

Brusellozda Serolojik Tanı ve Seroepidemioloji

Selim Badur

Bruselloz, sığır ve koyun yetiştiriciliği yapılan birçok 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.

Brusellozun Seroepidemiolojisi

Günümüzde bruselloz olgularına, özellikle hayvanlarda görülen infeksiyonun tam olarak kontrol altına alınmadığı ülkelerde sık rastlanmaktadır. Hastalık süresinin ve konvalesan dönemin uzunluğu ile karakterize olan brusellozda, hastalığın sağlık sorunu olmaya devam ettiği yörelerde süratli tanı ve tedavi koşullarının yeterince gelişmemiş olması konuyu daha da önemli kılmakta ve bu durum hastalığa yakalanan bireylerin normal aktivitelerinin azalması sonucu, ülke ekonomisinde ciddi boyutlarda ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bugün birçok gelişmiş ülkede, bruselloz ya tamamen eradik edilmiş ya da kontrol altına alınmış ise de, gelişmekte olan ülkelerde henüz gerçek prevalansın tam olarak bilinmediği ve bu bölgelerde brusellozun önemli bir sağlık sorunu olmaya devam ettiği kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, tüm dünyada yılda 500.000 yeni olgunun bildirildiği hesaplanmıştır [18,26]. Dünyanın çeşitli ülkelerinden bildirilen olgu sayıları incelendiğinde, veterinerlik alanında yapılan girişimler ve alınan önlemler sonucu insanda brusellozun düşüş gösterdiği; örneğin ABD'de insanlarda görülen olgu sayısının 25 kez azaldığı; bu ülkede 1950'li yıllarda 5000'den fazla olgu bildirilirken, 1974 yılında toplam olgu sayısının 247 ile sınırlandırıldığı görülmektedir. Benzer girişimler sonucu, Peru'da 1967 yılında bildirilen 2500 olgunun, 1973'de 607'ye indiği görülmektedir. 1970'li yıllarda Sovyetler Birliği'nden 6894, Arjantin'den 1123, İspanya'dan 7090, İtalya'dan 3016, Yunanistan'dan 2086, Fransa'dan ise 883 olgu bildirilmiştir. Yugoslavya, aynı yıllarda aldığı etkili önlemler sonucu, hastalığı topraklarından eradike etmeyi başarmıştır (8,15,26). Ülkemizde ise, Sağlık Bakanlığı raporlarına göre 1970-1980 yıllarını kapsayan on yıllık dönemde toplam 755 olgu saptanmıştır (1). Ancak tüm bu verilen sayıların gerçek insidansı tam olarak yansıtmadığı; bildirim yetersizliğinin yanı sıra, subklinik seyreden olgular da dikkate alındığında, bildirilen sayıların dört-beş misline ulaşan rakamların ortaya çıkacağı hesaplanmaktadır. Bu tip bir değerlendirme sonucu, örneğin İspanya'da bir yılda ortaya çıkan bruselloz olgularının 20.000'den fazla olması gerektiği kabul edilmektedir. Nitekim, toplumdaki seropozitiflik oranları dikkate alındığında, infeksiyonun çok daha yaygın olduğu görülmektedir. Örnekleme esasına göre yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda, Brezilya ve Fransa'da toplumun % 3'ünde spesifik antikorların varlığı saptanmıştır (8). Ülkemizde ise bruselloz seroepidemiolojisi konusunda yapılan en ayrıntılı çalışma, 1987 yılında deneysel bölümle-

