T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

BRUSELLOZ HASTALARINDA PLAZMA AMİNOASİT PROFİLİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN HASTALIĞIN SEYRİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Zeynep Selin VURAL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN

Bu tez 12429 protokol no'lu proje olarak Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

ERZURUM-2024

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Adı, Soyadı : Zeynep Selin VURAL	**Sınav tarihi:** 07 / 11 / 2024
Anabilim Dalı : Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	
Tez Danışmanı ve Atanma Tarihi: Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN, 25.08.2022	
Tezin Konusu ve Başlığı : Bruselloz Hastalarında Plazma Aminoasit Profilindeki Değişikliklerin Hastalığın Seyri Üzerine Etkisinin Araştırılması **Belirlenme Tarihi** : 25.08.2022	
Tezin Niteliği : ☒ Tıpta Uzmanlık Tezi ☒ Klinik Çalışmalar ( ) Prospektif ( ) Retrospektif (X) Kesitsel ☐ Laboratuvar Çalışmaları ( ) Invitro (Cansız) Çalışmaları ( ) Hayvan Çalışmaları	
Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: ☒ Yüz yüze katılım sağlanarak ☐ Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)	

II. KARAR

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçenin tezinin, jüri üyelerince "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak;

☒ Kabulüne

1.Tez Sınavı ☐ Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY'nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine)

2.Tez Sınavı ☐ Reddine (TUEY'nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişiğinin kesilmesine)

☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

III. AÇIKLAMALAR

Lütfen, tezin reddi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

IV. JÜRİ ÜYELERİ

	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Zülal ÖZKURT	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ayşe ALBAYRAK	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	

ONAY

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerinden Dr. Zeynep Selin Vural'a ait "Bruselloz Hastalarında Plazma Aminoasit Profilindeki Değişikliklerin Hastalığın Seyri Üzerine Etkisinin Araştırılması" isimli bilimsel tez çalışması, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 01.12.2022 tarihli 9. toplantısında, 14 nolu kararı ve Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu'nun 20.10.2022 tarihli, 13 nolu oturumu, 64 nolu kararı ile onaylanmıştır.

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
TEŞEKKÜR ..... **ix**
ÖZET ..... **x**
ABSTRACT ..... **xii**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Tanım 3
2.2. Tarihçe 3
2.3. Etiyoloji 4
2.4. Epidemiyoloji 5
2.5. Bulaş Yolları 9
2.6. Mikrobiyolojik Özellikler 10
2.6.1. Taksonomi 10
2.6.2. Bakteriyolojik Özellikler 10
2.6.3 Antijenik Özellikleri 12
2.6.4. Genetik Özellikleri 13
2.7. Patogenez 15
2.8. Klinik Bulgular 18
2.9. Relaps 20
2.10. Komplikasyonlar 20
2.10.1. Osteoartiküler Komplikasyonlar 21
2.10.2. Gastrointestinal ve Hepatobiliyer Komplikasyonlar 21
2.10.4. Genitoüriner Komplikasyonlar 22
2.10.5. Kardiyovasküler Komplikasyonlar 22
2.10.6. Pulmoner Sistem Komplikasyonları 22
2.10.7. Nörolojik Komplikasyonlar 23

2.10.8. Hematolojik Komplikasyonlar 23
2.10.7. Oftalmik Komplikasyonlar 23
2.10.9. Kutanöz Komplikasyonlar 24
2.11. Tanı 24
2.11.1. Direkt Tanı Yöntemleri 25
2.11.1.1. Kültür 25
2.11.1.2. Moleküler Tanı Yöntemleri 26
2.11.2. İndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler) 27
2.11.2.1. Rose Bengal 28
2.11.2.2. Spot Test 28
2.11.2.3. Standart Tüp Aglütinasyon Testi (Wright Aglütinasyon Testi) 28
2.11.2.4. 2-Merkaptoetanollü Aglütinasyon Testi 29
2.11.2.5. Coombs Testi 29
2.11.2.6. Kompleman Fiksasyon testi 29
2.11.2.7. Floresan Polarizasyon Testi 30
2.11.2.8. Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi (ELISA) 30
2.11.2.9. *Brucella* Dipstick Testi 30
2.11.2.10. İmmün Yakalama Aglütinasyon (Brucellacapt) Testi 31
2.11.2.11. Yanal Akış Testi (Lateral Flow Assay-LFA) 31
2.11.3. Yardımcı Tanı Yöntemleri 31
2.11.3.1. Radyolojik Görüntüleme 31
2.11.3.2. Histopatoloji 32
2.12. Ayırıcı Tanı 32
2.13. Tedavi 33
2.13.1. Gebelerde Bruselloz Tedavisi 34
2.13.2. Komplikasyonlarda Tedavi 34
2.13.2.1. Spondilit 34
2.13.2.2. Nörobruselloz 35
2.13.2.3. *Brucella* Endokarditi 35
2.14. Korunma 35
2.15. Amino asitler 36
2.15.1. Amino Asitlerin Sınıflandırılması 37
2.15.2. Amino Asitlerin Hastalıklarla İlişkisi 41

3. GEREÇ VE YÖNTEM **42**
3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması 42
3.2. Verilerin Elde Edilmesi 42
3.3. Plazma Örneklerinin Elde Edilmesi 42
3.4. Plazma Örneklerinin Analiz İçin Hazırlanması 43
3.5. İstatistiksel Analiz 44
4. BULGULAR **46**
Ω : Kruskal-Wallis H **58**
ε: ANOVA **58**
p<0,005 anlamlı kabul edilmiştir. **58**
5. TARTIŞMA **64**
6. SONUÇ **74**
KAYNAKLAR **76**
EKLER **84**
EK-1. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU 84

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. *Brucella* türleri ve primer konakçıları.....5
Tablo 2. Ülkelere göre bruselloz insidansı (Yıllık 100.000 Kişi Başına) 6
Tablo 3. Bruselloz vaka ve ölüm sayıları, morbidite ve mortalite hızları, Türkiye, 2008-2017.....8
Tablo 4. *Brucella* genusunun genel karakteristik özellikleri.....11
Tablo 5. *Brucella*'nın virülans faktörleri ile ilişkili genleri ve görevleri 14
Tablo 6. Bruselloz vakalarında görülen bazı semptom ve bulguların görülme sıklığı.....19
Tablo 7. Gradyent dilüsyonu sırasında mobil faz kompozisyon programı 43
Tablo 8. Kütle Şartları 44
Tablo 9. Olguların başvuru mevsimleri, ek hastalık durumları, meslekleri, eğitim durumları, süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıkları ve ikamet yerleri 49
Tablo 10. Olguların demografik, epidemiyolojik verileri ve semptomlarının klinik alt gruplara göre dağılımları ve istatistiksel değerlendirmeleri 51
Tablo 11. Olguların kültür, Wright tüp aglütinasyonu, immünoglobulinler ve MR görüntüleme sonuçlarının klinik alt gruplara göre dağılımları ve istatistiksel değerlendirmeleri.....53
Tablo 12. Hastaların klinik formlara göre laboratuvar değerleri.....55
Tablo 13. Olgular ve kontrol gruplarının plazma serbest aminoasit tayinlerine ait veriler 57
Tablo 14. Akut Bruselloz Tanılı Hastalarda ROC Analizi Sonuçları 59
Tablo 15. Subakut Bruselloz Tanılı Hastalarda ROC Analizi Sonuçları 60
Tablo 16. Kronik Bruselloz Tanılı Hastalarda ROC Analizi Sonuçları 62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bruselloz ile ilgili olayların zaman çizelgesi.....4
Şekil 2. Dünya Geneli yıllık bruselloz insidansı ısı haritası (Risk altındaki 1.000.000 popülasyon tahmin edilerek).....7
Şekil 3. Bruselloz vakalarının yıllara göre dağılımı, Türkiye, 2008-2017.....8
Şekil 4. Türkiye bruselloz insidans haritası, 2017.....9
Şekil 5. *Brucella*'nın lipopolisakkarit (LPS) bileşeninin yapısı.....13
Şekil 6. Brucella'nın hücre içine girişi ve intraselüler olaylar.....17
Şekil 6. Bruselloz patogenezi ve immün yanıttaki majör olaylar.....18
Şekil 7. Bactec kültürü ile elde edilen *B. melitensis* mikrokolonilerinin gram boyaması (ok ile gösterilenler).....26
Şekil 8. Bruselloz tanısında kullanılan kültür metodlarının kronolojisi.....26
Şekil 9. BOS'ta *Brucella* serolojisi pozitif olan 52 yaşında erkek hastanın MR görüntülemesinde memeningoensefalit ve leptomenenjit görünümleri.....32
Şekil 10. (A) L4'te vertebra destrüksiyonuna sebep olan brusellozun MR görüntülemesi (B) BT kemik penceresinde brusellozun sakroiliak eklemi de içine alan vertebra tutulumu.....32
Şekil 11. Hastaların cinsiyete ve yaş gruplarına göre dağılımı.....46
Şekil 12. Olguların eğitim durumları.....47
Şekil 13. Olguların mesleklere göre dağılımı.....48
Şekil 14. Olguların başvuru zamanlarının mevsimlere göre dağılımı.....49
Şekil 15. Olguların klinik alt gruplara göre sık görülen semptomlarının dağılımı.....50
Şekil 16. Akut Grup İçin ROC Eğrisi.....59
Şekil 17. Subakut Grup İçin ROC eğrisi.....61
Şekil 18. Kronik Grup İçin ROC Eğrisi.....62

KISALTMALAR DİZİNİ

2-ME : 2-Merkaptoetanol
AA : Amino asit
ALT : Alanin aminotransferaz
AST : Aspartat aminotransferaz
AUC : Area Under the Curve
BOS : Beyin omurilik sıvısı
BT : Bilgisayaralı tomografi
BvrR/BvrS : Brucella virulence-related regulator or sensor proteins
CRP : C-reaktif protein
DMP : Dış membran proteini
DNA : Deoksirübonükleik asit
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit
ER : Endoplazmik retikulum
ELISA : Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi
ESH : Eritrosit sedimentasyon hızı
GA : Güven aralığı
GABA : Gaba-amino bütirik asit
HIV : İnsan immün yetmezlik virüsü
IFN-y : İnterferon gama
IL-2 : İnterlökin-2
IL-10 : İnterlökin-10
IL-12 : İnterlökin-12
LAMP-1 : Lizozom ile ilişkili membran proteini 1
LDH : Laktat dehirogenaz
LP : Lomber ponksiyon
LPS : Lipopolisakkarit
MALDI-TOF : Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight
Mb : Mega baz
min : Dakika

mL : Mililitre

MLSA : Multilokus sekans analizi

MLST : Multilokus sekans tipleme

MR : Manyetik rezonans

NAATs : Nükleik asit amplifikasyon testleri

NK : Natural Killer

NF-κB : Nüklear faktör kappa B

NO : Nitrik oksit

OR : Odds Ratio

ORF : Open reading frame

PCR : Polymerase chain reaction

PCR-EIA : Polymerase Chain Reaction-enzyme immunoassay

PLT : Platelet

RBT : Rose Bengal testi

RNA : Rübonükleik asit

RT-PCR : Real-time polymerase chain reaction

SAT : Standart tüp aglütinasyon testi

T4SS : Tip 4 sekresyon sistemi

TIR : Toll interlökin reseptör

TLR : Toll like reseptör

TMP-SMX : Trimetoprim/sulfametoksazol

TNF-α : Tümör nekrozis fakör-α

WBC : lökosit

µl : Mikro litre

µm : Mikro metre

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan; hoşgörü, emek ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen başta tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN olmak üzere, Prof. Dr. Zülal ÖZKURT, Prof. Dr. Ayşe ALBAYRAK, Doç. Dr. Fatma KESMEZ CAN ve Doç. Dr. Handan ALAY'a;

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli asistan, hemşire, sekreter ve sağlık personeli arkadaşlarıma,

Hayatımın bu dönemine gelene kadar her zaman yanımda ve destek olan, öncelikle şefkatle dualarını eksik etmeyen sevgili annem Ayla ŞAHİN'e ve kardeşim Metehan ŞAHİN'e,

Varlığıyla motivasyon bulduğum, sevgi ve özverisi ile bana her konuda destek olan sevgili eşim Uzm. Dr. Murat Furkan VURAL'a

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Zeynep Selin VURAL

Erzurum-2024

ÖZET

Bruselloz Hastalarında Plazma Aminoasit Profilindeki Değişikliklerin Hastalığın Seyri Üzerine Etkisinin Araştırılması

Giriş ve Amaç: Bruselloz dünyada en sık görülen zoonotik hastalıklardan biridir. Çok geniş klinik spektrumlarda görülebilmesi sebebi ile birçok hastalıkla ayrıcı tanıya girmektedir. Amino asitler, vücudumuzda birçok metabolik süreçte yer alan ve aynı zamanda proteinlerin yapı taşı olan önemli moleküllerdir. Çeşitli maligniteler, enfeksiyon hastalıkları ve inflamatuar hastalıklarda plazmadaki düzeylerinde farklılıklar tespit edilmiş olup, hastalıkların patogenezinde rol oynayabildikleri bilinmektedir. Bu çalışmada, bruselloz tanılı hastaların plazmalarında bulunan serbest aminoasit profilinde, sağlıklı bireylere kıyasla değişiklik olup olmadığını belirlemek; farklı klinik alt gruplarda bu amino asitlerin tanıda yardımcı parametreler olarak kullanılıp kullanılamayacağı ve hastalık seyrindeki değerlerinin belirlemesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile, hastanemiz poliklinik ve kliniğine başvuran ve çalışma kriterlerine uyan 45 akut, 45 subakut, 45 kronik bruselloz hastası ve 45 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Gönüllülerden EDTA'lı tüpe kan örnekleri alınarak plazmaları ayrıştırıldı ve 43 amino asitin kantitatif tayini yapıldı. Klinik alt gruplar ve kontrol grubu istatistiksel analizlerle kıyaslandı. $p<0,005$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Akut bruselloz hastaları ile subakut ve kronik hastalar arasında; akut, subakut ve kronik hasta grupları ile ayrı ayrı kontrol grubu arasında plazma serbest amino asit düzeylerinde anlamlı farklılıklar olduğu saptandı. Akut, subakut ve kronik hasta gruplarının ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı ROC analizinde tüm gruplar için ortak olarak 3-aminoizobütirik asit ve gama-aminobütirik asitin tanısal değerleri olduğu tespit edildi. Lojistik regresyon analizi ile 3-aminoizobütirik asit yüksekliğinin bruselloz için bir risk faktörü olduğu bulundu.

Sonuç: Bruselloz tanılı hastalarda klinik alt gruplara göre farklı amino asitlerin değerlerinde artma ya da azalma olduğu saptanmıştır. Bu amino asitler ileri çalışmalarla tanıya yardımcı birer parametre ve replasmanları ile tedaviye destek olabilecek ajanlar olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: amino asitler, bruselloz, zoonozlar

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Changes in Plasma Amino Acid Profile on the Course of the Disease in Brucellosis Patients

Background: Brucellosis is one of the most common zoonotic diseases in the world. Since it can be seen in a wide clinical spectrum, it is included in the differential diagnosis with many diseases. Amino acids are important molecules that take part in many metabolic processes in our body and are also the building blocks of proteins. Differences in plasma levels have been detected in various malignancies, infectious diseases and inflammatory diseases, and it is known that they may play a role in the pathogenesis of diseases. In this study, we aimed to determine whether there is a change in the free amino acid profile in the plasma of patients diagnosed with brucellosis compared to healthy individuals; it was aimed to determine whether these amino acids can be used as auxiliary parameters in diagnosis in different clinical subgroups and to determine their impotance in the course of the disease.

Methods: With the approval of Atatürk University Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee, 45 acute, 45 subacute, 45 chronic brucellosis patients and 45 healthy people who applied to our clinic and met the study criteria were included in the study. Blood samples were taken from the volunteers into an EDTA tube, their plasma was separated, and 43 amino acids were quantitatively determined. Clinical subgroups and the control group were compared by statistical analysis. $p<0,005$ was considered significant.

Results: It was determined that there were significant differences in plasma free amino acid levels between acute brucellosis patients and subacute and chronic patients; between the acute, subacute and chronic patient groups and the control group separately. In the ROC analysis, in which acute, subacute and chronic patient groups were compared separately with the control group, it was determined that 3-aminoisobutyric acid and gamma aminobutyric acid had diagnostic values common to all groups. By logistic regression analysis, it was found that high 3-aminoisobutyric acid was a risk factor for brucellosis.

Conclusion: It has been determined that there is an increase or decrease in the values of different amino acids according to clinical subgroups in patients diagnosed with brucellosis. These amino acids can be used as diagnostic parameters with further studies and as agents that can support treatment with their replacements.

Key words: amino acids, brucellosis, zoonoses

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bruselloz, dünya çapında en sık görülen zoonotik hastalıklardan biridir. Yıllık ortalama 500.000 vaka görülmektedir (1, 2). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde endemik olup, yıkıcı ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (3). Türkiye, brusellozun endemik olduğu ülkelerdendir. (4). *Brucella* bakterisi küçük, hareketsiz, sporsuz, aerobik gram negatif bir kokobasildir. İnsanda hastalığa sebep olduğu bilinen dört türü bulunmaktadır. Bunlar *Brucella melitensis, Brucella abortus, Brucella suis* ve *Brucella canis*'tir (1). Bruselloz insanlara, enfekte hayvanların pastörize edilmemiş sütünün ve süt ürünlerinin tüketimi, hayvanların doku ve vücut sıvıları ile teması ya da aerosollerin inhalasyonu yoluyla bulaşabilmektedir (4). Bruselloz, insanlarda çok geniş klinik spektrumlarda görülebilmesi sebebiyle birçok hastalığı taklit edebilmektedir. Bu durum tanısal zorluklara yol açmaktadır (3). Brusellozda en sık semptomlar ateş, halsizlik, gece terlemesi, kas iskelet sistemi ve eklem tutulumu bulguları olarak görülmektedir. Ek olarak kilo kaybı, bel ağrısı, baş ağrısı, baş dönmesi, iştahsızlık, dispepsi, karın ağrısı da görülebilmektedir. Bruselloz çok sayıda organ tutulumu yapabilen multisistemik bir hastalıktır. Sistemlerin fokal tutulumları arasında en sık görülenler osteoartiküler ve genitoüriner tutulumlardır (2). Bruselloz klinik olarak akut (iki aydan kısa süredir var olan semptomlar), subakut (semptomların süresi 2-12 ay) ve kronik (semptomların süresi 12 aydan daha uzun) formlarda görülebilmektedir (5). Tanıda tarama testleri sonrası doğrulama için serolojik ve bakteryolojik yöntemler kullanılır (6). Tedavide Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün önerilerine uygun olarak, intraselüler etkili kombinasyon tedavileri kullanılmaktadır. Bu tedavi seçenekleri ile çoğunlukla başarılı kür sağlanabilmesine rağmen, tedavi başarısızlık oranı %10,4 ve rekürrens oranı ise %16,2'dir. Nadiren ölümcül olmasına rağmen kronik ve kalıcı semptomlar oluşturma eğilimi sebebi ile tedavisi güç olabilmektedir (7). Kronik bruselloz, relaps ve komplikasyonlu olguların yönetiminde zorluklar mevcuttur (5).

Amino asitler, metabolizmanın işleyişini sağlayan protein, hormon, nörotransmitter gibi birçok önemli molekülün sentezi için gereklidir (8). T ve B lenfositleri, naturel killer (NK) hücreleri ve makrofajların aktivasyonunda; gen ekspresyonu ve lenfosit proliferasyonunda; antikorların, sitokinlerin, lenfokinlerin ve

sitotoksik maddelerin üretiminde kullanılarak hastalıklara karşı immün yanıtın oluşmasını sağlarlar. Birçok hastalık grubunda aminoasit seviyelerinde değişimler olduğu bilinmektedir. Plazmada serbest amino asit seviyelerindeki artış ya da azalışlar hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır (9-17).

