
 - kan kültürü ile %75,
 - kemik iliği kültürlerinde %92.5
- Üreme zamanı: Kemik iliği > kan kültürü



İdentifikasyon basamakları

- İntrasellüler yerleşimli olduklarından ilk izolasyonlarında kompleks besiyeri gerekir
 - Tryptic soy agar
 - Brucella agar
 - BHI agar
- Hemolizsiz, pigmentsiz, küçük, saydam, şebnem tanesi gibi, kaygan, S koloni
- Gram negatif, silik boyanmış, tek-çiftli kokobasiller
- Üreaz, oksidaz, katalaz pozitif



Tanımlamada anahtar testler

	H2S Oluşturma	Üreaz Aktivitesi	Fuksinde üreme	Thioninde üreme	CO2 İhtiyacı	Antijenik Yapı
<i>B.melitensis</i>	(-) veya ilk 24 saat	Değişken	+	+	-	A/M oranı 1/20
<i>B.abortus</i>	4 gün	1-2 saat	+	-	+	A/M oranı 20/1
<i>B.suis</i>	4 gün	0-30 dk.	-	+	-	A/M oranı 20/1

Brucella PCR

- Genetik hedef *Brucella BCSP-31 geni 16S-23S rRNA operonu*
- Klinik örneklerden direkt tanımlama: **Akut Bruselloz**
- Relapsların erken tanımlanması
- Aktif ve inaktif (Kür !!!) ayırımı
- Nörobruselloz tanısı
- Tedaviye yanıt ve prognoz takibi
- Moleküler tiplendirme
- Antibiyotik “Rifampin” direnç geni araştırılması

Moleküler yöntemlerin günümüzde yeri

“ klinik evrelere göre

optimizasyon ve standardizasyonu

yapılamadığı için

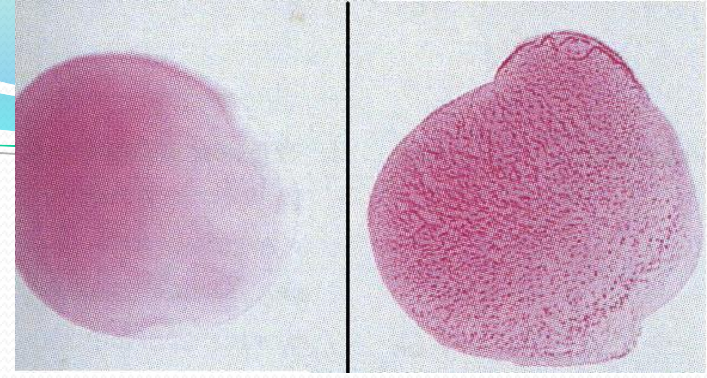
sonuçlar arasında belirgin farklılıklar nedeniyle

rutinde kullanımını henüz tam kabul

görmemiştir”

Aglütinasyon testleri

Rose Bengal Lam Agl. Testi



- **Standardize edilmiş en iyi tarama testi**
- Antijen: Tamponlanmış ve Rose-Bengal ile boyanmış *B. abortus* S99 veya S-1119 suşu
- Aktif Brusellozlu olgularda; Duyarlılık: %96-100 özgüllük
% 91-100
- Kronik bruselloz: Duyarlılık DÜŞÜK (%33-50)
- Pozitif sonuçlar SAT veya ELISA ile doğrulanmalı

Aglütinasyon Testleri

Wright Tüp Agl. Testi



- Bruselloz tanısında kullanılan standart serolojik test
- Antijen: *B. abortus* S99 veya *B. abortus* 1119
- *B. abortus*, *B. suis* ve *B. melitensis*'e karşı oluşmuş antikorlar tarafından aglütine edilir.
- **Akut enfeksiyon:**
- Endemik olmayan bölgelerde $\geq 1/160$ titre
- Endemik bölgede $\geq 1/320$ titre
veya serokonversiyonunun gösterilmesi

Tüp Aglütinasyon Testleri (Wright)

- Tek bir titre hiçbir zaman tanısal değildir

Tanısal titre:

- Hastalığın toplumdaki genel prevalansına ve
- Çalışılan popülasyonun özeliğine göre
 - Epidemiyolojik, klinik belirti ve bulguların varlığı,
 - Kırsal ve kentsel bölgede yaşam, risk grubunda yer alma,
 - Hastalık evresi (aktif-inaktif) gibi parametreler