ri tamamlanmış olan bir TÜBİTAK projesidir. Bu güdümlü projede, İstanbul Tıp Fakültesi-Mikrobiyoloji Anabilim Dalı yürütücülüğünde, ülkemizin farklı yörelerinden 13 ayrı çalışma grubu görev almış ve sonuçta, toplam 70.009 örnek incelenmiştir. Her merkez: a) infeksiyon hastalığı şikayeti bulunmayanlar (kırsal kesimde yaşayanlar, askerler, öğrenciler...); b) hastanelere, infeksiyon hastalıkları dışındaki yakınmalarla bavyuranlar; c) risk grubu üyeleri (veterinerler, mezbaşa çalışanları...); d) brusellozu düşündüren klinik şikayeti olanlar şeklinde belirtilen farklı toplum kesimlerini, aynı reaktifleri kullanarak, *Brucella* antikorları yönünden incelemiştir. Bu geniş kapsamlı çalışma sonunda, normal popülasyonda seropozitiflik oranı % 1.8 (58.707 örnekte, 1054 pozitif) olarak belirlenmiş; en yüksek pozitifliğin sırasıyla Diyarbakır, Konya ve Antalya yörelerinde görüldüğü saptanmıştır. Normal popülasyonun yanı sıra, risk grubu mensupları (bu kesimdeki seropozitiflik oranı % 6'dır) ve inkomple antikorlara bağlı yalancı negatiflik durumu da göz önüne alındığında, 1987 yılı için ülkemizde *Brucella* bakterileri ile temas etmiş olduğu kabul edilen kişi sayısı 1.750.000 olarak hesaplanmıştır (25).

İnfeksiyonun rezervuarı oldukları bilinen koyun, keçi, sığır, domuz gibi çiflik hayvanlarının yanı sıra, köpekler ve vahşi hayvanlar da insanlar için önemli kaynakları oluştururlar (1,5). Ancak belirtilen bu hayvan türleri arasında, hastalığı bulaştırma riski açısından önemli farklar bulunmaktadır; örneğin koyun ve keçilerde görülen *Brucella melitensis*, insan için oldukça patojen bir türdür; sığırlarda rastlanılan *Brucella abortus*'un patojenitesi daha azdır. Köpeklerde görülen *Brucella canis* ise diğerlerine oranla insanda daha hafif hastalık yapar. Kuzey Rusya, ABD ve Kanada'da ren geyiklerinin *Brucella suis* biyotip 4'ü taşıdıkları; ender de olsa, başka bazı vahşi ya da çiftlik hayvanlarının (deve, bizon, yak, buffalo...) infeksiyonu bulaştırmada rol oynayacakları belirlenmiştir (8,26). Bu nedenle insanda infeksiyonun denetlenmesi açısından bir ülkede brusellozun hangi hayvan türlerinde ve ne oranla yaygın olduğunun bilinmesi, büyük önem taşır. Ülkemizde, hayvanlarda yapılan taramalarda koyun ve keçilerde % 2.5, sığırlarda % 4 oranında seropozitiflik bildirilmiştir. Trakya, Marmara bölgesi ve Kars yöresinde oldukça yüksek bulunan seropozitiflik, İstanbul civarında 1980 yılında incelenen sığırlarda % 45 dolayında bulunmuştur. 1980'li yıllarda, yurdumuzda 60 milyondan fazla koyun-keçi; 17 milyondan fazla sığır bulunduğu göz önüne alındığında, hayvancılık alanında yapılacak mücadelenin ne boyutlarda olduğu görülmektedir (24). 1969 yılından itibaren, Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Merkezinde, koyun, keçi, kuzu, oğlak ve diğer hayvanlar için aşı üretimine başlanmış ve geniş hayvan sürüleri bu standart aşı ile aşılanmıştır. 1982 yılında, Tarım ve Orman Bakanlığı Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü tarafından, "Türkiye'de Brusellozis Mücadele Projesi" adlı altında, toplam 26 yılı kapsayan geniş bir çalışma başlatılmıştır. Bu projeye göre ülkemiz beş bölgeye ayrılmış; çalışmada 413 saha ekibi, 28 kontrol ekibi ve 15 laboratuvar görev almıştır. Projenin ilk aşamasında 2.845.000 koyun-keçi ve 585.000 inek taramadan geçirilmiş; ikinci aşamada ise, 3 yıllık sürede 65.520.000 koyun-keçinin ve 5

İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı, Çapa-İstanbul
Bruselloz Sempozyumunda (6 Aralık 1989, İstanbul) bildirilmiştir.

yıllık sürede 132.708.000 kuzu-oğlağın, *B. melitensis* Rev. I. aşısı ile; 10 yıllık sürede ise 26.750.000 dişi dananın, *B. abortus* S. 19 aşısı ile aşılınmaları öngörülmüştür. Projenin giderleri 1982 yılı için 27.469.561.000 TL; projenin başarıya ulaşması halinde, ulusal gelire katkısı ise 352.853.833.800 TL olarak hesaplanmıştır. Bu proje halen başarı ile sürdürülmektedir (24).