Bu çalışmada amacımız, bruselloz tanılı hastaların plazmalarında bulunan serbest aminoasit profilinde, sağlıklı bireylere kıyasla değişiklik olup olmadığını belirlemektir. Farklı klinik tablolara sahip olan akut, subakut ve kronik bruselloz hastalarındaki plazma aminoasit düzeyleri değişikliklerinin tanıda yardımcı parametreler olarak kullanılıp kullanılamayacağı ve hastalık seyrindeki değerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

Bruselloz, “Ondülan ateş”, “Akdeniz ateşi” veya “Malta ateşi” olarak da bilinen bir zoonozdur. Sıklıkla enfekte hayvanlarla direkt temas veya bunların ürünleriyle doğrudan veya dolaylı temas ile insanlara bulaşmaktadır. Dünya genelinde hastalığın kontrolünde önemli gelişmeler kaydedilmiş olsa da brusellozun hala önemli bir sağlık sorunu olarak gündemde olduğu bölgeler bulunmaktadır (6). Teşhisinin zor olması, komplikasyonları ve rekürrenslerin görülebilmesi sebebiyle önemli bir sağlık sorunu olarak görülmektedir (18).

2.2. Tarihçe

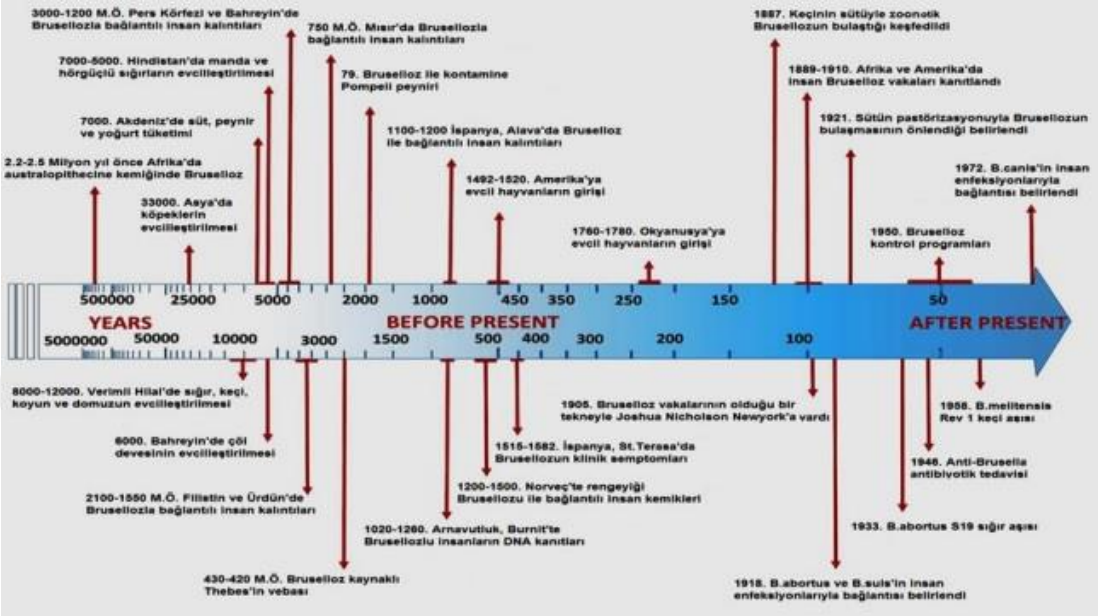
Bruselloza ait ilk kalıntılar, Güney Afrika’da 2.4-2.8 milyon yıl öncesine ait olduğu düşünülen bir hominid vertebra fosilinde bulunmuştur. Lomber dört ve beşinci vertebralarda gözlenen litik lezyonlar incelendiğinde, makroskopik, mikroskobik ve radyolojik görüntünün bruselloz ile uyumlu olduğu fark edilmiştir (19).

Hipokrat, Akdeniz kıyılarında yaşayan insanlarda Bruselloz tipinde sendromlar tanımlamıştır (20).

Pompei’de önemli sayıda insanda hastalığa sebep olduğu bilinen brusellozun; Mısır’ın 10 felaketi olarak bilinen olayların beşincisi olan, çiftlik hayvanlarını öldüren salgında etken olduğu düşünülmektedir (21).

Bruselloz, ilk kez Malta’da 1859 yılında Kırım savaşı esnasında İngiliz Kraliyet Ordusu Tabip Birliği doktoru J.A. Marston tarafından tanımlanmıştır. 1886 yılında ise başka bir İngiliz Kraliyet Ordusu doktoru David Bruce, daha sonra kendi adı ile anılacak olan bakterileri, yine Malta’da bir hastanın dalağından izole etmiştir. Yaklaşık 10 yıl sonra ise, Danimarkalı veteriner olan Bernhard Bang, bir sığıra ait abortus materyali incelemesinde *Brucella abortus*’u tanımlamıştır (1).

1918 yılında *Brucella suis* ve *Brucella abortus*'un insan enfeksiyonları ile ilişkisi keşfedilmiştir. 1946'da ise bruselloza karşı antibiyoterapi geliştirilmiştir. Bruselloz ile ilgili gelişmelerin zaman çizelgesine Şekil 1. de yer verilmiştir (22).



Şekil 1. Bruselloz ile ilgili olayların zaman çizelgesi (22)

Türkiye'deki ilk insan brusellozu olgusu Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından 1915 yılında tanımlanmıştır. 1931-1932 yıllarında sığırlardan, 1944 yılında ise ilk kez koyunlardan izole edilmiştir. Vakaların çoğunun *B. melitensis*, geri kalanların ise *B. abortus* kaynaklı olduğu 1932 yılında belirlenmiştir (23).

2.3. Etiyoloji

Bruselloz, etkeni *Brucella* isimli bakteri olan zoonotik bir enfeksiyondur. Günümüzde tanımlanmış 12 *Brucella* türü bulunmaktadır. İnsanlarda sıklıkla enfeksiyona sebep olan türler *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* ve *B. canis*'tir. İnsanlar için bilinen en virülan tür ise *Brucella melitensis*'tir ve dünya çapında en yaygın olan türdür. Bilinen *Brucella* türleri ve bunların doğal konakçıları Tablo 1.'de toplu olarak belirtilmiştir (24).

Tablo 1. *Brucella* türleri ve primer konakçıları (24)

***Brucella* türü**	**Konakçısı**	**Zoonotik özelliği**	**İlk izolasyon yılı**
B. melitensis	Koyun ve keçi	+++	Bruce (1893)
B. abortus	Sığır	++	Schmidt (1901)
B. suis	Domuz	++	Huddleson (1929)
B. ovis	Koyun	-	Buddle (1956)
B. neotomae	Çöl faresi	+	Stoenner ve Lackman (1957)
B. canis	Köpek	+	Carmichael ve Bruner (1968)
B. ceti (B. delphini)	Yunus	+	Foster ve ark. (2007)
B. pinnipedialis (B. phocae)	Fok	+	Foster ve ark. (2007)
B. microti	Vahşi tarla fareleri	?	Scholz ve ark. (2008)
B. inopinata	İnsan	++	Scholz ve ark. (2008)
B. papionis	Babun	?	Whatmore ve ark. (2014)
B. vulpis	Kırmızı tilki	?	Scholz ve ark. (2016)

B. abortus ise dünya genelinde daha yaygın olmasına karşın, daha az patojeniktir. *B. suis* uzun bir hastalık seyri ile bilinir, süpüratif ve yıkıcı lezyonlarla ilişkilidir. *B. canis, B. abortus*'un kliniği ile çok benzer bir kliniğe sebep olmaktadır (25).

Türkiye'de de etken olarak izole edilen türlerin çoğu *B. melitensis*'tir. Bunu *B. abortus* takip etmektedir. *B. canis* 'in etken olduğu çok az sayıda olgu mevcuttur. Ülkemizde *B.suis* kaynaklı vakaya rastlanmamıştır (26).

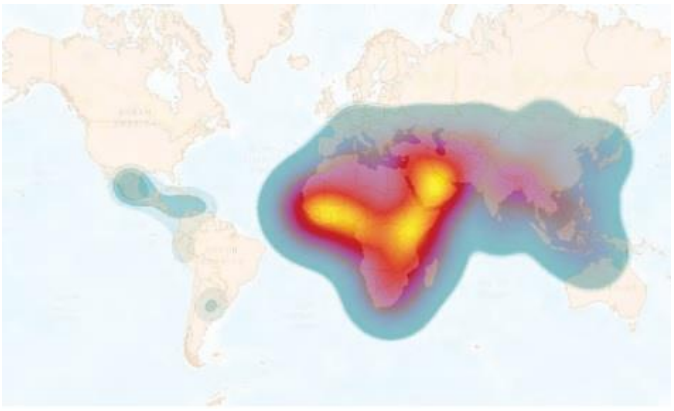
2.4. Epidemiyoloji

Brusellozun 170'ten fazla ülke ve bölgede endemik olduğu bilinmektedir. Dünya çapında her yıl yaklaşık 500.000 vaka bildirilmektedir (1). Dünya'da 2,4 milyar insanın risk altında olduğu bilinmektedir. Bu bölgeler arasında, Akdeniz havzası ülkeleri, Orta Doğu, Orta Asya, Çin, Hindistan, Sahra altı Afrika, Meksika ile Orta ve Güney Amerika'nın bazı bölgeleri yer almaktadır (2). Peru, Kuveyt ve Suudi Arabistan hiper-endemik bölgelerdir. Türkiye endemik ülkeler arasındadır (3). İngiltere, Kuzey

Avrupa ülkelerinin büyük çoğunluğu, Yeni Zelanda, Avustralya ve Kanada'da brusellozun eradike edildiği bilinmektedir (26). Afrika ve Asya'da yüksek riskli popülasyonlarda bruselloz prevelansının %11 olarak tanımlanması ile bu bölgelerde hastalığın aktif varlığından bahsedilmektedir. Avrupa ülkelerinde Bruselloz insidansı genel olarak düşük olmakla birlikte, en çok vakanın görüldüğü ülkeler sırasıyla Yunanistan, İtalya ve İspanya'dır (27). Ülkelere göre bruselloz insidansı Tablo 2'de sunulmuştur (2). Dünya geneli yıllık Bruselloz insidansını gösteren harita Şekil 2'de mevcuttur. Bu haritaya göre, risk altındaki her 1.000.000 kişi başına yıllık vaka sayısı dünya geneli ortalama 500'dür. Sarıdan (≥ 4.000 vaka) maviye (≤ 1 vaka) ilerleyiş, yüksek riskten düşük riske doğru geçişi göstermektedir (28).

Tablo 2. Ülkelere göre bruselloz insidansı (Yıllık 100.000 Kişi Başına) (2)

Ülke	**Veri Kaynağı**	**100.000 Kişi Başına Yıllık İnsidans**
Mısır	Bölgesel veriler	0,28- 70
Gazze	Bölgesel veriler	8
Irak	Bölgesel veriler	52,29 – 268,81
İran	Bölgesel veriler	0,73 – 141,60
Ürdün	Ulusal veriler	25,70 – 130,00
Umman	Bölgesel veriler	11,01
Suudi Arabistan	Ulusal veriler	137,61
Türkiye	Bölgesel veriler	11,93 – 49,54
Çad	Bölgesel veriler	34,86
Almanya	Ulusal veriler	0,03
Yunanistan	Bölgesel veriler	4,00 – 32,49
İtalya	Ulusal veriler	1,40
Kırgızistan	Ulusal veriler	88,00
Arjantin	Bölgesel veriler	12,84
Meksika	Bölgesel veriler	25,69
Amerika Birleşik Devletleri	Bölgesel veriler	0,02 – 0,09



Şekil 2. Dünya Geneli yıllık bruselloz insidansı ısı haritası (Risk altındaki 1.000.000 popülasyon tahmin edilerek) (28)

Bruselloz, tüm yaş gruplarında görülebilmekle beraber, genç popülasyonda daha sıktır; vakaların yaklaşık %60'ı 13-40 yaş arasında, %16'sı ise 40-60 yaş arasında görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketimi daha fazla olabileceğinden, çocuklarda daha sık görülebilmektedir. Hastalık, dünya genelinde erkeklerde daha fazla görülmektedir. Mesleksel maruziyetten kaynaklanabilmesi cinsiyet farklılığının sebebi olarak düşünülmektedir (25).

Türkiye'ye ait seroprevelans çalışmalarında oran %1,3 ila %26,7 arasında değişmektedir (29). Sağlık Bakanlığı'nın 2017 verilerine göre, bruselloz vaka sayısı o yıl için 6457 ve 100.000 kişi başına morbidite oranı 7,99'dur. Bruselloz vakalarının en çok görüldüğü bölgeler ise Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgeleridir (30). Türkiye'de de dünya genelinde olduğu gibi hastalık her yaş ve cinsiyette görülebilmekte olup; cinsiyetler arasında bir fark saptanmamışken, en sık 15-35 yaş aralığında görülmektedir. Hayvan yetiştiriciliği ile uğraşanlar, mezbaha çalışanları, veteriner hekimler ve laboratuvar çalışanları risk altındadır (31). *Brucella*'nın topraktaki yaşam süresinin 70-80 gün; *B. melitensis*'in nem oranına bağlı olarak tozda yaşama süresinin 15-40 gün arası değişebildiği bilinmektedir. Bakterinin dış ortamda uzun süreli yaşamı, özellikle çiftçilik ve hayvancılıkla uğraşan kişilere bulaş için risk faktörü oluşturmaktadır (3). 2008-2017 yılları arasındaki Türkiye Bruselloz vaka sayıları ve morbidite-mortalite hızlarının verileri Tablo 3 ve Şekil 3'te sunulmuştur (32).

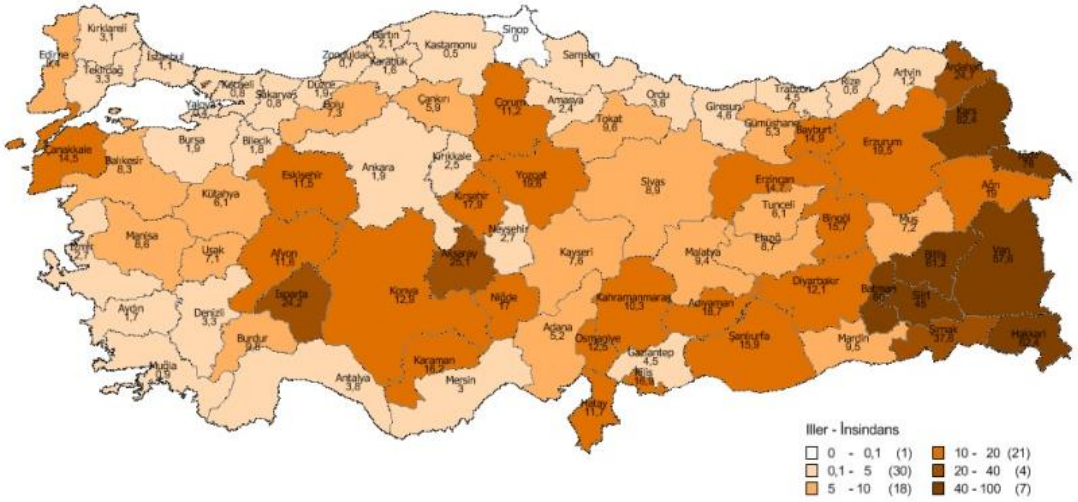
Tablo 3. Bruselloz vaka ve ölüm sayıları, morbidite ve mortalite hızları, Türkiye, 2008-2017 (32)

Yıllar	Nüfus	Vaka Sayısı	Morbidite Hızı (100.000)	Ölüm Sayısı	Mortalite Hızı (1.000.000)
2008	71.517.100	9818	13,73	1	0,01
2009	72.561.312	9385	12,93	0	0,00
2010	73.722.988	7703	10,45	0	0,00
2011	74.724.269	7177	9,60	0	0,00
2012	75.627.384	6759	8,94	0	0,00
2013	76.667.864	7225	9,42	0	0,00
2014	77.695.904	4475	5,76	0	0,00
2015	78.741.053	4173	5,30	0	0,00
2016	79.814.871	5148	6,45	0	0,00
2017	80.810.525	6457	7,99	0	0,00



Şekil 3. Bruselloz vakalarının yıllara göre dağılımı, Türkiye, 2008-2017 (32)

2017 yılı verilerine bakıldığında insidansın en yüksek olduğu illerin sırasıyla Kars, Iğdır, Hakkâri, Bitlis, Batman, Van ve Siirt olduğu görülmektedir. Türkiye'nin illere göre bruselloz insidansı haritası Şekil 4. te görülmektedir (33).



Şekil 4. Türkiye bruselloz insidans haritası, 2017 (33)

2.5. Bulaş Yolları

B. melitensis enfekte hayvanlar ve bunların ürünlerine maruziyet ile bulaşmaktadır. Hayvanların kanı, idrarı, düşük materyali, ölü ve canlı dokuları ile temas edilmesi sonucu da bulaş mümkündür. Hayvanların pastörize edilmemiş sütü ve süt ürünlerinin (krema, tereyağı, taze peynir, dondurma) tüketimi en sık bulaş yoludur. Bakterileri içeren aerosollerin solunması, mukoz membranlara ve bütünlüğü bozulmuş olan cilde hayvanın salgılarının teması, hayvan aşılarına maruziyet ve laboratuvardaki örneklere korunmasız temas diğer bilinen bulaş yollarıdır. Et ürünleri ile bulaş ihmal edilebilecek düzeydedir; çünkü kas dokusundaki mikroorganizma sayısı az ve genelde bu ürünler pişirilerek tüketilmektedir (3).

İnhalasyon ile bulaşabilir olması, laboratuvar çalışanları için risk oluşturmakta; bu sebeple bruselloz şüpheli numuneler konusunda laboratuvar bilgilendirilmelidir. Kültür teknikleri, biyogüvenlik düzeyi 3 kabinlerde çalışılmalıdır (1).

İnsandan insana bulaş çok nadir olmasına karşın, konjenital, cinsel yolla, anne sütüyle, kan transfüzyonu ve doku nakli ile bulaşın olduğu vaka raporları mevcuttur (34, 35).

Veterinerler, kasaplar ve mezbaha çalışanları, hayvancılıkla uğraşanlar ve laboratuvar çalışanları özellikle risk altında olan meslek gruplarıdır (26).

Pişirilerek üretilen sert peynir ve yoğurtta fermentasyon gerçekleştiği için risk düşüktür. Canlı atenüe sığır aşısı olan RB51 süte geçebilmekte ve pastörize edilmemiş sütün tüketimi ile bulaşa sebep olabilmektedir (36).

2.6. Mikrobiyolojik Özellikler

2.6.1. Taksonomi

Proteobacteria şubesinin α2 alt sınıfının üyesi olan *Brucella*, en yakın olarak bitki patojenleri olan *Agrobacterium* ve *Ochrobacter* cinsleri ile akraba iken daha uzaktan ilişkili olduğu patojenler ise *Bartonella* türleridir (37). *Brucella* cinsi bakteriler; Brucellaceae familyasının, Rhizobiales takımının, Alphaproteobacteria sınıfının, Proteobacteria şubesine ait kokobasillerdir. Brucellacea ailesinin *Brucella* cinsi dışındaki üyeleri *Crabtreella, Daeguia, Mycoplana, Ochrobactrum, Paenochrobactrum* ve *Pseudochrobactrum* cinsleridir (38).

2.6.2. Bakteriyolojik Özellikler

Brucella, 0,5 ila 0,7 mikron çapında ve 0,6 ila 1,5 mikron uzunluğunda yavaş büyüyen, hareketsiz kokobasildir. Flagella, spor, ekzotoksin ve plazmid gibi klasik virülans faktörleri bulunmazken; yapısında lipopolisakkarit (LPS), dış membran proteini (DMP), Tip 4 sekresyon sistemi (T4SS), "Brucella virulence-related regulator or sensor proteins" (BvrR/BvrS) sistemi barındırmaktadır (39). Gram boyamada, tek, küçük, gram negatif olarak tanımlanan fakültatif intraselüler, aerobik bakterilerdir. Çoğu suşunun kültür ortamında çoğalması için, ortama serum ya da kan eklemek gerekir. Kültürleme için gereken optimum sıcaklık 35-37 °C; optimal pH ise 6.6–7.4 tür. *B. abortus* ve *B. suis*'in bazı alt grupları için ortama karbondioksit eklenmelidir. *Brucella* türü bakterilerin 0,5 ila 1 mm çapında olan kolonileri konveks düz ve parlak bir yapıya sahiptir (2). Yavaş büyüyen koloniler oldukları için 6 haftaya kadar inkübasyon gerekebilir. Katalaz ve oksidaz pozitiftirler. Düşük ve orta gelirli ülkelerde otomatik kültür sistemleri bulunamadığından, pıhtılaşmış kan kültürü kullanılması, tam kan kültüründen daha iyi sonuç verir ve lizis santrifüjü yapmak verimi artırabilir (40).