Avantaj - Dezavantaj

- Basit bir test olması,
- Genellikle ilk pozitifleşen test
- Akut bruselloz'da: “yüksek duyarlılık ve özgüllük”
- Hastalık evresinin saptanamaması
- Uzun süre yüksek titrede antikor varlığı
- Çapraz reaksiyonların varlığı
- Yalancı negatiflik

Aglütinasyon testlerinde

YALANCI POZİTİFLİK

- *F. tularensis*
- *Y. enterocolitica* O:9
- *V. cholera* aşısı
- *Salmonella urbana* N:30
- *Afipia clewandensis*
- *Stenotrophomonas maltophila*
- *E. coli* O157 ve O116

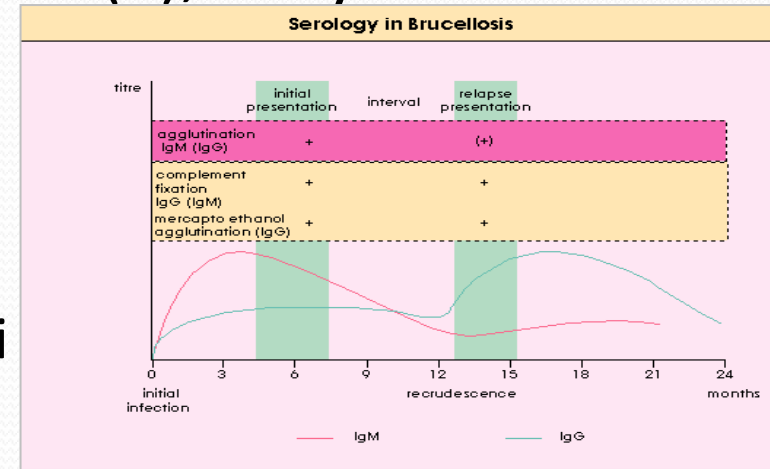
YALANCI NEGATİFLİK

- Enfeksiyonun ilk haftası
- *B.canis* enfeksiyonu
- Prezone fenomeni
- Blokan antikorlar (Kronik Bruselloz)
- Agammaglobulinemi

- **Prezon:** Aglütinasyonun antikor fazlalığına bağlı olarak engellenmesi
- **Blokan antikor:** Antijene bağlanabilen ancak aglütinasyona yol açmayan antikorlar
Coombs testi ile aglütinasyon sağlanır.
- **2 Merkapto Ethanol Testi:** Aglütinasyon IgG ? IgM ?
 - Hastalığın evrelerinin saptanması,
 - Antimikrobiyal tedavinin etkinliğinin ve
 - Prognozun değerlendirilmesinde önemli

ELISA

- IgM, IgG ve IgA antikorlarının saptanması
- Spesifik IgM, 1. haftada (+)' leşir, 3. ayda maksimum.
 - Bazen uzun süre, birkaç yıl (-) leşmez.
 - Akut/kronik formun akut alevlenmesi mi, geçirilmiş mi olduğu IgM ile belirlenemez.
- Spesifik IgG ise 3. hafta sonrasında (+), 2. ayda maksimum ulaşır ve iyileşmeyi izleyen kısa sürede (-)
 - Brusellozda IgG, aktivasyon belirteci



Avantaj - Dezavantaj

- Blokan antikorlardan etkilenmemesi
- Kantitatif olması (Objektif sonuç)
- Kolay uygulanabilmesi (3 saatte sonuç)
- Çok sayıda örnek çalışılabilmesi (Kitle taramalarına uygun)
- Ekipman gereksinimi
- Antijenik standartizasyonun olmaması !!!,
- Anti-human globulin preparatlarının kalite farklılığı

Radyo-İmmün Assay (RIA)

- I^{125} ile işaretli antikorlar kullanılarak
- IgM, IgG ve IgA tipi antikorlar saptanabilmekte
- Akut ve kronik bruselloz olguları tanımlanabilmekte
- Yüksek Duyarlılık ve özgüllük
- Pahalı alete bağımlı olması
- Deneyimli personel gereksinimi,
- Radyoaktif artık ürünler
- Radyoizotopların yarı ömürlerinin kısa olması

IFA

- Yüksek Duyarlılık ve özgüllük,
- Kısa zamanda sonuçlanması
- Diğer serolojik testler ile yüksek korelasyona rağmen,
- STA (STA-ME), CT ve CFT testine karşı bir üstünlüğü gösterilememiştir



TEŐEKKÜR EDERİM...