İnsana bruselloz bulaşması, sindirim sisteminin yanısıra temas ve solunum yolundan da olabilmektedir; ayrıca kaza sonucu, sağlık personelinin laboratuvarında infekte olması; ender de olsa cinsel temas veya inkübasyon döneminde alınmış kan ile yapılan transfüzyon sonucu bulaşmalar da söz konusudur. Sindirim yolundan bulaşma genellikle bağırsak mukozasından olur; temas yolundan bulaşmada ise başlıca rolü eller oynamaktadır. Bu tip bulaşma özellikle veterinerler arasında görülmekte, ayrıca mezbahalarda kesim sırasında kontamine eller ile ağıza veya konjunktivaya taşınan bakteriler infeksiyona yol açmaktadır. Ayrıca yine mezbaha çalışanları arasında solunum yolundan, inhalasyon ile bulaşma sonucu oluşan salgınlar da bildirilmiştir (8).

Brucella bakterileri ile infekte koyun, sığır, keçi, deve gibi hayvanlar, bakterileri özellikle laktasyon dönemlerinde sütleri ile çıkarırlar; bu nedenle infekte hayvanların süt ve süt ürünleri önemli infeksiyon odaklarıdır. Koyun sütünden hazırlanan peynir bir diğer önemli kaynağı oluşturur. Ülkemizde uygulanan peynir hazırlama teknikleri, bu bakteriyi öldürmeye yetmemektedir; örneğin 1968'de, Balıkesir'de, kaynatılmamış süt ile hazırlanmış beyaz peynirlerin % 16'sında *Brucella* bakterilerine rastlanmıştır. *Brucella* bakterileri, 11°-14°C'de, düşük pH'de uzun süre (yaklaşık 1.5 ay) canlılıklarını korurlar (8). Taze peynirin infeksiyon kaynağı olduğu ülkelerin başında Akdeniz ülkeleri, Fransa, İtalya, Yunanistan ve Orta Asya ülkeleri gelir. Akdeniz ülkeleri, Güney Amerika, Asya ve Afrika'da keçi sütünden hazırlanan peynir, dondurma, ya da beslenme yetersizliği olan çocuklara verilen çiğ keçi sütü önemli infeksiyon kaynaklarıdır. *Brucella* bakterileri +4°C'de muhafaza edilen etlerde de uzun süre canlılıklarını korurlar; yeterince pişmemiş et ve et ürünlerini yiyenlerin yanısıra, bu etlerin ambalajlanmasında çalışanların ellerinden de bulaşma söz konusudur.

Brucella Bakterilerinin Antijenik Yapısı

Bakterilerin, ultrasantrifügasyon ya da dondurma-çözme işlemleri ile parçalanıp, elde edilen karışımın filtrasyonu sonucu ayrılan üst sıvı, bağışık seruma karşı immünelektroforeze tabi tutulduğunda, yirmiden fazla antijen-antikor reaksiyonunun varlığı görülmüştür (6). Farklı suşlar ile yapılan karşılaştırma çalışmaları, birçok *Brucella* antijeninin tüm suşlarda ortak olarak bulunduğunu; sadece somatik-LPS antijenlerinin "S" tipinden olan ve olmayan suşlarda önemli farklılıklar gösterdiğini; dış membran proteinlerinin ise, farklı türlerde değişik yapılarda olduklarını göstermiştir. *Brucella* bakterilerinin "S" tipi koloni oluşturan (smooth cells) suşlarında, A (*B. abortus*) ve M (*B. melitensis*) epitoplarının varlığı saptanmıştır. "S" ve "R" (rough cells) tipi suşların çözünebilir ekstraktları, ID ile incelendiğinde ortaya çıkan en belirgin antijenin LPS'ler olduğu görülmektedir (S-LPS ve R-LPS'ler); bu major antijenlerinin yanısıra, natif haptin (NH), B polisakaridi (poly. B) ve yirmi kadar protein/glikoprotein antijeni, bakterilerin yapısında yer almaktadır. LPS antijenlerinin hücre yüzeyinde yer almasına karşılık, protein antijenlerinin büyük kısmı hücre içinde bulunur (26). Tüm bu antijenler arasından, serolojik testlerde ve koruyucu aşı çalışmalarında yararlanılan başlıcaları şunlardır:

a) Yüzey antijenleri: Diğer Gram-negatif bakterilerde ol-

duğu gibi, *Brucella*'ların yüzey katmanları en içteki sitoplazma membranı, bunu çevreleyen sert peptidoglikan tabakası ve fosfolipid-LPS-proteinleri (OMP) içeren dış membran (OM)'dan meydana gelir. S tipi kolonilerin S-LPS maddesi, fenol-su ekstraksiyonu ile ayrıştırılınca, (S-LPS, fenol kısmında bulunur) % 20-30 protein, % 8 nükleik asit ve natif haptin polisakarid (NH) ile birlikte elde edilir. Saflaştırılan S-LPS'in karbonhidrat kısmında glukoz, mannoz, glukozamin, kinovozamin, 4,6-dideoksi-4-formamido-D-mannoz ve 2-keto-3-deoksioktanat bulunur. S-LPS'in lipid A kısmında ise fosfolipid, glukozamin ve yağ asitleri yer alır; lipid A bölgesi, glukoz, mannoz ve kinovozamin içeren, polisakarid yapısındaki kor kısmında bağlıdır. Kor bölgesi ise, lineer homopolimer şeklindeki spesifik O-zincirine bağlıdır. Diğer enterik bakterilerden farklı olarak *Brucella*'ların S-LPS bölgesinde heptoz yer almaz. R tipi kolonilerin R-LPS maddesi (fenol-su ekstraksiyonunda, su kısmında bulunur) ise, nükleik asit ve protein içermez. Kinovozamin dışındaki yağ asitleri S-LPS'lerinin ayrıdır.

Bakterilerin OMP'lerinde iki major protein grubu bulunur: 36-38 K. ve 25-27 K. Peptidoglikanın yapısı ise, diğer Gram-negatif bakterilerinkine benzer ve adjuvan özelliği nedeniyle immün yanıtta rol oynar.

Bu antijenlerden S-LPS, aglütinasyon, kompleman birleşmesi (KB) ve Rose-Bengal (RB) testlerinde rol oynayan major antijenlerdir. NH ve poly-B haptinleri ise, infekte hayvanları, aşılamaşılardan ayırt etmede, ID testlerinde kullanılır.

b) İç antijenleri: Bu bölgede yer alan proteinler (A1|A2,A5....X antijenleri) deri deneylerinde rol oynarlar (21).

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'e bağlı karbonhidratın O zincirindeki 4,6-dideoksi-4-amino-D-mannoz (N-acil-D-perozamin) bölgesidir. Buna karşılık *Brucella* protein antijenleri bu bakteriye özgü antijenlerdir.

Bruselloz Tanısında Kullanılan Serolojik Yöntemler

Tüm infeksiyon hastalıklarının laboratuvar tanısında olduğu gibi, brusellozun etiyolojik tanısında da doğal olarak ilk başvurulması gereken işlem, bakteriyolojik kültür yöntemleridir. Ancak, incelenen örneklerde etkenin üretilmesi için muayene maddesinin hastalığın belirli dönemlerinde alınmasının gerekliliği, özellikle kronik olgularda kültür yöntemlerinin her zaman sonuç vermemesi ve kültür tekniklerinin her laboratuvarında bulunmayan bazı özel koşulları gerektirmesi gibi nedenlerden ötürü, bruselloz tanısında indirekt etiyolojik tanı tekniklerine daha sık başvurulmaktadır. Ayrıca, özellikle veterinerlik alanında, hem çok sayıda hayvanın taranması için, hem de uygulanan aşının etkinliğini denetlemek için yapılacak alan taramalarında serolojik yöntemler çok sık kullanılmaktadır.