Bifazik kültürleme yöntemi olan Ruiz-Castaneda hala kullanılmakta olsa da günümüzde otomatik kan kültürü sistemleri en efektif olan metoddur. Bifazik yöntemle çoğu kültür 7-21 günde pozitifleşmektedir ve en az 4 hafta boyunca subkültürler yapılmalıdır. Yarı otomatik sistemler olan Bactec ve BacTAlert'te inkübasyonun üçüncü gününde *Brucella* saptanabilmektedir. Otomatik kan kültürü sistemleriyle çoğu izolat için bir haftalık sürede sonuç alınabilmekte iken kan dışındaki sıvılar ve diğer dokuların kültürlerinin besi yerinde büyümesi üç haftaya kadar sürebilmektedir (2). Kan kültürü pozitifliği oranı %53-90 arasında değişmektedir (41).

Brucella bakterisi sütte 8°C'de iki gün, dondurulmuş ette üç haftaya kadar, keçi peynirinde ise üç aya kadar yaşayabilir (42). Nemli toprakta 40 günden fazla canlılığını korurken (2); hasta hayvanların sekresyonlarında ve cesetlerinde 120 gün kalabilmektedir. Doğal çevreye çok dayanıklı olmasına rağmen; ışık, ısı, asit ve sık kullanılan dezenfektanlara oldukça duyarlıdır (39). *Brucella*'nın genel karakteristik özellikleri Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4. *Brucella* genusunun genel karakteristik özellikleri (38)

Hücre morfolojisi	kok / kısa rod
Boyut (µm)	0,5-0,7 x 0,6-1,5
Gram boyanma	negatif
Optimum sıcaklık (°C)	37
Optimum pH	6,6-7,4
Flagella	yok
Ubikinon	Q10
Üreaz	pozitif
Katalaz	pozitif
Oksidaz	pozitif
Nitrat redüksiyonu	pozitif
Oksijen ihtiyacı	pozitif
Karbondioksit ihtiyacı	değişken
Şeker kullanımı	pozitif
Amino asit kullanımı	değişken
Gaz üretimi	negatif
Şekerden asit üretimi	negatif

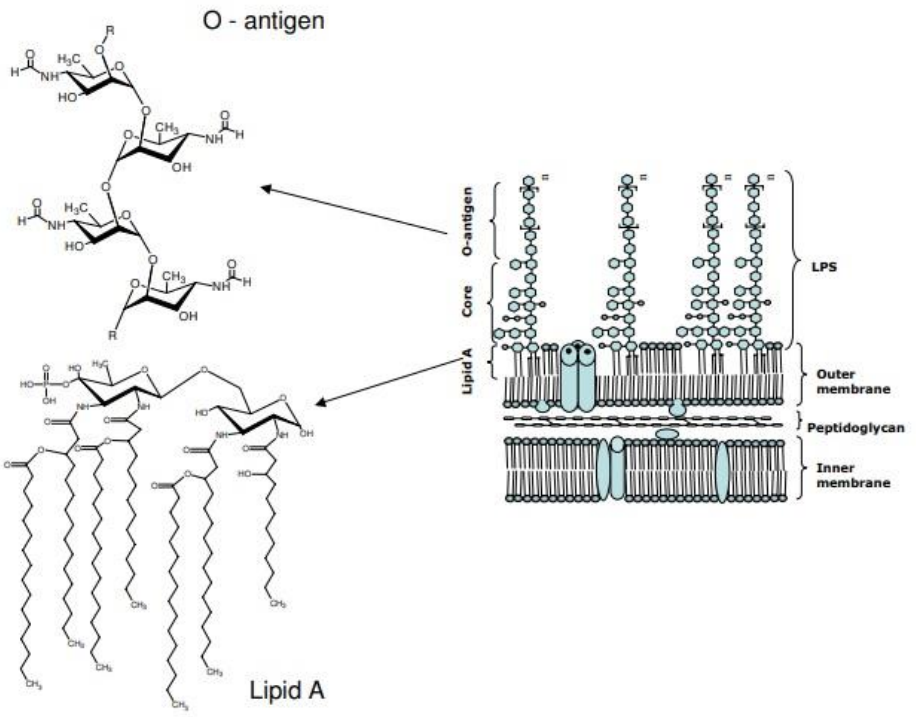
İndol üretimi	negatif
H_2S üretimi	değişken
DNA'sının GC içeriği oranı (% mol)	57,9-59,00

2.6.3 Antijenik Özellikleri

Brucella bakterisinin katmanları dışarıdan içeriye sırasıyla; dış zarda fosfolipid-LPS proteinleri, daha içerde sert peptidoglikan içeren kısım ve en içte sitoplazma membranıdır. Bazı türlerde (sıklıkla *B. abortus*'ta yüzeyde L zarf antijeni bulunur. Bu antijen, antikorlarla aglütinasyon oluşumunu engellemektedir. 100 °C'ye 30 dakika maruziyette işlevini kaybetmektedir (43).

Brucella'nın somatik lipopolisakkarit antijenleri, suşlar arasında "S" ve "R" olarak farklılık göstermektedir. S-LPS antijeni, aglütinasyon, kompleman aktivasyonu ve Rose-Bengal lam aglütinasyonu testinde rol oynayan antijendir. Diğer gram negatif bakterilerden; *Francisella tularensis, Escherichia coli, N grubu Salmonella, Yersinia enterocolitica, Vibrio cholerae* ile çapraz reaksiyon görülmektedir. Bunun sebebi bu bakterilerde de ortak olarak bulunan S-LPS'nin O zincirindeki 4-6 dideoksi-4-amino-D-mannoz bölgesidir. Bunun dışında yapısında yaklaşık yirmi tane protein/ glikoprotein antijen yer almaktadır. Peptidoglikan tabakası ise diğer gram negatif bakterilere benzer şekilde immün yanıtta görev almaktadır (44).

Brucella, Escherichia coli gibi enterobakterilerden elde edilen klasik LPS ile karşılaştırıldığında, özel bir LPS'ye sahiptir. Zayıf endotoksin aktivitesi gösteren *Brucella* LPS antijeni, immün modülatörlerin sentezini engelleyerek doğal immün yanıttan kaçışta, apopitozdan kaçışta, makrofaj içerisine alınmışsa fagozom-lizozom füzyonun engellenmesinde, CD 4+ T hücrelerin prezentasyonun engellenmesinde rol oynamaktadır (43). LPS'nin üç domaini bulunmaktadır. Bunlar lipid A, kor oligosakkarit ve O antijeni veya O yan zinciridir. O yan zincirinin varlığı, düzgün kenarlı fenotipten sorumludur; bu yan zincir yoksa düzensiz (pürüzlü) kenarlı bir yapıya sahip olur. Yukarıda sayılan immüniteden kaçışı sağlayan işlevden, bu düzgün kenarlı yapıdaki LPS'ler sorumludur (45). *Brucella*'nın LPS yapısı Şekil 5'te görülmektedir (46).



Şekil 5. *Brucella*'nın lipopolisakkarit (LPS) bileşeninin yapısı (46)

B. melitensis, *B. abortus* ve *B. suis*, A (abortus) ve M (melitensis) olarak isimlendirilen yüzey antijenlerine sahiptirler. Bu antijenler ısıya dayanıklıdır ve aglütinasyon reaksiyonlarından sorumludurlar. *B. abortus* ve *B. suis*'de A antijeni fazla iken *B. melitensis*'de ise M antijeni fazla miktarda bulunur (47).

2.6.4. Genetik Özellikleri

Tam genom sekansı çıkarılan en az 25 *Brucella* suşu bulunmaktadır. Yapılan analizlerde *Brucella* cinsinin üyelerinin genetik olarak homojen olduğu tespit edilmiştir (40). Bir *Brucella* bakterisinin ortalama genom boyutu 3.3 Mb'dir. 2.1 Mb ve 1.2 Mb boyutlarında iki sirküler kromozomdan oluşur. Deoksirübonükleik asitindeki (DNA) guanozin ve sitozin oranı yaklaşık %57 mol. olup, stabil bir yapı kazandırmaktadır. Genetik yapısında plazmit, horizontal DNA aktarımı ve aktif lizojenik fajlara dair kanıt bulunmamaktadır. Tüm genom dizilimine bakıldığında, *Brucella* cinsi filogenetik olarak iki gruba ayrılmaktadır. *B. melitensis*'in 16M referans genomu ile karşılaştırıldığında %99 oranında benzerlik olanlar "klasik", yaklaşık %97 oranında benzerlik saptananlar ise "klasik olmayan" türler olarak sınıflandırılmıştır.

Klasik olmayan türler, amfibiler ile balıklarda bulunmaktadır ve farklı mikrobiyolojik özelliklere sahiptirler (48).

Brucella inopinata hariç tüm *Brucella* türleri aynı 16S r-Rübonükleik asit (rRNA) ve recA gen dizilerine sahiptir. Bu yakın genetik benzerlik sebebi ile DNA-DNA hibridizasyonu tür ayırt etmede kullanılabilen bir yöntem değildir. Multilokus sekans tipleme (MLST) ve multilokus sekans analizi (MLSA) çalışmaları ile tiplendirmeler yapılabilmektedir. Tüm genom dizilimi ile elde edilen tek nükleotid polimorfizmi analizi ile *Brucella* cinsi hakkında ayrıntılı bilgi sahibi olunabilmektedir (38).

Brucella'nın virülansında etkili olan moleküllerin kodlandığı genler çeşitli araştırmalarla tespit edilebilmiştir. Tablo 5'te bu genler listelenmektedir (49).

Tablo 5. *Brucella*'nın virülans faktörleri ile ilişkili genleri ve görevleri (49)

GEN	**GÖREVİ**
Alkil hidroperoksit redüktaz (*ahp*C & *ahp*D)	Oksijen radikalleri hasarından koruma
Baz eksizyonu tamiri (*xth*A)	*Brucella abortus*'u oksidatif stresten koruma
***Brucella* virülans faktör A (*bvf*A)**	İntraselüler nişin kurulumu
Katalaz (CAT)	Hücreyi oksidatif stresten koruma
Siklin β -1, 2-glukan (CβG)	Konakçı hücre zarındaki lipid yapılarına etki ederek hücreler arası akışa müdahale eder; fagozom-lizozom füzyonunu engeller
Sitokrom oksidaz (*cyd*DCAB)	Düşük oksijen basıncına adaptasyon, serbest oksijen radikallerinin önlenmesi, detoksifikasyon
Lipopolisakkarit (LPS)	Kompleman aktivitesinin inhibe edilmesi, bakterisidal katyonik peptidlere karşı koruma, makrofajlara girişte ve erken hayatta kalmada rol oynama, immün mediyatörlerin sentezini engelleme, konakçı hücre apopitozunu inhibe etme
Nitrik oksit redüktaz (*nor*D)	Çok düşük oksijen basıncında yaşama, nitrik oksit (NO) detoksifikasyonu
Süperoksit dismutaz	"Respiratory burst" ten koruma
Tip IV sekrsyon sistemi (*vir*B)	Virülans faktörlerinin memeli hücrelerine translokasyonu

Üreaz (*ure*)	*Brucella suis* ve *B. abortus* 'u mideden geçerken koruma

2.7. Patogenez

İnsanlar ve hayvanlar için patojenik olan *Brucella* konağa adaptasyon yeteneği çok iyi olan bir bakteridir. Fakültatif intraselüler bakteriler olup, retikülоendotelyal sistem hücreleri içerisinde çoğalırlar. Vücuda inhalasyon, enfekte gıdaların yenmesi, cilt abrazyonları ve mukozalar aracılığıyla giriş yapabilen bakterilerin; özellikle bazı durumlarda hayatta kalabilme şansları artmaktadır. Örneğin antiasitler ve H_2 reseptör blokörleri kullanımı mide asiditesini azaltarak gastrointestinal sistemden girişlerini kolaylaştırmaktadır. Normal serumda kompleman opsonizasyonu ile *Brucella* bakterileri işaretlenmekte ve nötrofiller bunlara karşı etki edebilmektedir; ancak *B. melitensis*'e karşı aktiviteleri sınırlıdır (3).

Brucella'nın ekzotoksin, fimbria, kapsül gibi klasik virülans faktörlerine sahip olmaması; bakterinin immün sistemden kaçışı, hücrelere penetrasyonu, intraselüler işleyişin bozulması, lizozomal öldürmenin engellenmesi ile uzun süreli intraselüler olarak yaşamına devam edebilmesinde etkili, özel mekanizmalarının olduğunu göstermektedir (50).

Brucella bakterisi hem fagositik hem de fagositik olmayan hücreleri enfekte edebilmektedir. Bakteri mukozaya giriş yaptığında, submukozada hazır olarak bekleyen makrofaj ve nötrofiller tarafından fagosite edilirler. Aynı zamanda nötrofiller tarafından opsonizasyonu yapılan bakteriler, komplemanlar ve fagositik hücrelerin Fc reseptörleri tarafından tanınırlar. Opsonizasyondan kaçabilen mikroorganizmalar ise hücre membranlarının lipid raftları aracılığıyla hücrelere giriş yaparlar. Bu hücreye giriş aşamasında Rho, Rat, ve Cdc42 gibi küçük GTPazlar rol oynamaktadır (3).

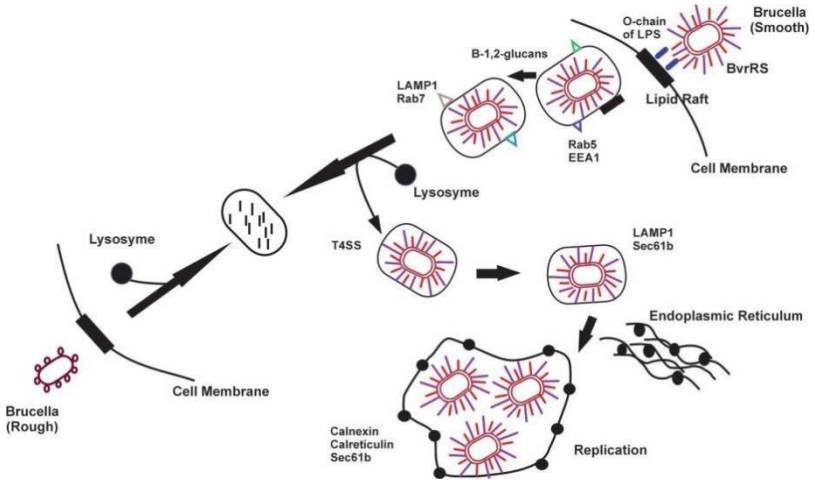
Brucella'nın majör virülans faktörü S-LPS (düz fenotipli yani "O" yan zinciri içeren lipopolisakkarit) yapısıdır. Fagosite edilmesinin engellenmesi, konakçı hücre içine girişin sağlanması, hücre içerisinde fagolizozom oluşumunun engellenmesi ve konakçı hücre apopitozunun engellenmesinden sorumludur (40). Düz fenotipte olmayan yani S-LPS içermeyen bakterilerin ise virülansı daha düşüktür ve konakçı

immün sisteminden kaçışları zordur (50). Düz fenotipte olmayanların hücreye tutunmaları daha fazla olmasına rağmen, hücre içine girişte düz yapıda olanlar kadar başarılı olamamaktadırlar (3).

Hücre invazyonunda etkili olduğu bulunan diğer bir virülans faktörü ise BvrR/BvrS (*Brucella* virulence-related regulator or sensor proteins) sistemidir. Bakteriyel gen ekspresyonunu modüle etmek için protein fosforilasyonu ile hareket eden bu sistem, hücreye tutunma ve penetrasyonda anahtar bir rol oynamaktadır (50). Omp3a (Omp25) ve Omp3b (Omp22) gibi dış membran proteinlerinin ekspresyonunu düzenleyerek bu görevini yerine getirmektedir (40).

Hücre içerisinde *Brucella* bakterisi, çoğalmaya başlamak üzere endoplazmik retikuluma (ER) yönlenir. Tip-1 transmembran glikoproteini olan, lizozom ile ilişkili membran proteini 1 (LAMP-1) üzerinden ER ile bir araya gelerek fagozomdan korunmuş olur ve replikasyona başlar (51).

Brucella genomunda, iki tanesi kromozon I'de, bir tanesi kromozom II'de olmak üzere üç adet rRNA operonu bulunmaktadır. Kromozom II kodunda bulunan ve 12 protein kodladığı bilinen bir açık okuma çerçevesi ("open reading frame" - ORF), T4SS'yi kodlamaktadır (3). VirB olarak da adlandırılan bu sistem *Brucella*'nın patojenitesi için gerekli olan, proteinleri veya diğer makromolekülleri membranlar yoluyla seçici olarak taşıyan bir pompalama sistemidir. *Bordetella pertussis, Bartonella henselae, Helicobacter pylori* ve *Legionella pneumophila* da bu sisteme sahip olduğu bilinen diğer patojenlerdir. Bu patojenlerde, VirB aracılığıyla kan dolaşımına salınmak ya da konakçı hücreye salgılamak amacıyla toksinler taşınmaktadır. *Brucella*'nın ise intraselüler alanda hayatta kalmasını sağlamak için gerekli olup, konakçı hücreye tutunma ve giriş, hücre içi trafiğin düzenlenmesi ve hücre içinde replike olabilmesinden sorumludur (50). Hücre içine giriş ve İntraselüler alanda gelişen olaylar Şekil 6'da görülmektedir (51).



Şekil 6. Brucella'nın hücre içine girişi ve intraselüler olaylar (51)

Konakçı immün yanıtını yönetmede bir diğer etkili mekanizma, Toll interlökin reseptör (TIR) domain proteinleridir. TIR domainleri, konakçı hücre içerisinde yaşayabilmesi için "Toll like reseptör" (TLR) leri modifiye eden proteinleri içermektedir. TLR-2 ve TLR-4 bağımlı nüklear faktör kappa B (NF-κB) yolağını inhibe etmektedir (24). NF-κB hücre apopitozunu, adaptif bağışıklığı, hücre proliferasyonunu ve yaşlanmayı kontrol eden transkripsiyon faktörü olarak bilinmektedir (52).

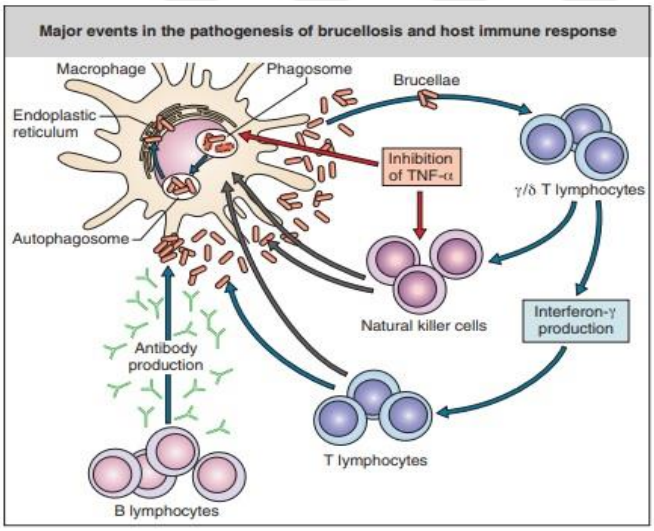
Makrofajlar içerisinde *Brucella*'nın hücre içi büyümesini kontrol etmede interferon gama (IFN-y), tümör nekrozis fakör-α (TNF-α), interlökin-2 (IL-2), interlökin-10 (IL-10) ve interlökin-12 (IL-12) etkilidir. Bruselloz granülomlar oluşturabilen bir enfeksiyondur; bu granülomlar epiteloid hücreleri, polimorfonüklear lökositleri ve lenfositleri içermektedir. Granülomlar daha çok *B. abortus* enfeksiyonu için karakteristik olup, *B. melitensis* enfeksiyonunda çok küçüktürler. *B. suis* enfeksiyonu ise sıklıkla eklemlerde ve dalakta kronik apseler oluşturmaktadır (3).

Bakteri fagosite edildikten sonra bölgesel lenf nodlarında çoğalmaya başlar. Kan yolu ile retiküloendotelyal sistem bölgelerine (dalak, karaciğer, lenf nodları, kemik iliği) yayılır. Santral sinir sistemi, kalp ve eklemlere de ulaşarak enfeksiyona sebep olabilmektedir (40).

Hastalığın başlangıcı itibariyle birkaç gün içerisinde *Brucella*'ya spesifik antikorlar üretilmeye başlar (40). IgM tipi antikorların üretiminden birkaç hafta sonra IgG tipi antikorlar üretilmeye başlar; tedavi sonrası IgG seviyelerinde çok daha hızlı bir azalma olur. Bazı vakalarda aktif enfeksiyon kanıtı olmadan aylar yıllarca kanda saptanabilir düzeyde IgM tipi antikorlar kalabilmektedir (3).

Bruselloz hastalığının patogenezinde hem humoral hem de hücesel immün sistem etkili olmaktadır. Humoral immünite ile mikroorganizmaya karşı direnç oluşturulurken, hücresel immünite ise iyileşmeden sorumludur (40).

Bruselloz patogenezinde etkili olan majör olaylar Şekil 6'da özetlenmiştir (40).



Şekil 6. Bruselloz patogenezi ve immün yanıttaki majör olaylar

2.8. Klinik Bulgular

Brusellozun inkübasyon süresi ortalama 2-4 hafta olup, birkaç aya kadar uzayabilmektedir (1). Genellikle nonspesifik semptomlarla ortaya çıkar. Vakaların çoğu akut başlangıçlı olmakla birlikte; geri kalan vakaların sinsi başlangıçlı olduğu, semptomların haftalar-aylar içerisinde geliştiği görülmektedir. Akut ateşli bir hastalıktan, kalıcı ve ciddi komplikasyonları olan kronik bir forma kadar değişen klinik görünümlerle karşımıza çıkabilmektedir (6).

Hastalık tipik olarak sinsi başlangıçlı ateş, halsizlik, gece terlemeleri ve artraljiler ile kendini gösterir. Ateş paterni değişkendir; aniden ortaya çıkabilir ya da tekrarlayan, uzun süreli ve hafif seyirli de olabilir (2). Ondülan ateş paterni ise genelde tedavisi gecikmiş olgularda ortaya çıkabilen bir durumdur (53). Kilo kaybı, iştahsızlık, karın ağrısı, baş ağrısı, uyuşukluk, bel ağrısı, öksürük ve depresyon görülebilen diğer semptomlardır. Fizik muayene bulguları ise değişken olup spesifik bir bulgusu yoktur; hepatomegali, splenomegali, lenfadenopati görülebilir (2). Brusellozla birlikte epididimo-orşit görülebilir; bu hastalarda eritemli, hassas, şiş bir skrotum bulunur (25). Döküntü, tiroidit, perikardit, pnömoni, optik nörit gibi atipik tablolar da bildirilmiştir (26). Bazı semptom ve bulguların vakalarda görülme oranlarına Tablo 6'da yer verilmiştir (2).

Tablo 6. Bruselloz vakalarında görülen bazı semptom ve bulguların görülme sıklığı (2)

ÖZELLİKLER	**GÖRÜLDÜĞÜ VAKALARIN YÜZDESİ (%)**
SEMPTOM VE BULGULAR	
Ateş	76
Halsizlik	68
Gece Terlemesi	72
Artralji	80
Hepatomegali	50
Splenomegali	29
LABORATUVAR BULGULARI	
Alanin Aminotransferaz (ALT) Yüksekliği	33
Anemi	27
Lökopeni	9
Lökositoz	8
Reaktif Lenfositoz	24
Trombositopeni	12
Pansitopeni	<1

Laboratuvar bulgusu olarak nötropeni, anemi, trombositopeni görülebilmektedir. Hemogram tamamen normal olabilirken, pansitopeni ile başvuran vakalar olabilir. C-Reaktif Protein (CRP), Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESH) ve Laktat Dehidrogenaz (LDH) yükselebilir. Karaciğer enzimlerinde artış görülebilir (25).

Bruselloz klinik olarak subklinik, akut (iki aydan kısa süredir var olan semptomlar), subakut (semptomların süresi 2-12 ay) ve kronik (semptomların süresi 12 aydan daha uzun) formlarda görülebilmektedir (5). Subklinik form sadece kan tetkikleri ile tespit edilebilecek hafif klinik semptomların varlığını ifade etmektedir. Akut formda ateşe eşlik eden baş ağrısı, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı ve artraljiler görülür. Herhangi bir organ tutulumu olabilir ancak sıklıkla artralji mevcuttur. Subakut klinik formdaki hastalar genelde nedeni bilinmeyen ateş olguları olarak görülürler; hastalığa ait daha hafif semptomlara sahiptirler ve lokalize bulgular eşliğinde gelebilirler. Kronik Bruselloz ise kronik yorgunluk sendromuna benzer bir klinik oluşturur. Ateş nadirdir; psikonevroz, kilo kaybı ve terlemeler görülebilir (3).

2.9. Relaps

Relaps genellikle tedavinin tamamlanmasından sonraki altı ay içerisinde görülmekte olup, bu süre 12 aya kadar uzayabilmektedir. Relapsın sebepleri, uygunsuz antibiyotik rejimi kullanımı, tedavi süresinin yetersiz olması, tedaviye uyumsuzluk ya da lokalize bir enfeksiyon odağı olabilmektedir. Herhangi bir faktör olmadan da relaps görülebilmekte olup, antibiyotik direncine bağlı relaps nadirdir (2). Relaps görülme sıklığı %5-15 olmakla beraber bu hastalıklar genellikle hafiftir ve bir önceki tedavi rejimine iyi cevap verirler (54).

2.10. Komplikasyonlar

Bruselloz tüm organ sistemlerini tutabilen bir hastalıktır (55). Bu sistem tutulumları ile çeşitli komplikasyonlar oluşturabilmektedir. Lokalize bruselloz, mikroorganizma kandan izole edilemezken spesifik dokularda lokalize olarak bulunmasıdır. Lokalize enfeksiyon, sistemik enfeksiyonun bir parçası ya da kronik

enfeksiyonun tek bulgusu olabilir. Sistemik enfeksiyonun bir parçası olarak ortaya çıkan lokalize enfeksiyonlar, komplikasyon olarak adlandırılır (3).

2.10.1. Osteoartiküler Komplikasyonlar

Kemik ve eklemlerin tutulumu brusellozun en sık görülen komplikasyonudur. Sıklıkla spondilit, sakroileit, periferik artrit ve osteomiyelit olarak görülürken; bursit ve tenosinovit nadir komplikasyonlardır (39). Osteoartiküler tutulumdan neredeyse her vakada *B.melitensis* sorumludur. Spondilit en ciddi komplikasyonlarından birisidir. Bruselloz hastalarının yaklaşık %2-58'inde görülmektedir. Genelde yaşlılarda ortaya çıkmakta ve en sık lomber vertebraları etkilemektedir (3). Spondilit çevre dokulara yayılarak paravertebral abseye, spinal epidural abseye ve bası oluşması sebebiyle nörolojik semptomlara yol açabilmektedir. Sakroiliak artrit ise genç hastalarda daha sık görülmekte olup, ciddi ağrılara sebep olmaktadır (39). Periferik artrit en sık görülen osteoartiküler tutulumdur; akut enfeksiyonun seyrinde sıklıkla diz, kalça, el ve ayak bileği eklemlerini tutar (55).

2.10.2. Gastrointestinal ve Hepatobiliyer Komplikasyonlar

Gıda kaynaklı brusellozda, tifoda olduğu gibi sistemik semptomlar gastrointestinal semptomların önüne geçmektedir. Yine de bazı hastalarda bulantı, kusma ve abdominal rahatsızlık hissi görülebilmektedir (6). İştahsızlık, ishal, gastrointestinal kanamalar görülebilen diğer belirtilerdir (3). İleit ve kolit ise çok daha nadir olarak görülebilmektedir (6).

Karaciğer enzimlerindeki hafif ve nonspesifik bir artışla birlikte karaciğer ve dalakta büyüme, hastaların yaklaşık %50'sinde görülebilmektedir (3). Karaciğer fonksiyon testleri normal ya da hafif artmış olsa da karaciğer sıklıkla etkilenen organların başında gelmektedir. *B. abortus* karaciğerde sarkoidozdan ayırt edilemeyen epiteloid granülomlar oluşturuken; *B. melitensis* ise viral hepatite benzeyen dağınık küçük inflamasyon odakları oluşturmaktadır. Hepatik apseler ile karaciğer ve diğer organların kronik süpüratif lezyonları *B.suis*'e ait vakalarda tanımlanmıştır (6). Difüz

hepatit ve granülomatöz hepatit gelişebilmektedir. Dalak apseleri de nadir görülebilen bir komplikasyondur (3).

2.10.4. Genitoüriner Komplikasyonlar

Tek taraflı epididimo-orşit en sık görülen genitoüriner tutulumdur. Çoğunlukla akut başlangıçlı tablolara sebep olur. Sistemik semptomlar, genitoüriner semptomlara eşlik eder (3). Prostatit, sistit, vajinit, tubo-ovaryan apse diğer görülebilen komplikasyonlardır. Renal tutulum çok daha nadirdir; akut interstisyel nefrit, piyelonefrit ve kronik granülomatöz intersitisyel nefrit yapabilmektedir (39). Granülomatöz tutulumu renal tüberküloza benzemektedir (6). Bruselloz gebe insanlarda koryoamniyotik dokuyu tutarak, spontan düşükler, prematüre doğum, intrauterin enfeksiyon ve fetal kayıplara yol açabilmektedir (55). İnsanlarda diğer bakteriyel enfeksiyonların oluşturabileceği etkiden daha fazla bir etki oluşturmadığı bilinmektedir. Hayvanlarda daha sık intrauterin komlikasyonlar görülmesinin nedeni, hayvan plasentası tarafından *Brucella*'nın da kullandığı eritritol adlı şekerin üretilmesidir (3).

2.10.5. Kardiyovasküler Komplikasyonlar

İnfektif endokardit en sık görülen kardiyovasküler komplikasyondur ve brusellozun en sık ölüm sebebi olarak bilinmektedir (6). Bruselloz vakalarının %2'den azında görülmektedir (3). Doğal ya da protez kapak tutulabilmekte, sırasıyla en çok aort ve mitral kapaklar etkilenmektedir (6, 39). Ölümcül olabilen tromboemboliler ve kalp yetmezliğine sebep olabilmektedir. Endokardit dışında aortik anevrizma, aritmiler ve koroner iskemilere de neden olduğu bilinmektedir (39).

2.10.6. Pulmoner Sistem Komplikasyonları

Aerosollerin inhalasyonu özellikle enfekte hayvanların kesiminin yapıldığı mezbahalarda görülmektedir (6). Pulmoner tutulum nadir olup; pnömoni, pulmoner nodüller, pulmoner granülom, plörezi, plevral efüzyon, akciğer apsesi, torasik apse, pnömotoraks, lenfadenopatiler ve mediastinal tutulum şeklinde görülebilmektedir.

Aerosollerin solunması dışında bakteriyemi yoluyla yayılım da gelişebilmektedir; çoğu hastada hastalık öncesinde çiğ süt ve süt ürünleri tüketimi öyküsü mevcuttur (39).

2.10.7. Nörolojik Komplikasyonlar

Nörolojik komplikasyonlar hastalığın her aşamasında görülebilmektedir (3). Mikroorganizmanın santral sinir sistemine direkt invazyonu ya da mevcut enfeksiyon sebebiyle oluşan immün yanıt sonucu gelişebilmektedir (39). Menenjit, ensefalit, meningoensefalit, beyin absesi, meningovasküler hastalık, kraniyal sinir tutulumu ve demiyelinizan hastalıklar görülebilmektedir (55). Nörobruselloz menenjit, kronik periferik hastalık ve diffüz santral sinir sistemi hastalığı olmak üzere üç formda gelişebilmektedir. En sık olarak menenjit görülmektedir (39). Akut ya da kronik olarak ortaya çıkabilmektedir; genellikle hastalığın ileri dönemlerinde görülse de hastanın ilk başvuru kliniği de olabilmektedir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) analizinde artmış protein, normal ya da düşük glukoz seviyesi ve lenfositik pleositoz görülür. Nadiren etken BOS'tan izole edilebilir, serum ve BOS örneklerinde serolojik testlerle varlığı gösterilir (6).

2.10.8. Hematolojik Komplikasyonlar

Brusellozda hematolojik anomaliler miyelosupresyon, enfeksiyon sebebiyle demir metabolizmasında bozulmalar, hipersplenizm ve otoimmün hemoliz nedeniyle gelişmektedir. En sık anemi görülmekle beraber; lökopeni, trombositopeni, pansitopeni diğer komplikasyonlardır (39). Miyelodisplastik sendrom ve gamopatilere sebep olduğunu gösteren vakalar da mevcuttur (56, 57).

2.10.7. Oftalmik Komplikasyonlar

Nadir karşılaşılan bir komplikasyondur. Oküler tutulum kronik brusellozda özellikle genç kadınlarda sık görülmektedir (39). Üveit en sık görülen tablodur; kronik iridosiklit, numuler keratit, multifokal koryoidit ve optik nörit görülebilen diğer prezantasyonlardır. İmmün aracılı mekanizmayla gelişmesi sebebi ile, göz lezyonlarından *Brucella* bakterisi izole edilemez (6).

2.10.9. Kutanöz Komplikasyonlar

Bruselloz da cilt tutulumu %5-17 oranında görülmektedir. Bu tutulumlar dört kategoriye ayrılmaktadır: nodüler döküntüler (en sık), disemine papüller, eritema nodozum, generalize makülopapüller ve purpuralar. Deri lezyonlarının patogenezinde hipersenstivite ve immün kompleks depolanması rol oynamaktadır (39). Kutanöz ülserler, apseler ve süpüratif lenfanjit *B.suis* enfeksiyonunda daha sıklıkla görülmektedir (6).

2.11. Tanı

Bruselloz, çok farklı klinik görünümleri ve spesifik olmayan semptom ve bulgularıyla başka hastalıkları taklit edebilmekte, bu nedenle tanı aşamasında güçlüklere neden olmaktadır. Brusellozu düşündürecek semptom ve bulguları olan, endemik bölgede yaşayan ya da endemik bölgelere seyahat etmiş kişilerde *Brucella* enfeksiyonundan şüphelenilmelidir (6).

Brusellozun kesin tanısı;

- Kan, vücut sıvıları veya doku örneği kültüründen bakterinin izolasyonu,
- En az iki hafta ara ile alınan iki serum örneğinde *Brucella* spesifik antikor titresinde en az dört kat artış olması ile koyulabilmektedir.

Brusellozun olası tanısı ise;

- Semptomların başlamasından sonra alınan serum örneğinden çalışılan standart tüp aglütinasyon testi (SAT) sonucunda total *Brucella* antikor titresinin ≥1:160 olması,
- "Polymerase Chain Reaction" (PCR) tetkiki ile hastaya ait numunelerde *Brucella* DNA'sının izole edilmesi ile koyulabilmektedir (2).

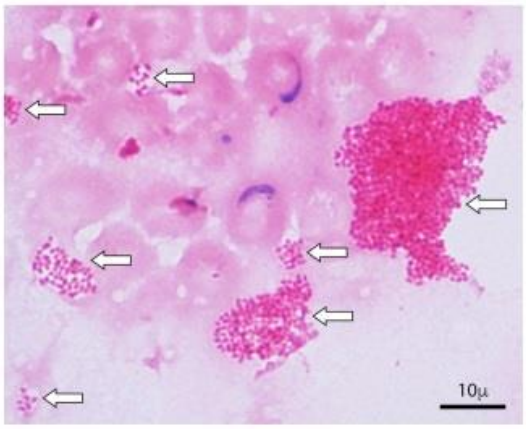
Tanı yöntemleri direkt ve indirekt yöntemler başlıkları altında detayları ile ele alınmıştır.

2.11.1. Direkt Tanı Yöntemleri

2.11.1.1. Kültür

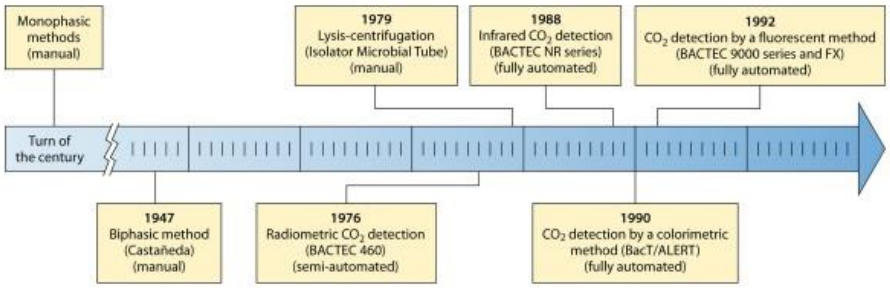
Brusellozun kesin tanısı kan, kemik iliği, beyin omurilik sıvısı, diğer vücut sıvıları ya da doku kültüründe mikroorganizmanın izolasyonu ile koyulmaktadır. Kemik iliğinden yapılan kültürün verimi ve duyarlılığı kan örneğine göre daha yüksektir; kültür, bruselloz tanısında altın standart tanı yöntemidir (2). Ancak günümüzde kullanılan metodlar ile kan örneğinde %80' e yakın oranlarda (duyarlılık %15-70) mikroorganizma izole edilebilmekte olup kemik iliği numunesine pek ihtiyaç duyulmamaktadır. Kültür için tercih edilen yöntemler bifazik katı-sıvı besi yerleri (Ruiz-Castaneda tekniği) ve günümüzde daha çok kullanılan otomatik kan kültürü sistemleridir. Otomatik ve yarı otomatik kültür yöntemlerinden önce 37°C'de ve %5-10 karbondioksit altında altı hafta bekletilmesi gerekirken, yeni sitemlerle (BACTEC ve BactAlert gibi) bir kaç gün içerisinde sonuç alınabilmektedir (6, 40). Kronik hastalıkta kan kültürü sıklıkla negatif sonuçlanmaktadır (2).

Kanlı ya da çikolata agarda 24-72 saatte küçük (0,5-1 mm), non-hemolitik, pigmentsiz ve konveks koloniler oluşturmaktadır. Kültürden elde edilen koloniler üzerinden olası tanımlama gram boyamadaki tipik görünümü, oksidaz, katalaz ve üreaz aktivitesine, kapnofilik olmasına, H_2S üretmesine, hareketsiz olmasına ve şekerleri fermente etmemesine dayanarak yapılmaktadır (58). Bazı otomatik tiplendirme yapan tanısal kitler, *Brucella*'nın yakın ilişkili olduğu *Ochrobactrum* cinsi bakterilere yönelik yanlış pozitif sonuç verebilmektedir. Bazen çelişkili sonuçlar olsa da, "matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight" (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi teknolojisi tür tanımlaması için hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (59, 60). Kültür ile elde edilen Bruselloz kolonilerinin görünümü Şekil 7'de mevcuttur (61).



Şekil 7. Bactec kültürü ile elde edilen *B. melitensis* mikrokolonilerinin gram boyaması (ok ile gösterilenler) (61)

Negatif kültür sonuçları tanıyı ekarte ettirmemekte ve yüksek klinik şüphe olan hastalarda ileri incelemelerin yapılması gerekmektedir. Osteoartiküler bulguları olan hastada sinoviyal sıvı analizi, nörolojik semptomları olanlarda lomber ponksiyon (LP) ile BOS analizi yapılabilir (2). Geçmişten günümüze Bruselloz teşhisinde kullanılan kan kültürü metodları Şekil 8'de görülmektedir (61).