Laboratuvarlarda en yaygın uygulanan testlerin başında tüp ve lam aglütinasyonu (TA,LA); anti-insan globulininin kullanıldığı aglütinasyon testi (Coombs reaktifi ile TA); merkaptotanol (veya rivanol) kullanılarak yapılan TA ve KB deneyleri gelmektedir.

a) TA testi: Aglütinasyon testinde, olası bir prozon olayını gözden kaçırmamak için hasta serumu bir dizi tüpte, en az 1/640 oranında sulandırılıp, üzerine eşit miktarda standart *Brucella* antijeni ilave edilir; inkübasyonu takiben, tüpteki

sıvının tamamen berrak olması, aglütinasyonun tüpün dibinde yaygın bir kümeleşme şeklinde görülmesi, pozitif sonuç olarak değerlendirilir. 1/40 ve yukarı sulandırılardaki aglütinasyon olayı tanı için gereklidir; 1/160 sulandırılardaki pozitiflik ise kesin olarak brusellozun göstergesidir (18). Erken pozitifleşen TA deneyi, tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak saptanan antikorların hangi sınıftan olduklarının belirlenememesi, düşük titrede alınan pozitifliklerin yorumundaki güçlükler ve bu test ile saptanan titrenin zaman içinde süratle azalması, TA'nın olumsuz özellikleridir (12).

b) LA testi: Aglütinasyon testi, Rose Bengal boyası ile muamele edilmiş ölü bakteri süspansiyonlarından yararlanılarak, lam aglütinasyonu şeklinde de uygulanabilir; antijen süspansiyonunda kullanılan tamponun pH'sı 3.6-3.7'ye ayarlandığından, serumdaki IgM'lerin aktivitesi önlenmiş olur ve sonuçta bu test ile saptanan antikorların büyük bölümü IgG yapısındadır. LA testinin serum yerine tam kan ile uygulanan şekli SPOT testi olarak isimlendirilir (8).

c) Coombs reaktif ile yapılan TA: Bazı serumlar spesifik antikorları içermelerine rağmen aglütinasyon meydana gelmez. Bu tip inkomple antikorların, anti-insan globülini (Coombs reaktif) kullanılarak, antijenle reaksiyon vermeleri sağlanabilir. Bu amaçla, klasik TA uygulamasında, aglütinasyon görülmeyen tüpler santrifüjde çevrilir; üç kez yıkanan çökteltide, Coombs reaktif ilavesi sonucu aglütinasyon olup olmadığına bakılır. "Blok edici-blokan antikorlar" olarak da tanımlanan bu tip immüno globülinlerin varlığında, antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon meydana gelmemektedir. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. Bu testin, özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan kronik olguların belirlenmesinde önemi vardır (8).

d) Merkaptotanol/rivanol-TA: Klasik TA testinde saptanan immüno globülinlerin hangi sınıftan olduklarını belirlemek mümkün olmaz. Ancak deney öncesinde, hasta serumu 2-merkaptotanol veya rivanol ile muamele edilir ise, IgM sınıfı antikor moleküllerinin polipeptid zincirleri kırılarak, bu moleküllerin yıkıma uğratılması mümkündür; bu işlemi takiben saptanacak pozitiflik IgG'lere bağlı olarak gelişecektir (8).

e) KB deneyi: Bruselloz tanısında güvenilir bir test olan KB 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'da saptanan çapraz reaksiyonlar KB testi için de geçerlidir. KB testi makro veya mikro yöntem uyarınca, soğukta veya sıcakta gerçekleştirilebilir (12).

f) İndirekt-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 immüno globülinleri saptamak mümkündür (22).

g) Floresan antikor testi (FA): Veterinerlik alanında, fetal membranlarda ve düşük materyelinde antijen aramak için geliştirilmiş olan FA yöntemi, daha sonra spesifik antikorların araştırılmasında I-FA şeklinde kullanılmıştır (8).

h) Deri deneyleri: Kısıtlı kullanım alanı olan bu testler geç pozitifleşmekte ve geçirilmiş olguları kronik brusellozdan ayırt etmek mümkün olmamaktadır (8,18).

Belirtilen bu tanı tekniklerinin akut ve kronik bruselloz olgularındaki sonuçları farklı olmaktadır. Örneğin TA deneyi akut olgularda pozitif sonuç verirken, sadece IgG'lerin belir-

lendiği 2-ME'lü TA negatif sonuç vermekte; zamanla TA titresi azalırken, ME ile saptanan titre artış göstermektedir. Öte yandan, uygulama koşulları nedeniyle, bruselloz tanısında kullanılan KB testinde IgM'ler saptanamaz ve bu test infeksiyonun erken dönemlerinde negatif sonuç verebilir (12).