Şekil 8. Bruselloz tanısında kullanılan kültür metodlarının kronolojisi (61)

2.11.1.2. Moleküler Tanı Yöntemleri

Bruselloz tanısı için geliştirilmiş moleküler testler (nükleik asit amplifikasyon testleri (NAATs)) henüz rutin kullanıma girmemiştir. Serolojisi negatif olan vakalarda tanı koymada önemli bir rolü vardır. Ancak aktif ve geçirilmiş enfeksiyon ayrımını yapamamaktadır (2).

Moleküler testlerde kullanılan spesifik hedefler genellikle dış membran proteinlerini kodlayan *omp 2, omp 31, omp 28* genleridir. Diğer genler ise 16S rRNA

geni ve immünojenik membran proteinlerini kodlayan *bcsp31* genidir. Kullanılan amplifikasyon yöntemleri konvansiyonel PCR, in-house PCR, nested PCR, PCR-enzyme immunoassay (PCR-EIA), real-time PCR (RT-PCR), quantitative RT-PCR ve multiplex real-time PCR (M-RT-PCR) dır (58).

Konvansiyonel PCR teknikleri *Brucella* türlerini tanımlamada son derece yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Ancak yanlış pozitif ve negatif sonuçlar da görülebilmektedir. Periferik kan örneği ve diğer doku örneklerinden çalışılabilmektedir. İki saat gibi kısa bir sürede sonuç vererek erken tanıya ulaşılmasını sağlamaktadır (62).

PCR-EIA tekniği, konvansiyonel PCR'a göre bazı avantajlar sağlayan bir yöntem olarak geliştirilmiştir. İşlem süresi daha kısa, aynı anda birden fazla numuneyi çalışabilmekte, sonuçları daha objektif olmakta ve konvansiyonel PCR'da kullanılan bazı toksik maddeleri içermemektedir (61).

RT-PCR insan brusellozu tanısında kullanılan diğer bir yöntemdir. Bu yöntem tanımlama süresini kısaltır ve hastalığın başlangıcını hızlı ve doğru bir şekilde belirleyebilir (62).

Multiplex RT-PCR, çok geniş ve non-spesifik semptom çeşitliliğine sahip olan bruselloz için ayırıcı tanı olasılığı sunan bir yöntemdir. Aynı anda pek çok türe özgü dizinin amplifikasyonunu tek bir reaksiyonla yapabilmektedir. Özellikle bruselloz ile tüberkülozun ekstrapulmoner tutulumlarının hızlı bir şekilde ayrımını yapmakta faydalı olabilmektedir (61).

2.11.2. İndirekt Tanı Yöntemleri (Serolojik Testler)

Serolojik testler ucuz ve daha kolay tekniklere sahip testlerdir. Üst düzey laboratuvar ekipmanlarına ulaşımın olmadığı bölgelerde kolaylıkla kullanılabilecek metodlardır. Direkt yöntemlerle karşılaştırıldığında, *Brucella* bakterisinin varlığına dair direkt kanıt sunamamaktadırlar. Patojene temasın olduğunu gösteren antikorlar aracılığıyla tanımlama yaparlar. Serolojik testlerde kullanılan başlıca antijenler S-LPS ve sitozolik protenlerdir (61).

2.11.2.1. Rose Bengal

İnsanlarda bruselloz için tarama testi olarak en sık kullanılan testlerden biri Rose Bengal testi (RBT) dir. Bu hızlı aglütinasyon testi, başlangıçta veterinerlikte kullanılmak üzere tasarlansa da sonrasında insanlar için de önemli bir tarama testi olmuştur. Testin sensitivite ve spesifitesi sırasıyla %95 ve %100 civarındadır. Test hem aglütine olan hem olmayan antikorları tespit edebilmekte; serum aglütinasyon testlerinde gelişebilen prozon olayı RBT'de görülmemektedir (63).

RBT pH'nın 3,6-3,7'ye tamponlandığı Rose Bengal boyası ile boyanan *B. abortus* suşu süspansiyonun kullanıldığı lam aglütinasyon testidir (64). DSÖ yönergeleri, RBT'nin mutlaka diğer testlerle konfirme edilmesini önermektedir. *Y. enterocolitica* 0:9 ve diğer çapraz reaksiyon veren mikroorganizmalarla enfeksiyon varlığında yanlış pozitif sonuçlar verebilmektedir (6).

2.11.2.2. Spot Test

Lam aglütinasyon testinin, serum yerine tam kan (parmak ucundan bir damla alınan kan örneği) kullanılarak uygulanmasına verilen isimdir. Genellikle kitlesel taramalar için kullanılan hızlı sonuç veren bir testtir (44).

2.11.2.3. Standart Tüp Aglütinasyon Testi (Wright Aglütinasyon Testi)

STA, diğer adıyla serum aglütinasyon ya da Wright aglütinasyon testi, *Brucella* bakterisinin majör antijeni olan S-LPS'lere karşı oluşan antikorları tespit eder. Bu antijenin bulunduğu diğer mikroorganizmalarla çapraz reaksiyon oluşturabilir. Bu test IgG, IgM, IgA ayrımı yapmadan tüm aglütinan antikorları ölçer; ancak IgM tipi antikorlarla daha güçlü bir aglütinasyon oluşturmaktadır. Bu sebeple akut hastalık için daha duyarlıdır (62).

B.canis enfeksiyonunun tanısında kullanılmaya uygun değildir. Wright aglütinasyon testi ikinin katları oranında dilüe edilerek ilerleyen insan serumu ile, ısı-fenol ile öldürülmüş *B. abortus* 119-3 suşunun test tüplerinde karıştırılmasıyla

gerçekleştirilir. Tüpler çalkalanmadan, bir gece inkübasyonda bekletilir ve ertesi gün sonuçlar okunur. Uygun kliniği olan hastalarda, STA titresinin ≥1:160 olarak saptanması pozitif sonuç olarak değerlendirilir. (61).

Hastalığın erken dönemlerinde STA testi negatif olabilir. Düşük dilüsyonlarda aglütinasyonun baskılanması durumu prozon olayı olarak adlandırılmaktadır. Klinik şüphenin varlığında prozon olayı nedeniyle meydana gelmiş olabilecek negatifliği aşabilmek için test yüksek dilüsyonlarda yeniden çalışılmalıdır (62).

2.11.2.4. 2-Merkaptoetanollü Aglütinasyon Testi

2-Merkaptoetanollü (2-ME) aglütinasyon testi tanı almış ve tedavi altında olan hastaların tedaviye yanıtının takibinde kullanılmaktadır. Bu amaçla IgG tipi antikorlar ölçülmek istendiğinden; S-LPS'lerle çapraz reaksiyona giren ve bazı hastalarda tedaviye rağmen uzun süre yüksek titrelerde kalabilen IgM tipi antikorların bloke edilmesi gerekir. Bu amaçla IgM yapısındaki –S–S– bağlarını kimyasal olarak parçalayan 2-ME ortama eklenir. ≤1:20'nin altındaki titreler negatifken, 1:40-1:80 arası titreler aktif bruselloz olarak kabul edilmektedir (61).

2.11.2.5. Coombs Testi

Coombs testi, blokan antikorları engellemekte kullanılmaktadır. Özellikle komplike ve kronik vakalarda önemlidir (62). Standart aglütinasyon uygulandıktan sonra, tüpler santrifüj edilir; üstte kalan materyal ayrılarak yerine salin solüsyonu konur. Tüp çalkalanarak tekrar santrifüj edilir, bu işlem üç kez tekrarlanır. Son olarak anti-insan globülini tavşan serumu tüplere eklenerek karıştırılır ve yarım saat aglütinasyon için bekletilerek sonuç okunur. Wright testi ile 1:80 ve üzeri sonuç alınan numuneler Coombs testine tabi tutularak pozitif sonuç elde edilmeye çalışılır (61).

2.11.2.6. Kompleman Fiksasyon testi

Kompleman fiksasyon testi, hayvanlarda kontrol ve eradikasyon programlarında serolojik konfirmasyon amacıyla kullanılmaktadır (65). Standardize

edilmediği için insanlarda kullanımı pek tercih edilmemektedir. Serum örneğinin 56°C'de 30-60 dakika ısıtılması ile komplemanların inaktive edilmesi prensibine dayanır (61).

2.11.2.7. Floresan Polarizasyon Testi

Antijen ya da antikor tespiti için kullanılan hızlı bir immünoserolojik testtir. Seruma eklenen floresan boya, *Brucella*'ya karşı oluşan antikorlara bağlanarak, uygun dalga boyunda polarize ışık yayar (66). Küçük moleküller hızlı hareket ederken, büyük moleküller daha yavaş hareket ederler ve aradaki fark ölçülerek sonuç elde edilir (61).

2.11.2.8. Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi (ELISA)

ELISA, S-LPS'ye karşı oluşturulan IgG, IgM ve IgA tipi antikorları tespit eden, iyi standardize edilmiş sensitif ve hızlı bir testtir. Yüksek klinik şüphe olup, özellikle diğer testler negatif sonuçlandığında kullanılması önerilmektedir (62). Duyarlılığı yüksek olmasına rağmen özgüllüğü diğer aglütinasyon testlerine göre düşüktür. Nörobruselloz tanısı için BOS materyalinden de çalışılması önerilmektedir (61).

ELISA-IgM ve serum aglütinasyon titreleri arasında iyi bir korelasyon olduğu bilinmektedir (6). STA testi ile ELISA IgG veya IgM'in karşılaştırıldığı farklı çalışmalarda, ELISA'nın duyarlılığının daha yüksek ya da düşük olduğu sonuçlar mevcuttur. ELISA IgG ve IgM birlikte değerlendirildiğinde ise duyarlılık ve özgüllüğünün STA ile benzer olduğu bildirilmektedir (67).

IgG aviditesinin ölçüldüğü ELISA testi ise henüz rutin kullanıma girmemiş olup, aktif ve geçirilmiş enfeksiyonun ayrımında yardımcı olacak bir testtir (61).

2.11.2.9. *Brucella* Dipstick Testi

Akut ve kronik bruselloz hastalarını ayırmada yardımcı bir testtir (68). Dipstick testi IgM tipi antikorları hızlı bir şekilde tespit etmektedir. *B.abortus'*a ait S-LPS

antijeni içeren şerit, insan serumu ile ıslatılarak üç saat bekletildiğinde renk değiştirerek sonuç vermektedir (61).

2.11.2.10. İmmün Yakalama Aglütinasyon (Brucellacapt) Testi

Takipte, hastalığın aktivasyonu için bir indikatör olarak ya da Coombs testine alternatif olarak kullanılabilen, aglütine olan ve olmayan IgG ve IgA tipi antikorları hızlı bir şekilde tek aşamada tespit edebilen bir testtir. Coombs testi ile benzer duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (62). Akut ve kronik hastalığı tespit edebilir. Kullanımı kolay, 24 saatte sonuç veren ve Coombs testi gibi yıkamalar gerektirmeyen pratik bir testtir (69).

2.11.2.11. Yanal Akış Testi (Lateral Flow Assay-LFA)

Parmak ucundan alınan bir damla kan ile uygulanan test özel bir eğitim gerektirmemektedir. Hasta başı kolaylıkla uygulanabilen bir testtir. Duyarlılık ve özgüllüğü %95'ten fazla olan LFA, hastalığın her aşamasında kullanılabilmektedir (50).

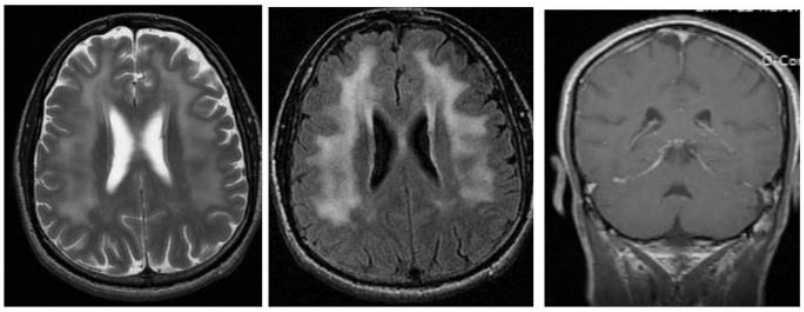
2.11.3. Yardımcı Tanı Yöntemleri

2.11.3.1. Radyolojik Görüntüleme

Bruselloz klinik semptom ve bulguları olan hasalarda radyolojik görüntülemeler faydalı olabilmektedir, ancak kesin tanı yöntemleri olmadıkları hatırlanmalıdır. Spondilit için tercih edilen yöntem manyetik rezonans (MR) olup; direk grafi, bilgisayaralı tomografi (BT), kemik sintigrafisi de bazı durumlarda kullanılabilmektedir. MR'da spondilit bulgusu olarak intervertebral diskte daralma, vertebra anteriosuperiorunda basamak tarzı deformite (Pedro Pons bulgusu), osteoporoz görülebilmektedir (2).

Meningoensefalitte MR ve BT bulgusu olmayabilir; özellikle periventriküler beyaz maddede yüksek sinyalli lezyon olması destekleyici bulgudur. Meninks

tutulumları menenjit ya da ventriküliti düşündürür. Nörobruselloza ve bruselloz spondilitine ait MR görüntüleri Şekil 9 ve 10'da görülmekedir (70).



Şekil 9. BOS'ta *Brucella* serolojisi pozitif olan 52 yaşında erkek hastanın MR görüntülemesinde memeningoensefalit ve leptomenenjit görünümleri (70)



Şekil 10. (A) L4'te vertebra destrüksiyonuna sebep olan brusellozun MR görüntülemesi (B) BT kemik penceresinde brusellozun sakroiliak eklemi de içine alan vertebra tutulumu (70)

2.11.3.2. Histopatoloji

Kemik iliği ve karaciğer biyopsi materyallerinde non-kazeifiye granülomlar görülebilmektedir. *B. melitensis* enfeksiyonunda granülomlar çok küçüktür. *B. suis* enfeksiyonunda kronik apse oluşumuna rastlanabilmektedir (2).

2.12. Ayırıcı Tanı

Bruselloz farklı klinik sunumları ile birçok bakteriyel ve viral hastalık ile ayırıcı tanıya girmektedir. Brusellozdan şüphelenilen hastalarda tüberküloz, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, Epstein Barr Virüs mononükleoz

sendromu, infektif endokardit, leptospiroz, malarya, viseral leishmania, viral ve bakteriyel menenjitler, viral hepatitler, Q ateşi, enterik ateş, akut epididimit, mikoplazma pnömonisi, influenza, maligniteler, mekanik bel ağrıları, spondiloartropatiler, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, septik artrit, reaktif artrit; ve non-kazeifiye granülomlar oluşturması sebebiyle sarkoidoz ve fungal enfeksiyonlar akılda bulundurulmalıdır (2, 25).

2.13. Tedavi

Bruselloz tedavisinde hedef, hastalığı hızla kontrol altına alarak komplikasyon ve relapsları önlemektir (25). İntraselüler etkili antibiyoterapi ile hastanın istirahatinin sağlanması ve ağrı kontrolünün kolaylaştırılması gerekmektedir (31). Birçok ilaç *in-vitro* olarak *Brucella* için etkili bulunsa da klinik olarak etkileri yetersiz bulunmuştur (1). Tedavi gecikmeden başlanmalı ve kombinasyon rejimleri tercih edilmelidir (55). Monoterapi hızlı direnç gelişimi ve relapslar görülebilmesi sebebiyle önerilmemektedir (5).

Komplike olmayan bruselloz uygun tedavi rejimine neredeyse her zaman iyi yanıt vermektedir. Komplike olmayan vakalarda önerilen rejim bir tetrasiklin (doksisiklin tercih edilen ilaçtır, 12 saatte bir 100 mg peroral) altı hafta süreyle ve bir aminoglikozit (streptomisin 1 g/gün dozda 14-21 gün ya da gentamisin 5 mg/kg/gün dozda 7-10 gün) kombinasyonudur (6). Doksisiklin ile monoterapide relaps oranları %40 civarında görülmektedir (25). Önerilen primer alternatif rejim rifampisin (600-900 mg/gün) ve doksisiklin kombinasyonudur. Kinolonlar (siprofloksasin, ofloksasin) ve trimetoprim/sulfametoksazol (TMP-SMX) ise alternatif olarak kullanılması önerilen diğer ajanlardır (6). Doksisiklin-aminoglikozit kombinasyonu, doksisiklin-rifampisin kombinasyonundan daha etkili bulunduğu için öncelikle önerilen rejimdir. Buna rağmen parenteral uygulamanın zorluğu ve advers etkilerden dolayı doksisiklin-rifampisin rejimi tercih edilebilmektedir (2).

Sekiz yaşından büyük çocuklarda önerilen rejimler yetişkinler ile aynıdır. Sekiz yaşından küçük çocuklarda, TMP-SMX ve rifampisin kombinasyonunun altı

hafta süreyle kullanılması önerilmektedir. Alternatif olarak TMP-SMX ya da rifampisin ile bir aminoglikozit kombinasyonu da kullanılabilmektedir (1, 2).

2.13.1. Gebelerde Bruselloz Tedavisi

Gebede bruselloz tedavisi, fetüs için hayat kurtarıcıdır. Gebeler ve emziren annelerde ilaç rejimi seçiminde bazı sorunlar bulunmaktadır. Kullanılan tüm ilaçların çeşitli seviyelerde plasentayı geçebilmesi sebebiyle fetüsün bunlara maruz kalması bazı advers etkilere yol açmaktadır. Tetrasiklinler gebede karaciğer yağ nekrozu ve pankreatit yapabilmektedir. Kinolonlar, rifampisin ve TMP-SMX'in teratojenik potansiyelleri tam olarak bilinmemektedir (6).

Gestasyonel haftası 36'dan küçük gebeliklerde rifampisin ve TMP-SMX kombinasyonu, folat desteği ile, altı hafta süre ile önerilmektedir. 36 hafta ve üstü gebeliklerde rifampisin monoterapisi ya da alternatif olarak rifampisin ve seftriakson kombinasyonu doğuma kadar kullanılmalıdır. Doğumdan sonra tedavi süresi altı hafta olacak şekilde gebe olmayan yetişkinler için önerilen rejim ile tedavi tamamlanmalıdır (2).

2.13.2. Komplikasyonlarda Tedavi

2.13.2.1. Spondilit

Brusellozda osteoartiküler tutulum sık görülmekte olup, periferik artrit ve sakroileit ayrı bir tedavi rejimi gerektirmezken spondilitlere yaklaşım farklıdır (6). Doksisiklin ve rifampisinin 12 hafta süreyle bir aminoglikozit ile kombinasyonu (streptomisin 14-21 gün, gentamisin 7-10 gün) şeklinde üçlü kombinasyon tedavisi önerilmektedir. Hastanın semptomlarına ve radyolojik bulgulara bağlı olarak tedavi süresi 12 haftadan uzun tutulabilir (2).

2.13.2.2. Nörobruselloz

BOS'a yüksek konsantrasyonda geçen antibiyotiklerin kullanılması önemlidir. Tetrasiklinler ve aminoglikozitler BOS'a çok iyi geçememektedir (6). En az 12 haftalık rifampisin ve doksisiklin tedavisine, 4-6 hafta boyunca seftriakson eklenmesi önerilmektedir. Seftriaksona alternatif olarak TMP-SMX kullanılabilir. Bu ajanlar ile hastanın kliniği ve radyolojik bulgulara göre toplam 4-6 aylık bir tedavi gerekmektedir. Rutin olarak kortikosteroid kullanımı önerilmemektedir (2, 31).

2.13.2.3. *Brucella* Endokarditi

Brucella endokarditinde çoğunlukla medikal ve cerrahi tedavi kombinasyonunun gerekebileceği akılda tutulmalıdır (55). Antibiyoterapinin valvüler vejetasyonda yeterli bakterisidal aktiviteye ulaşabilmesi gerekmektedir (6). Bir ay süre ile bir aminoglikozite ek olarak en az 12 hafta boyunca doksisiklin ve rifampisin ile üçlü tedavi önerilmektedir. Aminoglikozitler yerine seftriakson tercih edilebilir. Ekokardiyografi takiplerine göre, özellikle opere edilmemiş hastalarda tedavi süresi daha uzun tutulmalıdır. Gerekli durumlarda altı aya kadar tedavinin sürdürülmesi önerilmektedir (2).

2.14. Korunma

İnsan brusellozundan korunma temel olarak hayvanların aşılanmasına bağlıdır. Hayvan sahipleri bu konuda bilinçlendirilmelidir (55). İnsanlar için bruselloza karşı etkili bir aşı bulunmamaktadır (6).

Hayvanlarla yakın temas içerisindeki riskli çalışanlar koruyucu kıyafetler, eldivenler giymeli, maske ve gözlük takmalı; özellikle postpartum hayvanlarla ve abortus materyalleri ile koruyucu ekipmansız temastan kaçınmalıdırlar (40).

Laboratuvar çalışanları koruyucu ekipmanlar kullanmalı, biyogüvenlik düzeyi-3 olan kabinlerde numuneler çalışılmalıdır. Bruselloz tanılı hastalar için hastanelerde

standart kontrol önlemleri alınması, Operasyonlarda ve obstetrik prosedürlerde standart cerrahi koruyucu ekipmanlar kullanılması yeterlidir (2).

Hayvanlar ve numuneleriyle direkt teması olmayan genel popülasyon için en büyük risk pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketilmesidir. Çiğ, iyi pişmemiş etin tüketilmesinde az miktarda bir risk bulunduğu söylenmektedir. İyi pişmiş, kurutulmuş ya da tütsülenmiş et risk taşımamaktadır. Hasta hayvanın taze sütünden üretilen yumuşak peynir bol miktarda *Brucella* bakterisi içermektedir. pH 3,5'un altına düşen işlemlerde bakteri ölmektedir, bu sebeple fermantasyon işlemi ile elde edilen yoğurt daha az risk taşımaktadır. Kaynatılmamış sütten üretilen dondurma da risk taşımaktadır. İdeal olarak bruselloz riski taşıyan hayvanların tüm sütleri pastörize edilmelidir. Pastörizasyon imkanı olmayan yerlerde süt 80–85 °C'de birkaç dakika bekletilmeli ya da kaynatılmalıdır (6).

Brucella bakterisi semende tespit edilmiş ve tedavi başlandıktan ne kadar süre sonra bulaştırıcılığını kaybettiğine dair net bir bilgi yoktur. Bu sebeple tedavi tamamlanana kadar korunmasız cinsel ilişkiden kaçınılmalıdır (2).

2.15. Amino asitler

Amino asit (AA)'ler amino ve asit grubu içeren organik maddelerdir. Doğada 300'den fazla AA bulunmaktadır. Bunlardan sadece 20 tanesi proteinlerin yapısına katılmaktadır. Protein yapısına katılmayan AA'lar da hücre metabolizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Protein yapısına katılmış halde veya serbest olarak en fazla AA'nın bulunduğu yer insan vücudunda iskelet kaslarıdır (8). Protein yapısına katılmaktan sorumlu bu 20 AA'nın hepsi alfa-AA'lardır ve L-izomerleridir. Esansiyel AA'lar insan ve diğer vertebralıların vücudunda sentezlenemeyen ve diyetle dışarıdan alınması zorunlu olan AA'lardır. Protein yapısına katılan AA'lar; alanin, arjinin, asparajin, aspartik asit, sistein, glutamik asit, glutamin, glisin, histidin, izolösin, lösin, lizin, metionin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, triptofan, tirozin ve valindir. Bunlardan esansiyel olan dokuz tanesi fenilalanin, valin, triptofan, treonin, izolösin, metionin, gistidin, lösin ve lizindir (71).

2.15.1. Amino Asitlerin Sınıflandırılması

Proteinlerin yapısına katılan AA'lar α-AA'lardır. Bunların yapısı α-karbon atomuna bağlı bir bir amino grubu (-NH2), bir karboksil grubu (-COOH), bir hidrojen atomu (H) ve bir yan zincirden (R grubu) oluşmaktadır. Buradaki R grubu farklılaştıkça AA'lar çeşitlilik kazanır. R grubunun özelliklerine göre AA'lar beş gruba ayrılmaktadır (72):

- Nonpolar, alifatik R gruplu aminoasitler
- Nonpolar, aromatik R gruplu aminoasitler
- Polar fakat yüksüz R gruplu aminoasitler
- Negatif yüklü R gruplu aminoasitler
- Pozitif yüklü R gruplu aminoasitler

Esansiyel AA'lar üç harf ile kısaltılmakta olup, tek harfli sembolle gösterilmektedirler.

Nonpolar Alifatik R Gruplu AA'lar:

Glisin (Gly, G); esansiyel olmayan bir AA olup, santral sinir siteminde inhibitör özellikli bir nörotransmitterdir. Ağrının düzenlenmesi, epileptik nöbetlerin engellenmesi, protein ve nükleik asit sentezi, kreatinin sağlayıcısı olarak kas kütlesinin artması, yağların sindiriminde görev almaktadır (73, 74).

Alanin (A, Ala); plazmada yüksek seviyede bulunan ve proteinlerin yapısına çokça katılan esansiyel olmayan bir AA'dır. Triptofan ve pridoksinin metabolizmasında rol oynar. Pirüvatın indirgenmesi reaksiyonu ile üretilmektedir, asit ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde görev alır. Yoğun egzersizlerde kaslara ve santral sinir sistemine gerekli enerjinin sağlanmasında rol oynar (75).

Valin (Val, V); esansiyel bir AA olup genellikle proteinlerin iç kısmında yer alır. Lösin ve izolösinle birlikte dallı zincirli AA'lar olarak adlandırılırlar. Kaslarda gerekli AA'ların sentezine nitrojen sağlayıcısı olarak görev yaparlar. Kognitif

fonksiyonlarda, bağışıklık sisteminde, egzersizlerde kas hücrelerine glikoz girişinin artmasında rol oynar (76).

Lösin (Leu, L); esansiyel dallı zincirli bir AA'dır. Protein sentezi, kan glukozunun düzenlenmesi, kas dokusunun gelişimi, yara iyileşmesi gibi görevleri vardır. Kas proteinlerinin sentezinde etkili olan ve travmalar sonrası kas proteinlerinin yıkımını engelleyen AA'dır (77).

İzolösin (Ile, I); lösinin izomeri olan, esansiyel dallı zincirli bir AA'dır. Kas proteinlerinin sentezini valinden daha güçlü, lösinden daha az uyarmaktadır. Hemoglobinin biyosentezinde, kan şekeri ve enerji regülasyonunda görev alır (78).

Metiyonin (Met, M); protein sentezindeki başlangıç amino asididir. Sülfür verici olarak karnitin, sistein ve taurin sentezinde, fosfatidilkolin ve fosfatidilserin sentezinde, yağ yıkımında, antioksidan mekanizmalarda rol oynamaktadır. Kurşun ve civanın şelasyon ile uzaklaştırılmasını sağlar (79).

Prolin (P / Pro); proteininin yapısındaki kıvrımların oluşmasını sağlar. Stres durumlarında gerekli olup antioksidasyon, osmolalitenin ayarlanması, metal şelasyonunda görev alıp sinyalci molekül olarak da çalışmaktadır (80).

Nonpolar Aromatik R Gruplu AA'lar:

Fenilalanin (Phe, F); birçok protein ve enzimin yapısında bulunan esansiyel bir AA'dır. Tirozine dönüştürülerek; dopamin, adrenalin, noradrenalin, tiroksin ve melaninin yapısına katılır. Eksikliğinde hafıza problemleri, depresif duygu durum, anksiyete ve yorgunluk görülmektedir (81).

Tirozin (Tyr, Y); fenilalaninden dönüştürülerek elde edilir. Nörotransmitterlerin yapısına katılır. Melanin ve tiroksinin sentezlenmesinde de rol oynar (82).

Triptofan (Trp, W); birçok protein ve enzimin yapısında bulunan esansiyel bir AA'dır. Serotonin ve melatoninin yapı taşıdır; niasin sentezinde rol almaktadır.

Anksiyete, depresyon, obsesif kompulsif bozukluk, premenstrüel sendrom ve fibromiyaljinin tedavisinde serotoninin öncülü olarak kullanılmaktadır (83).

Polar, Yüksüz R Gruplu AA'lar:

Serin (Ser, S); sistein ve glisinin öncülüdür. Fosfolipid, pürin, primidin, kreatinin ve porfirinin sentezine katılmaktadır. Bu sebeple rübonükleik asit (RNA) ve deoksirübonükleik asit (DNA)'in işleyişi, kas proteinlerinin sentezi ve immün sistemin düzenlenmesinde rol alır (84, 85).

Treonin (Thr, T); esansiyel bir AA olup, santral sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, immün sistem ve karaciğerin fonksiyonlarında görev alır. Glisin ve serinin sentezinde görev alarak kollajen oluşumunu sağlar. Kemik ve diş minesinin yapısında bulunur. Timusu uyararak immün stimülan olarak görev yapar (86).

Sistein (Cys, C); protein sentezi ve detoksifikasyonda görev alır. Keratinin yapısına katılarak saç, tırnak ve deride bulunur. Kollajen yapımını arttırır. Glutatyonun sentezine katılarak immün sistemde koruyucu bir rol alır. Oksidatif stresten korunmayı sağlar, lökositlerin üretiminde görev alır (86).

Asparajin (Asn, N); aspartatın öncüsü ve glutamin kullanılarak oluşturulan AA'dır. Santral sinir sistemi için gereklidir, nörotransmitterlerin temelinde bulunur. Eksikliğinde nörolojik defisitler görülmektedir (87).

Glutamin (Gln, Q); bir antioksidan olan glutatyonun öncülü olan AA'dır. Yapısındaki amonyak ile nükleik asit sentezine katılabilmektedir. Santral sinir sisteminde, uyarıcı ve inhibe edici nöroransmitterlerin sentezini sağlayarak, düzenleyici görev yapmaktadır. Kan şekeri ve kan pH'sı regülasyonu, lökositler için enerji kaynağı olarak enfeksiyonlara karşı direncin sağlanması gibi görevleri vardır. Vücutta kas dokusunda ve plazmada en yüksek miktarda bulunan AA'dır. Travma ve stres durumlarında kas kaybını önlemektedir. Egzersiz sonrası takviyesinde kas ağrılarını azaltmaktadır (87, 88).

Negatif Yüklü R Gruplu AA'lar:

Aspartat (Asp, D); negatif yüklü bu AA, nükletid sentezi, sitrik asit ve üre döngülerinde yer alır. Antikor oluşumunu uyararak immün sistemde etkili olur. Hafıza için önemlidir. Dayanıklılığı arttırır ve yorgunluğu azaltır. Leyding ve sertoli hücrelerini uyararak testosteron sentezini; adenohipofizden ise büyüme hormonu salgılatıcı hormon, prolaktin salgılatıcı hormon ve gonadotropin salgılatıcı hormon salınımlarını arttırır (89).

Glutamat (Glu, E); kas ve beyin hücrelerinde yüksek miktarda bulunan, enerji üretimi ve protein sentezinde görev alan bir AA'dır. Sinir sistemindeki ana eksitatördür. Hafıza, öğrenme ve bilişsel fonksiyonlarda görev alır (90). Aynı zamanda inhibitör bir nörotranmitter olan gaba-amino bütirik asit (GABA)'i oluşturmaktadır (91). Kronik ağrının oluşmasına glutamat reseptörleri, ağrının algılanmasını arttırarak katkıda bulunmaktadır (92).

Pozitif Yüklü R Gruplu Aminoasitler:

Histidin (His, H); yetişkinler için vücutta üretilebilirken, çocukların dışarıdan alması gerektiği için yarı esansiyel bir AA'dır. Histamin ve süperoksit dismutazın öncüsüdür (86). Antiinflamatuvar, antioksidan ve antisekretuar etkilidir. Kan hücrelerinin üretiminde de görev almaktadır (93).

Arjinin (Arg, R); protein ve enzimlerin aktif bölgelerinde bulunan esansiyel bir AA'dır. Santral sinir sistemi, immün sistem ve kardiyovasküler sistemde önemli rol oynar. Nitrik oksit üretir; bu sayede kan basıncını düşürerek kardiyovasküler koruyucu etki yapar, nöron koruyucu etki yapar (düşük dozlarda), pankreasta beta hücrelerini uyararak insülin salınımını arttırdığı için diyabete karşı korur (94-96). Lenfosit üretimini arttırarak immün sistemde etkili olur (97).

Lizin (Lys, K); kalsiyum emilimini arttırmak, karnitin ve kollajen sentezinde yer almak gibi görevleri mevcuttur. Antimukozit etkisi vardır (98). Arjininin beyinde fazla miktarda nitrik oksit üretimini baskılar (99). Herpes enfeksiyonlarına karşı koruyucudur (100).

2.15.2. Amino Asitlerin Hastalıklarla İlişkisi

AA'ların vücutta gen ekspresyonu, hormonların sentez ve sekreyonu, nütrisyon metabolizması ve oksidatif stres yönetimi, intraselüler protein döngüsünde yer alma, immün sistemin regülasyonu, üreme sistemi, metabolizmanın kontrolü gibi birçok düzenleyici görevi vardır. Bu görevlerde aksaklıklar yaşanması ile çeşitli hastalıklara eğilim artabilmektedir. Bazı AA eksiklikleri gen ekspresyonlarında azalmaya ya da fazlalıkları up ya da down regülasyonun oluşmasına sebep olmaktadır. Bazı hormonların prekürsörleri olan AA'ların fazla ya da az bulunması hormonal dengesizliklere sebep olabilmektedir. Arjininden sentezlenen nitrik oksit hücre sinyalinde önemli bir rol oynarken fazla üretimi sonucunda oksidatif hasar ve apopitoz gelişebilir. Bazı AA'ların insülin sentezini arttırıcı etkisi olup, takviyelerinin kan şekeri regülasyonu etkisi mevcuttur (8). Plazmada serbest amino asit seviyelerindeki artış ya da azalışların hastalıkların patogenezinde rol oynayabildiği bilinmektedir (9-17).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 01.12.2022 tarihli 9. toplantısında, 14 nolu karar ile onay alınmıştır.

Çalışmaya katılan tüm hastalara ve sağlıklı kontrollere çalışmamızın amacı ve yapılacaklar hakkında ön bilgi verildikten sonra çalışmaya katılmayı kabul eden hastalara ve sağlıklı kontrollere bilgilendirilmiş gönüllü onam formu doldurtuldu. Çalışma boyunca Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi kurallarına uyuldu.

3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Power analiz yapılarak gruplara alınacak hasta sayıları belirlendi. Birinci grup, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji kliniği ve polikliniğinde 02.12.2022-02.12.2023 tarihleri arasında takip edilen 45 akut, 45 subakut ve 45 kronik bruselloz tanısı konulan toplam 135 hastadan oluşturuldu. İkinci grup, hastalarla benzer demografik verilere sahip, ek hastalığı olmayan sağlıklı gönüllü 45 bireyden oluşturuldu. 18 yaş altı ve gebe hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. Verilerin Elde Edilmesi

Hastalara ait yaş, cinsiyet, ikamet yeri, meslek, eğitim durumu, mevcut şikayetleri, hastalığa yakalandığı mevsim, peynir tüketim öyküsü gibi demografik verileri kaydedildi. Hastaların tanısı esnasında rutin olarak istenen laboratuvar parametrelerinden CRP, ESR, kan lökosit, lenfosit, nötrofil, monosit ve trombosit düzeyleri, ALT, Aspartat Amino Transferaz (AST), kreatinin, *Brucella* aglütinasyon testleri, kan kültürü sonuçları ve MR görüntüleme sonuçları kayda alındı.

3.3. Plazma Örneklerinin Elde Edilmesi

Bruselloz tanısı konulan hastalardan tedavi başlanmadan önce etilendiamin tetraasetik asit içeren (EDTA) tüplere venöz tam kan alındı. Ardından EDTA'lı tüpler 3500 rpm'de, 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmı (plazma) yeni eppendorf

tüpe aktarıldı. Her eppendorf tüpüne sıra ile numara verildi ve hasta ismi ile bu numaralar kaydedildi. Eppendorf tüpleri çalışmanın yapılacağı güne kadar -80 °C' de saklandı.

3.4. Plazma Örneklerinin Analiz İçin Hazırlanması

Amino asit solvent çözeltisinden 700 µl viale koyuldu. 50 µl plazma ilave edildi. Üzerine 50 µl internal standart ilave edilip vortex edildi (çökelme gözlenenler santrifüj edilip üst faz filtrelenerek devam edildi). Steril bir pipet yardımıyla HPLC vial tüplerine aktarıldı. Analiz için LC-MS/MS (Shimadzu® 8045, Japan) cihazında ki HPLC kısmında bulunan tepsi bölmesine vial tüpler yerleştirildi ve okutuldu. Mobil faz olarak amino asit kiti içerisindeki Mobil Faz-A ve Mobil Faz-B kullanıldı.

Mobil Faz A: Formik Asit / Metanol / 3 mM Amonyum Format Çözeltisi (30:50:920 h/h/h)

Mobil Faz B: % 100 Asetonitril/ 3 mM Amonyum Format Çözeltisi: ~189.2 mg

Amonyum format tartılarak 1000 mL saf suda çözüldü ve karıştırıldı [çözücü: mobil faz A: mobil faz B (200:800 h/h)]. Böylece hazırlanan numunelerde bulunan serbest plazma AA'lar, geliştirdiğimiz LC-MS/MS metodu ile tanımlandı ve bu AA'ların miktar tayinleri gerçekleştirildi (Tablo 7. ve 8.). Böylece hasta ve konrol gruplarının plazma örneklerine ait AA seviyeleri karşılaştırıldı.

Tablo 7. Gradyent dilüsyonu sırasında mobil faz kompozisyon programı

Time (Flow: 0.7 mL/min)	**Change Solvent Composition** (A:Water, B: Acetonitrile)
1.00 min	A: 78.00 % B: 22.00 %
4.00 min	A: 70.00 % B: 30.00 %
5.00 min	A: 70.00 % B: 30.00 %
5.10 min	A: 22.00 % B: 78.00 %
9.00 min	A: 22.00 % B: 78.00 %

Tablo 8. Kütle Şartları

Parameters	Value (+)	Value(-)
Gas Temp (°C)	150.00	150.00
Gas Flow (L/min)	11.00	11.00
Nebulizer (psi)	40.00	40.00
SheathGasHeater	375.00	375.00
SheathGasFlow	11.00	11.00
Capillary (V)	2000.00	0.00
Vcharging	0.00	0.00
Injection Volume (µl)	1.00	
Ion source	AJS ESI	
Ion Mode	Positive	

Yapılan analitik testler: Plazmada 43 AA'nın kantitatif tayini yapıldı: L-tryptophan, taurine, L-phenylalanine, L-tyrosine, L-methionine, gamma amino butyric acid, 3-aminoisobutyric acid, L-norvaline, L-2-aminoadipic acid, beta-alanine, ethanolamine, L-aspartic acid, L-2-aminobutyric acid, L-threonine, L-serine, L-alanine, L-glycine, L-asparagine, trans-4-hydroxy-L-proline, L-glutamine, sarcosine, L-proline, L-homocitrulline , L-citrulline, DL-homocystine, L-cystine, L-cystathionine, L-arginine, L-histidine, L-ornithine, DL-5-hydroxy lysine, L-lysine, L-carnosine, 3-methyl-L-histidine, 1-methyl-L-histidine, L-anserine , L-glutamic acid, L-valine, ortho-phospho-L-serine, ortho-phosphoryl ethanolamine, arginino succinic acid, L-leucine, L-isoleucine.

3.5. İstatistiksel Analiz

Analizler IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ile yapıldı.Veriler ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum, yüzde ve sayı olarak sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılımına Shapiro Wilk testi, Kolmogorov Simirnov testi, Q-Q plot, skewness ve kurtosis ile bakıldı.

İkiden fazla bağımsız grup ile sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında normal dağılım şartı sağlandığı durumda ANOVA testi, sağlanmadığı durumda Kruskal Wallis testi kullanıldı. ANOVA testi sonrası post-hoc testler varyanslar homojen olduğunda Tukey testi ile varyanslar homojen olmadığı durumda Tamhane's T2 testi kullanılarak yapıldı. Kruskal Wallis testi sonrası post-hoc testler için Kruskal Wallis 1-way ANOVA (k samples) testi kullanılarak yapıldı.