Yeni tanı tekniklerinden RIA (13,19) ve ELISA (3,5,9,14,17) bruselloz tanısında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. ELISA uygulamalarında, TA için hazırlanmış ölü bakteri süspansiyonu, LPS ekstraktı veya çeşitli protein fraksiyonlarından antijen olarak yararlanılır (3,12,14). Bildirilen çeşitli ELISA çalışmalarında bu yöntemin, akut olguları belirlemede en uygun teknik olduğu saptanmıştır (7). Yeni bir infeksiyonda, spesifik IgM titresi olguların % 99'unda yüksek titrede (>400) belirlenmiştir; kronik olguların tamamında ise IgG antikorları belirlenmektedir (11,23). ELISA tekniği, özellikle kronik bruselloz tanısında TA ve RB testlerinden daha uygun sonuçlar vermektedir. Mezaha işçileri gibi riskli grup mensuplarında, subklinik olguların saptanmasında ELISA ile belirlenecek spesifik IgM araştırması uygundur (3,17). Bazı araştırmacılar, akut olgularda önce IgM, daha sonra IgG artışına bağlı iki pik şeklinde artış gösteren ELISA pozitifliği saptanırken, kronik olgularda tamamı IgG'lerden oluşan antikor yanıtının varlığına değinmişlerdir (10). Aynı yöntem kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada, akut olgularda önce IgM'lerin, sonraki dönemde IgM yanında IgG1,2 ve 3 altgruplarının saptandığı; kronik olgularda ise IgG4 ve IgA'ların çoğunlukta olduğunun belirlendiği gösterilmiştir (2). Nörobrusellozda, BOS'da antikor aramak için de ELISA testi uygun bir yöntemdir. Duyarlı, özgül, süratli ve çok sayıda örneğin bir arada incelenmesine olanak tanıyan bir teknik olmasına karşılık ELISA sonuçlarının değerlendirilmesinde henüz tam bir standardizasyon sağlanamamıştır. Bazı araştırmacı grupları ELISA ile spesifik IgG ve IgM'lerin birlikte incelenmesinin ve elde edilecek sonuçların KB deneyi bulguları ile beraber yorumlanmasının en sağlıklı tanı yöntemi olduğunu ileri sürmektedirler (12).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, ELISA uygulamasında kullanılmak üzere farklı antijenler kıyaslanmıştır; en uygun sonuçların LPS ile elde edildiği belirlenmiştir. Bu incelemede, bruselloz ön tanısı ile laboratuvara gönderilen 152 serum örneğinden, TA pozitif sonuç veren 128'inin 116'sında IgG'ler 87'sinde IgM'ler saptanmış; TA negatif sonuç veren 24 örneğinin ise 14'ünde IgG'ler, dördünde IgM'ler belirlenmiştir (4). Bruselloz tanısındaki önemli bir gelişme, çeşitli vücut sıvılarında ELISA ile direkt antijen aranması ile ilgili olup, farelerde yapılan ön çalışmalarda başarılı sonuçlar bildirilmiştir (16).

Brusellozdan Korunmada Aşı Çalışmaları: Günümüzde, *B. abortus* 19, *B. melitensis* Rev. I., *B. suis*-2 gibi suşlardan hazırlanan canlı attenüe aşılar ve 45/20, H38 gibi ölü bruselloz aşıları kullanılmaktadır (26). Bu aşılar genellikle veterinerlik alanında hayvanlara uygulanmakta olup, insanlar için brusella aşısı konusunda oldukça kısıtlı çalışmalar söz konusudur. Bu amaçla ilk uygulama Sovyetler Birliği'nde 1952 yılında başlamış ve *B. abortus* 19-BA olarak tanımlanan canlı aşı, bazı risk grubu üyeleri için kullanılmıştır. Benzer bir canlı aşı *B. abortus* 104 M suşundan, Çin'de hazırlanıp uygulanmıştır. Her iki aşının uygulaması skarifikasyon esasına göre yapılmakta olup, bir yıl için koruyucu etkisi bildirilmiştir (20). İnsan için, yine Sovyetler Birliği'nde protein-polisakarid kompleksinden oluşan; Fransa'da ise *B. melitensis* M15 suşunun çeşitli ekstraktlarından ölü aşılar hazırlanıp uygulanmıştır. Ancak her iki tip aşının koruyuculuğu kısıtlı ve kullanım alanları oldukça dardır (20).