Kategorik değişkenler arasındaki 2x2'lik kıyaslamalarda beklenen değer (>5) ise Pearson Ki-kare testi, beklenen değer (3-5) arasında ise ki-kare yates testi ve beklenen değer (<3) ise Fisher's Exact testi kullanılarak yapıldı.

Kategorik değişkenler arasındaki 2x2 den daha büyük kıyaslamalarda ise beklenen değer (>5) olduğu durumda Pearson Ki-kare testi ve beklenen değer (<5) olduğu durumda ise Fisher-Freeman-Halton testi kullanıldı.

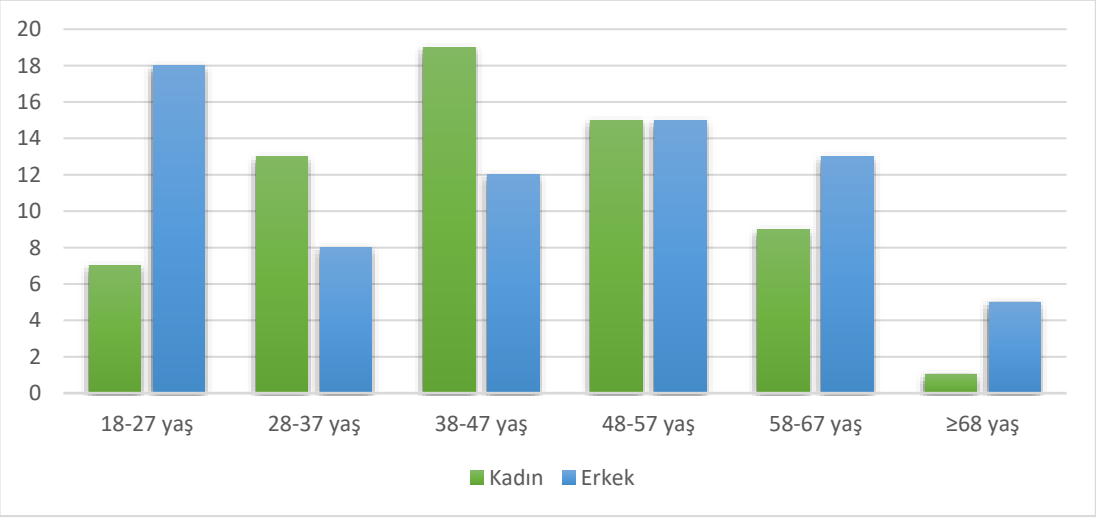
Sürekli değişkenin tanıda kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek için ROC analizi kullanıldı. Çok değişkenli analizde, önceki analizlerde belirlenen olası risk faktörleri kullanılarak gruplar arasındaki tahminci risk faktörleri lojistik regresyon analizi kullanılarak incelendi. Lojistik regresyon modeli sonuçları OR ve OR'nin %95 güven aralıkları ile sonuldu. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Olguların cinsiyet ve yaşları, epidemiyolojik verileri, başvuru sırasındaki şikayetleri, laboratuvar ve radyolojik bulguları, tanıda kullanılan yöntemler ve sonuçları, STA titre seviyeleri değerlendirildi. Hastalar şikayetlerinin süresine göre akut (2 aya kadar), subakut (2-12 ay) ve kronik (12 aydan uzun) olarak üç gruba ayrılarak aradaki farklar istatistiksel yönden değerlendirildi. Aynı zamanda üç grubun ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırması yapılarak aradaki istatistiksel farklar değerlendirildi.

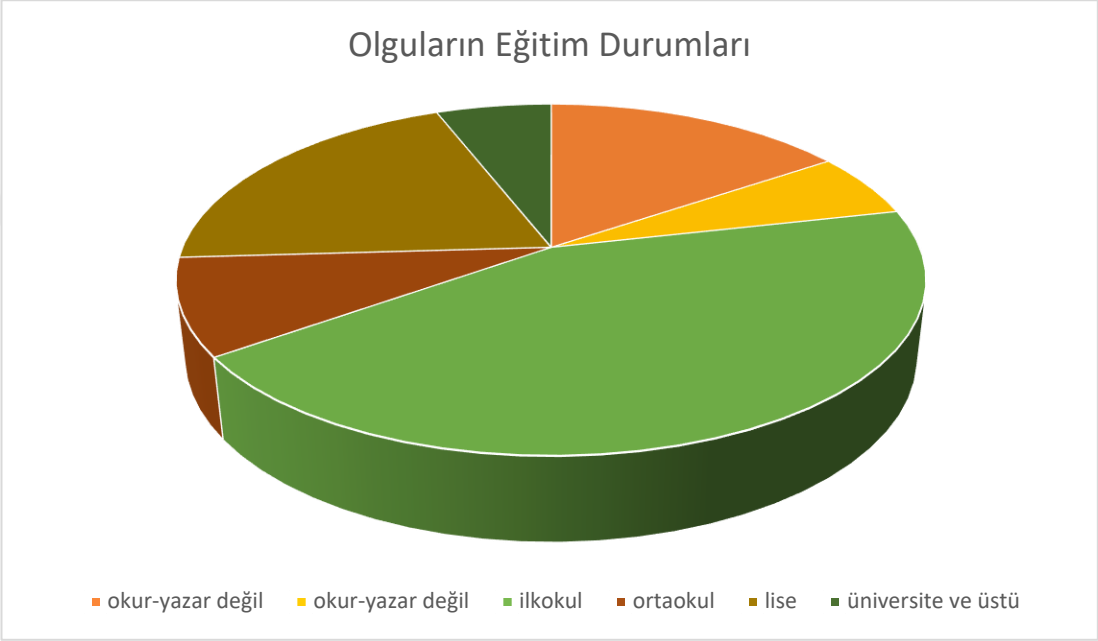
Çalışmaya dahil edilen 135 hastanın 64'ü (%47,40) kadın, 71'i (%52,60) erkekti. Yaş ortalaması 43,71 ± 15,04 (aralık 18-77) olarak bulundu. Kontrol grubu 45 hastanın 24'ü (%53,30) kadın, 21'i (%46,70) erkekti. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 47±16 (aralık 21-75) olarak bulundu. Klinik alt grupların (akut, subakut, kronik) ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (*p=0,217*).

Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı Şekil 11'de sunulmuştur. Hastaların 25'i (%18,52) 18-27, 21'i (%15,56) 28-37, 31'i (%22,96) 38-47, 30'u (%22,22) 48-57, 22'si (%16,30) 58-67 yaş arasında olup 68 yaş ve üzerinde ise 6 (%4,44) hasta vardı. Vakaların %51,9'unu 18-40 yaş arasındaki hastalar oluşturmaktaydı. Hastaların %57,04'ünün 18-47 yaş aralığında olduğu görüldü.



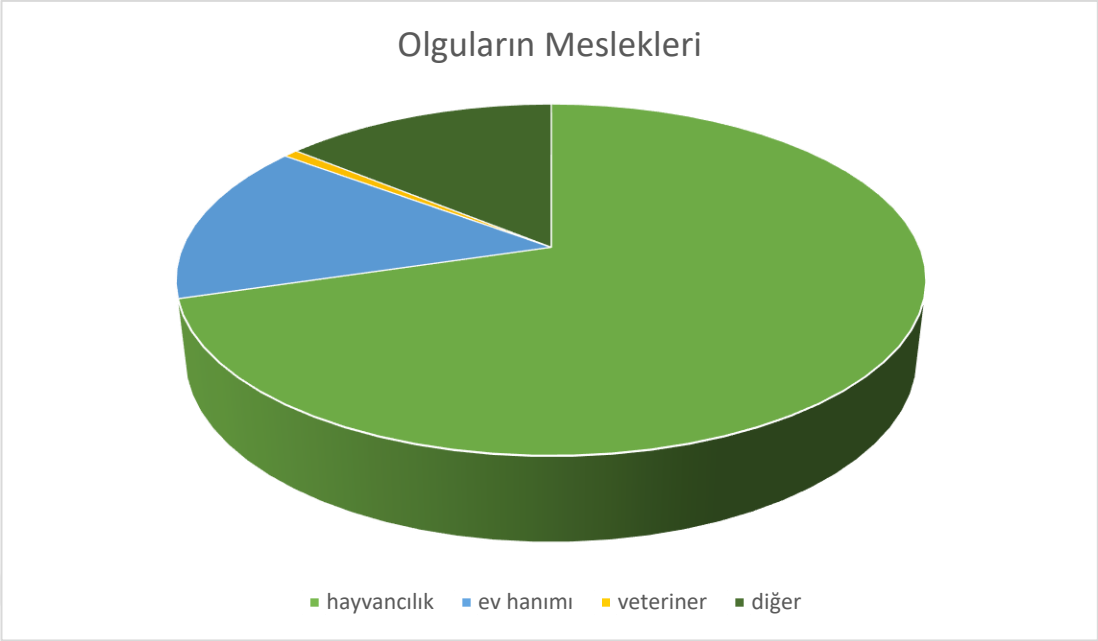
Şekil 11. Hastaların cinsiyete ve yaş gruplarına göre dağılımı

Hastaların eğitim durumlarına bakıldığında, 23'ünün (%15,55) okur-yazar olmadığı, 8'inin (%5,93) okur-yazar olduğu, 59'unun (%43,70) ilkokul mezunu olduğu, 12'sinin (%8,89) ortaokul mezunu olduğu, 27'sinin (%20) lise mezunu olduğu ve 8'inin (%5,93) üniversite ve üstü bir eğitim aldıkları tespit edildi. Hastaların çoğunun ilkokul mezunu ve altı eğitim düzeyinde olduğu görüldü. Eğitim durumlarına göre dağılımı gösteren grafik, Şekil 12 'de sunulmuştur.



Şekil 12. Olguların eğitim durumları

Mesleklere bakıldığında, hayvancılık ile uğraşanların %70,37 (n=95) ile en büyük çoğunluğu oluşturduğu görüldü. Ev hanımı olan 20 (%14,82) kişi ve 1 (%0,74) veteriner hekim bulunmakta iken diğer meslek grupları (garson, inşaat işçisi, imam, aşçı, kuaför, öğrenci) ile uğraşanların sayısı 19 (%14,07) idi. Olguların mesleklere göre dağılımı Şekil 13'te sunulmuştur.

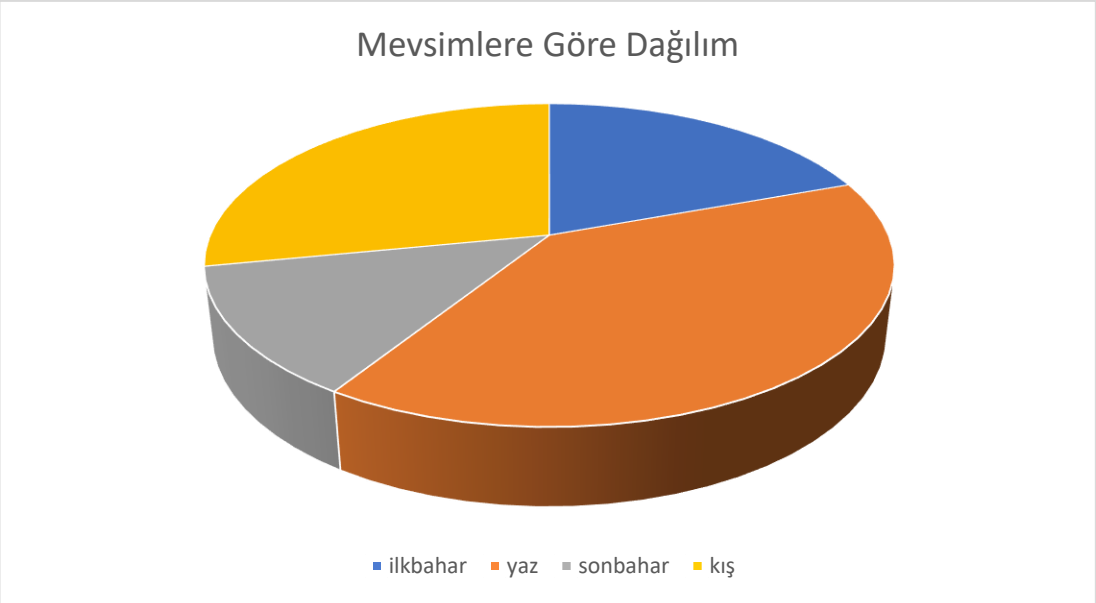


Şekil 13. Olguların mesleklere göre dağılımı

135 hastanın %62,96'sı (n=85) köyde ikamet etmekte idi. Geri kalan 50 kişi (%37,04) şehir merkezinde ikamet ediyordu.

Hastaların çoğunun pastörize olmamış, köyden gelen süt ve süt ürünlerini tüketme öyküsü olduğu görüldü (%95,56, n=129). Sadece 6 kişinin (%4,44) herhangi bir pastörize olmamış süt ve süt ürünü tüketimi yoktu.

Hastalar hastaneye başvuru zamanlarına göre değerlendirildiğinde, %40,74 (n=55) oranı ile çoğunun yaz mevsiminde başvurduğu görüldü. İlkbaharda başvuran 27 (%20), sonbaharda başvuran 18 (%13,33), kış mevsiminde başvuran 35 (%28,93) kişi tespit edildi. Olguların mevsimlere göre dağılımı Şekil 14'te sunulmuştur.



Şekil 14. Olguların başvuru zamanlarının mevsimlere göre dağılımı

Hastaların %23,7 (n=32)'sinde en az bir tane komorbidite durumu mevcuttu. En sık görülen komorbid hastalık diabetes mellitus idi (%5,19 n=7).

Hastaların eğitim durumları, meslekleri, ikamet yerleri, süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıkları, hastaneye başvuru mevsimleri ve komorbiditeleri ile ilgili bilgiler Tablo 9. da sunuldu.

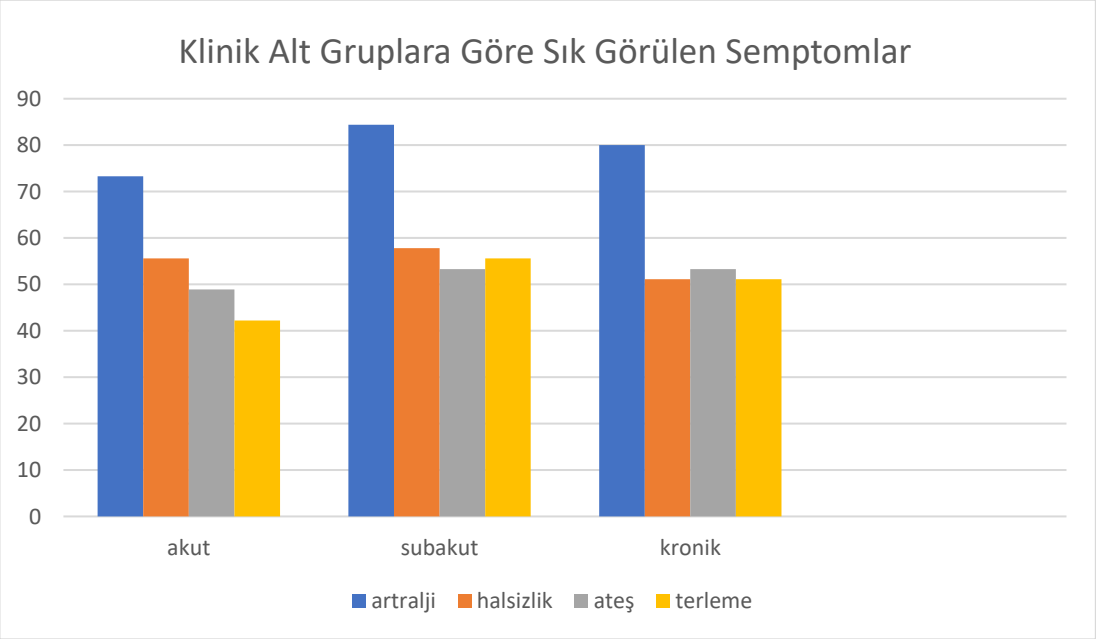
Tablo 9. Olguların başvuru mevsimleri, ek hastalık durumları, meslekleri, eğitim durumları, süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıkları ve ikamet yerleri

Başvuru mevsimi	ilkbahar	27 (%20)
	yaz	55 (%47,7)
	sonbahar	18 (%13,3)
	kış	35 (%25,9)
Ek hastalık	yok	103 (%76,3)
	var	32 (%23,7)
Eğitim durumu	okur-yazar değil	21 (%15,6)
	okur-yazar	8 (%5,9)
	ilkokul	59 (%43,7)
	ortaokul	12 (%8,9)
	lise	27 (%20)
	üniversite ve üstü	8 (%5,9)

Tablo 9. (Devamı)

Meslek	hayvancılık	95 (%70,4)
	veteriner	1 (%0,7)
	ev hanımı	20 (%14,8)
	diğer	19 (%14,1)
Köyden süt ürünleri tüketimi	evet	129 (%95,6)
	hayır	6 (%4,4)
İkamet	köy	85 (%63)
	şehir merkezi	50 (%37)

Olgularda en sık saptanan semptomun artralji (%79,3 n=107) olduğu görüldü. Halsizlik %54,8 (n=74) ve ateş %51,9 (n=70) oranları ile diğer sık görülen semptomlardı. Alt gruplara baktığımızda, akut ve subakut hastalarda sırasıyla en sık görülen semptomların artralji (%73,30 n=33 /%84,40 n=38) ve halsizlik (%55,60 n=25 / %57,80 n=26) olduğu görüldü. Kronik hastalarda ise yine en sık görülen semptom artralji iken (%80 n=36), ikinci sırada %53,30 (n=24) ile ateş yer alıyordu. Semptomların klinik formlara göre istatistiksel olarak karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Olguların sık görülen semptomlarının klinik alt gruplara göre dağılımını gösteren grafik Şekil 15'te sunulmuştur.



Şekil 15. Olguların klinik alt gruplara göre sık görülen semptomlarının dağılımı

Olguların başvuru mevsimleri, komorbiditeleri, ikamet yerleri, süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıkları, eğitim durumları ve mesleklerinin klinik formlara göre istatistiksel olarak karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık saptanmadı *(p*>0,05).

Olguların klinik formlara göre demografik ve epidemiyolojik verilerinin, semptomlarının görülme sıklıklarının karşılaştırılması Tablo 10. da sunulmuştur.