Kaynaklar

1. Akyol M. Türkiye'de brusellozun epidemiyolojisi, XIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi-Rapor ve Ana Konular, Ankara, 1980.
2. Araj GF. Profiles of brucella-specific immunoglobulin G subclasses in sera of patients with acute and chronic brucellosis, *Serodiagn Immunother Infect Dis* 1988; 2: 401.
3. Araj G.F, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings, *J Hyg Camb* 1986; 97: 417.
4. Balaban C. Bruselloz tanısında çeşitli serolojik yöntemlerin değeri, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1989.
5. Caravano R, Chabaud F, Oberti J. Application of immunoenzymatic techniques for epidemiological surveys on brucellosis among human populations, *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1987; 138: 79.
6. Corbel MJ. Recent advances in the study of Brucella antigens and their serological cross-reactions, *Vet Bul* 1985; 55: 927.
7. De Klerk E, Anderson R. Comparative evaluation of the enzyme linked immunosorbent assay in the laboratory diagnosis of brucellosis, *J Clin Microbiol* 1985; 21: 381.
8. Elberg SS. A guide to the diagnosis, treatment and prevention of human brucellosis, *WHO documents*, VPH/81. 31, Rev 1, 1983.
9. Fernandez-Lago L, Diaz R. Demonstration of antibodies against Brucella melitensis 16M lipopolysaccharide and native hapten in human sera by enzyme linked immunosorbent assay, *J Clin Microbiol* 1986; 24: 76.
10. Gazapo E, Lahoz JG, Subiza JL, Baquero M, Gill J, de la Concha EG. Changes in IgM and IgG antibody concentrations in brucellosis over time: Importance for diagnosis and follow-up, *J Infect Dis* 1989; 159: 219.
11. Gilbert GL, Hawes LA. The antibody response to Brucella: immunoglobulin response measured by enzyme-linked immunosorbent assay and conventional tests, *Aust NZ J Med* 1981; 11: 40.
12. Heizmann N, Botzenhart K, Döller G, Szhanz D, Hermann G, Fleischmann K. Brucellosis, Serological methods compared, *J Hyg Camb* 1985; 95: 639.
13. Hewitt WG, Payne DJH. Estimation of IgG and IgM brucella antibodies in infected and non-infected persons by a radioimmune technique, *J Clin Pathol* 1984; 37: 692.
14. Hunter SB, Bibb WF, Shih CN, Kaufmann AF, Mitchell JR, McKinney RM. Enzyme linked immunosorbent assay with major outer membrane proteins of Brucella melitensis to measure immune response to Brucella species, *J Clin Microbiol* 1986; 24: 566.
15. Kolar J. Control of Brucella melitensis brucellosis in developing countries, *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1987; 138: 122.
16. Limet JN, Berbinschi A, Cloeckaert A, Cambiosa CL, Masson PL. Longitudinal study of brucellosis in mice by immunoassay of lipopolysaccharide-related antigens in blood and urine, *J Med Microbiol* 1988; 26: 37.
17. Magee JT. An enzyme-labelled immunosorbent assay for Brucella abortus antibodies, *J Med Microbiol* 1980; 13: 167.
18. Mikolich DJ, Boyce JM. Brucella species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1990: 1735.
19. Parratt P, Nielsen KH, White RG, Payne DJH. Radioimmunoassay of IgM, IgG, and IgA brucella antibodies, *Lancet* 1977; 1: 1075.
20. Plommet M, Serre A, Fensterbank R. Vaccines, vaccination in brucellosis, *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1987; 138: 117.
21. Raybould TJ. Antigens of diagnostic significance in Brucella abortus, *Can J Microbiol* 1982; 28: 557.
22. Renoux M. A passive hemagglutination test for the detection of Brucella infection, *J Immunol Meth* 1980; 32: 349.
23. Sippel JE, Ayad El-Masry N, Farid Z. Diagnosis of human brucellosis with ELISA, *Lancet* 1982; 2: 19.
24. TC Tarım ve Orman Bakanlığı Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü. Türkiye Brucellosis Mücadele Projesi, Ankara, 1982.
25. TÜBİTAK-TAG. G-526 no'lu güdümlü proje. "Türkiye'de insanda bruselloz insidansının saptanması", 1987.
26. WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis, Sixth report, *Technical Report Series No: 740, World Health Organization*, Geneva, 1986.