Tablo 10. Olguların demografik, epidemiyolojik verileri ve semptomlarının klinik alt gruplara göre dağılımları ve istatistiksel değerlendirmeleri

		AKUT n (%)	**SUBAKUT n (%)**	**KRONİK n (%)**	***p***
Mevsim	**ilkbahar**	12 (%26,70)	10 (%22,20)	5 (%11,10)	0,3[φ]
	yaz	19 (%42,20)	20 (%44,40)	16 (%35,60)	
	sonbahar	5 (%11,10)	4 (%8,90)	9 (%20,00)	
	kış	9 (%20,00)	11 (%24,40)	15 (%33,30)	
Ek Hastalık Var Mı?	**yok**	35 (%77,80)	34 (%75,60)	34 (%75,60)	0,96[φ]
	var	10 (%22,20)	11 (%24,40)	11 (%24,40)	
Ateş	**yok**	23 (%51,10)	21 (%46,70)	21 (%46,70)	0,888 [φ]
	var	22 (%48,90)	24 (%53,30)	24 (%53,30)	
Terleme	**yok**	26 (%57,80)	20 (%44,40)	22 (%48,90)	0,436 [φ]
	var	19 (%42,20)	25 (%55,60)	23 (%51,10)	
İştahsızlık	**yok**	36 (%80,00)	36 (%80,00)	39 (%86,70)	0,634 [φ]
	var	9 (%20,00)	9 (%20,00)	6 (%13,30)	
Kilo Kaybı	**yok**	27 (%60,00)	30 (%66,70)	29 (%64,40)	0,799 [φ]
	var	18 (%40,00)	15 (%33,30)	16 (%35,60)	
Halsizlik	**yok**	20 (%44,40)	19 (%42,20)	22 (%48,90)	0,811 [φ]
	var	25 (%55,60)	26 (%57,80)	23 (%51,10)	
Artralji	**yok**	12 (%26,70)	7 (%15,60)	9 (%20,00)	0,425 [φ]
	var	33 (%73,30)	38 (%84,40)	36 (%80,00)	
Bel Ağrısı	**yok**	24 (%53,30)	20 (%44,40)	23 (%51,10)	0,68[φ]
	var	21 (%46,70)	25 (%55,60)	22 (%48,90)	
Miyalji	**yok**	42 (%93,3)	35 (%77,80)	38 (%84,40)	0,114 [φ]
	var	3 (%6,70)	10 (%22,20)	7 (%15,60)	
Testis Ağrısı/Şişliği	**yok**	43 (%95,60)	44 (%97,80)	44 (%97,80)	1*
	var	2 (%4,40)	1 (%2,20)	1 (%2,20)	

Tablo 10. (Devamı)

Eğitim Durumu	**okur-yazar değil**	8 (%17,80)	7 (%15,60)	6 (%13,30)	0,681*
	okur-yazar	2 (%4,40)	3 (%6,70)	3 (%6,70)	
	ilkokul	16 (%35,6)	21 (%46,70)	22 (%48,90)	
	ortaokul	4 (%8,90)	3 (%6,70)	5 (%11,10)	
	lise	10 (%22,20)	8 (%17,80)	9 (%20,00)	
	üniversite ve üstü	5 (%11,10)	3 (%6,70)	0 (%0,00)	
Meslek	**hayvancılık**	31 (%68,90)	30 (%66,70)	34 (%75,60)	0,055*
	veteriner	1 (%2,20)	0 (%0,00)	0 (%0,00)	
	ev hanımı	5 (%11,10)	12 (%26,70)	3 (%6,70)	
	diğer	8 (%17,80)	3 (%6,70)	8 (%17,80)	
Köyden Süt Ürünleri Tüketiyor Mu	**evet**	42 (%93,3)	43 (%95,60)	44 (%97,80)	0,871*
	hayır	3 (%6,70)	2 (%4,40)	1 (%2,20)	
Yaşadığı Yer	**köy**	27 (%60,00)	28 (%62,20)	30 (%66,70)	0,801 φ
	şehir merkezi	18 (%40,00)	17 (%37,80)	15 (%33,30)	

φ *Ki-Kare Test*
* *Fisher-Freeman-Haalton Exact Test*
p < 0,005 anlamlı kabul edilmiştir.

Olguların 16 (%11,85)'sında kan kültüründe, 2 (%1,48)'sinde eklem sıvısı örneğinde üreme saptandı. Kan kültürü üremesi olan hastaların 11 (%68,75)'i akut seyirli iken, 5 (%31,25)'i subakut seyirli hastalardı. Eklem sıvısında üreme olan hastaların tamamı akut klinik form ile başvurmuştu. Kültür sonuçları ve klinik alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulundu (p<0,001).

Standart tüp aglütinasyon testleri (Wright tüp aglütinasyonu) sonuçlarına bakıldığında, 135 hastanın 101 (%74,82)'inde sonuç 1/160, 22 (%16,30)'sinde 1/320, 8 (%5,92)'inde 1/640, 4 (%2,96)'ünde ise 1/1280 olarak saptandı. Tüm klinik alt gruplarda en sık elde edilen sonuç 1/160'tı (akutların %55,60 (n=25)'ı, subakutların %77,80 (n=35)'i, kroniklerin %91,10 (n=41)'u). 1/1280 sonucu elde edilen hastaların 2'si akut, 2'si kronik grupta idi. Wright tüp aglütinasyonu sonuçları ve klinik alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptandı (p<0,001).

ELISA *Brucella* immünoglobulin sonuçları değerlendirildiğinde, 36 (%26,67) olguda IgM ve IgG sonuçları negatif, 23 (%17,04) olguda yalnızca IgM pozitif, 57 (%42,22) olguda yalnızca IgG pozitif, 19 (%14,07) olguda ise hem IgM hem IgG pozitif saptandı. Hem IgM hem IgG pozitif olan olguların 9'u akut, 6'sı subakut, 4'ü kronik seyirli hastalardı. İmmünoglobulin sonuçları ile klinik alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05).

Olguların MR görüntülemeleri değerlendirildiğinde, 6 (%4,44)'sında spondilodiskit, 5 (%3,70)'inde sakroileit olduğu görüldü.

Olguların kültür, Wright tüp aglütinasyonu, immünoglobulinler ve MR görüntüleme sonuçlarının klinik alt gruplara göre dağılımları ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 11. de sunulmuştur.

Tablo 11. Olguların kültür, Wright tüp aglütinasyonu, immünoglobulinler ve MR görüntüleme sonuçlarının klinik alt gruplara göre dağılımları ve istatistiksel değerlendirmeleri

		AKUT n (%)	**SUBAKUT n (%)**	**KRONİK n (%)**	***p***
Wright Sonucu	**1/160**	25 (%55,60)	35 (%77,80)	41 (%91,10)	<0,001 φ
	1/320	15 (%33,30)	5 (%11,10)	2 (%4,40)	
	1/640	3 (%6,70)	5 (%11,10)	0 (%0,00)	
	1/1280	2 (%4,40)	0 (%0,00)	2 (%4,40)	
İmmünoglobulin	**Negatif**	16 (%35,60)	10 (%22,20)	10 (%22,20)	0,329*
	IgM pozitif	5 (%11,10)	8 (%17,80)	10 (%22,20)	
	IgG pozitif	15 (%33,30)	21 (%46,70)	21 (%46,70)	
	IgM ve IgG pozitif	9 (%20,00)	6 (%13,30)	4 (%8,90)	
Kültür Sonuçları	**üreme yok**	32 (%71,10)	40 (%88,90)	45 (%100,00)	<0,001 φ
	kan kültüründe üredi	11 (%24,40)	5 (%11,10)	0 (%0,00)	
	eklem sıvısı kültüründe üredi	2 (%4,4)	0 (%0,00)	0 (%0,00)	
MR Bulgusu	**yok**	42 (%93,30)	41 (%91,10)	41 (%91,10)	0,951 φ
	spondilodiskit	1 (%2,20)	2 (%4,40)	3 (%6,70)	
	sakroileit	2 (%4,40)	2 (%4,40)	1 (%2,20)	

φ *Ki-Kare Test*

* *Fisher-Freeman-Haalton Exact Test*

$p < 0,005$ anlamlı kabul edilmiştir.

Vakaların laboratuvar değerlerine bakıldığında, lökositoz 14 (%10,37) kişide görülürken, lökopeni saptanan hasta olmamıştır. Lenfopeni 5 (%14,29), trombositopeni 3 (%2,22), anemi 25 (%18,52) kişide saptanmıştır. ESR yüksekliği 32 (23,70), CRP yüksekliği 29 (%21,48), AST yüksekliği 10 (%7,41), ALT yüksekliği ise 21 (%15,56) hastada saptanmıştır.

Hastaların klinik formlara göre laboratuvar değerleri ortalamaları incelendiğinde, akut bruselloz grubunda beyaz küre (WBC) 6869±2297/µL, lenfosit sayısı 2331±986/µL, nötrofil sayısı 3783±1876/µL, monosit sayısı 574±208/µL, hemoglobin (Hgb) 13,9±2 g/dL, trombosit sayısı (PLT) 290911±100579/µL, AST 35±44 U/L, ALT 47±73 U/L, kreatinin 0,73±0,19 mg/dL, CRP 16±25 mg/L, ESR 20±20 mm/h olarak bulundu. Subakut brusellozlu hastalarda WBC 7838±2975/µL, lenfosit sayısı 2495±824/µL, nötrofil sayısı 4548±2893/µL, monosit sayısı 574±186/µL, Hgb 14±1,7 g/dL, PLT 263156±73649/µL, AST 22±8 U/L, ALT 30±33 U/L, kreatinin 0,74±0,29 mg/dL, CRP 8±14 mg/L, ESR 13±12 mm/h olarak bulundu. Kronik brusellozlu olgularda ise WBC 7679±2226/µL, lenfosit sayısı 2220±747/µL, nötrofil sayısı 5245±4323/µL, monosit sayısı 588±192/µL, Hgb 14±1,8 g/dL, PLT 287178±79231/µL, AST 22±10 U/L, ALT 25±18 U/L, kreatinin 0,74±0,24 mg/dL, CRP 7±16 mg/L, ESR 14±17 mm/h olarak tespit edildi. Klinik alt gruplar arasında WBC, lenfosit sayısı, monosit sayısı, Hgb, PLT, AST, ALT ve ESR değerlerinin ortalamaları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamışken (p>0,05); nötrofil sayıları ve CRP değerleri ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (sırasıyla p= 0,008, p= 0,024). Bu fark nötrofil sayısında akut bruselloz ile kronik bruselloz olguları arasında iken, CRP değerinde ise akut bruselloz ile subakut bruselloz olguları arasındadır.

Hastaların klinik formlara göre laboratuvar değerlerine ait bilgiler Tablo 12. de sunulmuştur.

Tablo 12. Hastaların klinik formlara göre laboratuvar değerleri

	AKUT		SUBAKUT		KRONİK		p
	Mean ±Std	**Median (min-max)**	**Mean ±Std**	**Median (min-max)**	**Mean ±Std**	**Median (min-max)**	
WBC	6869 ±2297	6360 (3350-13510)	7838 ±2975	6850 (3980-21390)	7679 ±2226	7250 (4380-14570)	0,06 Ω
Lenfosit Sayısı	2331 ±986	2180 (1150-6940)	2495 ±824	2350 (510-4290)	2220 ±747	2170 (660-4120)	0,214 Ω
Nötrofil Sayısı	3783 ±1876	3020 (1660-9680)	4548 ±2893	3850 (1780-17390)	5245 ±4323	4400 (1920-31130)	0,008 Ω
Monosit Saısı	574 ±208	550 (100-1060)	574 ±186	520 (260-1200)	588 ±192	550 (240-1340)	0,857 Ω
Hgb	13,9±2	13,8 (10,2-17,9)	14±1,7	13,9 (9,8-17,4)	14±1,8	13,8 (10,5-17,8)	0,853 Ω
PLT	290911 ±100579	277000 (131000-544000)	263156 ±73649	248000 (98000-421000)	287178 ±79231	291000 (137000-528000)	0,316 Ω
AST	35±44	21 (10-281)	22±8	20 (8-44)	22±10	20 (9-57)	0,488 Ω
ALT	47±73	23 (8-422)	30±33	20 (6-217)	25±18	20 (8-96)	0,509 Ω
Kreatinin	0,73 ±0,19	0,68(0,36-1,31)	0,74±0,29	0,67 (0,44-2,25)	0,74±0,24	0,7 (0,38-1,65)	0,751 Ω
CRP	16±25	7(1-111)	8±14	3(1-68)	7±16	4(1-112)	0,024 Ω
ESR	20±20	11(1-86)	13±12	8(1-51)	14±17	6(2-84)	0,157 Ω

Ω : Kruskal-Wallis H
$p < 0,005$ anlamlı kabul edilmiştir.

Hastaların ve kontrol grubunun kan plazmalarında yapılan 43 AA'nın kantitatif tayinine ait veriler Tablo 13. de sunulmuştur.

Akut bruselloz olguları ve subakut bruselloz olguları karşılaştırıldığında, sitrülin seviyeleri akut olgularda subakutlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,00)

Akut bruselloz olguları ve kronik bruselloz olguları karşılaştırıldığında triptofan, sitrülin ve histidin seviyeleri akut olgularda kroniklere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla p=0,00, p=0,00, p=0,00).

Akut bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, akut bruselloz olgularında fenilalanin, gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, sistin ve karnosin AA'ları ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,032, p=0,00, p=0,00, p=0,00, p=0,00, p=0,00). Triptofan, histidin ve 3-metilhistidin AA'ları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla p=0,00, p=0,00, p=0,00).

Subakut bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, etanolamin, sitrülin, sistin ve karnosin düzeyleri subakut olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,00, p=0,00, p=0,00, p=0,015, p=0,00, p=0,00, p=0,00). Beta-alanin ve 3-metilhistidin ise subakut olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla p=0,001, p=0,00).

Kronik bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, glisin, sitrülin, sistin ve karnosin düzeyleri kronik olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,00, p=0,00, p=0,00, p=0,046, p=0,00, p=0,00, p=0,00). Beta-alanin, treonin, serin ve 3-metilhistidin ise kronik olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (sırasıyla p=0,001, p=0,015, p=0,045, p=0,00).

Tablo 13. Olgular ve kontrol gruplarının plazma serbest aminoasit tayinlerine ait veriler

	AKUT	**SUBAKUT**	**KRONİK**	**KONTROL**	***p***
	Mean ±Std	**Mean ±Std**	**Mean ±Std**	**Mean ±Std**	
taurin	1092,42 ±609,76	1101,6 ±339,01	1126,2 ±414,9	1001,2 ±274,49	0,379 Ω
triptofan	885,1 ±204,63	1027,1 ±247,52	1074,2 ±262,71	1105,9 ±206,55	0 Ω
fenilalanin	1394,97 ±772,65	1145,9 ±251,62	1193 ±337,05	1054,8 ±223,06	0,032 Ω
tirozin	1127,93 ±266,24	1144,4 ±350,74	1161 ±33,05	1152,7 ±320,95	0,966 Ω
lösin	2212,59 ±561,8	2055 ±491,47	2116,8 ±547,6	1925,3 ±522,27	0,107 Ω
izolösin	2200,94 ±642,94	2031,5 ±473,86	2128,2 ±642,84	2122,3 ±672,72	0,681 Ω
metiyonin	465,17 ±111,31	474,4 ±158,53	478,81 ±132,53	521,15 ±187,24	0,601 Ω
gama-aminobütirik asit	49,42 ±55,99	54,88 ±59,9	68,45 ±68,08	0	0 Ω
2-aminoadipik asit	0	0	0	0	1 Ω
3-aminoizobütirik asit	73,75 ±69,62	83,34 ±78,23	94,71 ±87,65	0,38 ±1,48	0 Ω
valin	3596,86 ±890,46	3626,3 ±835,49	3577,3 ±859,84	3493 ±788,57	0,892 ε
norvalin	148,44 ±27,36	151,27 ±24	147,25 ±26,7	145,43 ±24,23	0,745 ε
glutamik asit	1471,88 ±774,85	1127,6 ±554,59	1323,9 ±930,65	755,07 ±378,8	0 Ω
etanolamin	1546,98 ±1244,8	1514,2 ±839,57	1339,6 ±649,38	1068,2 ±567,05	0,015 Ω
beta-alanin	70,58 ±45,78	54,82 ±24,13	55,8 ±36,2	72,59 ±28,71	0,001 Ω
2-aminobütirik asit	1425,84 ±2170,5	1184,5 ±1468	1166,6 ±1233,3	1074 ±800,49	0,75 Ω
aspartik asit	463,8 ±393,51	361,06 ±274,24	374,51 ±352,33	256,25 ±193,5	0,015 Ω
treonin	2383,32 ±775,43	2344,9 ±666,61	2192,2 ±617,91	2659,6 ±716,68	0,015 Ω
serin	2264,06 ±564,97	2167,6 ±671,43	2136,8 ±581,21	2496,8 ±799,13	0,045 ε
alanin	7867,98 ±2397,4	9554,3 ±10957	8393,6 ±2217,3	7734 ±1895,5	0,55 Ω
glisin	3848,6 ±1129,3	4107,4 ±1315,3	4428,1 ±1404,9	3735,6 ±1134,5	0,046 ε

Tablo 13. (Devamı)

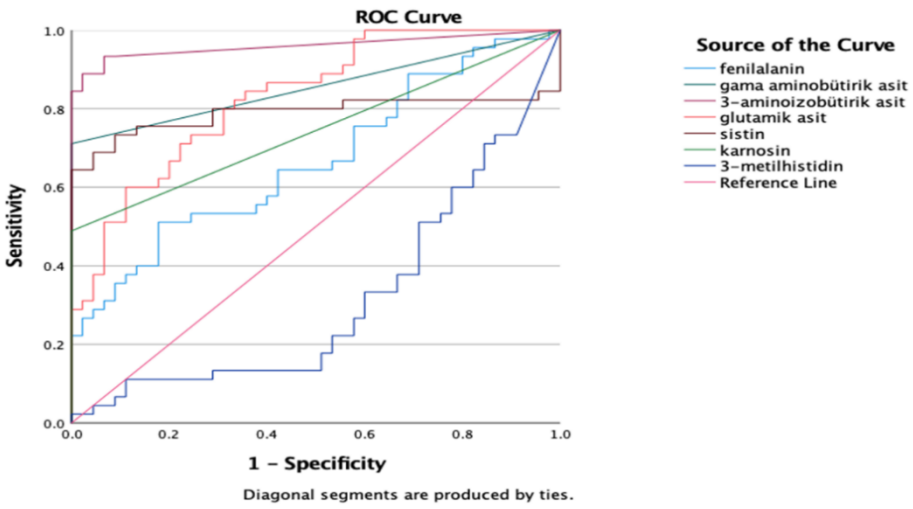
asparajin	889,15 ±226	852,9 ±232,18	886,3 ±225,12	975,04 ±278,97	0,103 ε
trans-4-hidroksiprolin	153,58 ±154,08	131,33 ±66,4	128,43 ±62,5	115,98 ±40,26	0,847 Ω
prolin	4388,35 ±1472	4340,3 ±1529,8	4907,8 ±2293,3	4031,9 ±1266,8	0,2 Ω
glutamin	11258,57 ±2436,7	11741 ±2450,3	11314 ±2519	11458 ±1874,6	0,852 Ω
sarkozin	413,62 ±396,39	428,64 ±650,38	421,08 ±409,7	261,62 ±138,14	0,263 Ω
homositrülin	4,56 ±15,04	5,48 ±19,88	5,56 ±14,4	3,41 ±11,05	0,867 Ω
sitrülin	634,22 ±585,92	689,18 ±210,53	714,42 ±186,2	533,32 ±173,05	0 Ω
orto-fosforiletanolamin	5,88 ±20,42	0	1,89 ±9,09	0	0,055 Ω
homosisin	0,92 ±6,17	0	0,44 ±2,92	0	0,57 Ω
orto-fosfoserin	0	0	0	0	1 Ω
sistin	1759,74 ±1035,2	1708 ±1147,6	1803,5 ±1547,4	806,47 ±260,16	0 Ω
arjinin	1025,25 ±372,86	1016,3 ±328,3	941,63 ±369,98	989,62 ±362,62	0,688 ε
arjinosüksinik asit	0	0	0	0	1 Ω
histidin	1206,77 ±199,53	1307,5 ±198,57	1345 ±247,3	1396,4 ±222,16	0 Ω
karnosin	10,46 ±14,96	12,18 ±16,16	17,66 ±57,82	0	0 Ω
sistatyonin	5,67 ±10,71	3,58 ±5,59	7,29 ±16,17	3,06 ±5,63	0,491 Ω
5-hidroksilizin	12 ±53,77	2,16 ±7,44	1,46 ±4,76	1,28 ±2,84	0,395 Ω
ornitin	1919,73 ±701,5	1892,9 ±650,7	2094,4 ±840,99	1759,9 ±566,67	0,158 ε
lizin	2629,67 ±659,5	2644,9 ±652,09	2665,2 ±798,6	2684,2 ±698,6	0,985 ε
1-metilhistidin	39,02 ±23,98	39,43 ±21,55	37,77 ±14,24	42,3 ±14,27	0,151 Ω
3-metilhistidin	92,69 ±183,81	48,04 ±91,2	86,66 ±117,81	164,8 ±147,52	0 Ω
anserin	1,73 ±2,66	1,86 ±2,79	1,62 ±2,07	2,39 ±2,73	0,318 Ω

Ω : Kruskal-Wallis H
ε: ANOVA
p<0,005 anlamlı kabul edilmiştir.

Akut bruselloz tanılı hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark saptanan AA'lar değerlendirilmeye alınarak yapılan ROC analizine ait veriler Tablo 14' te ve ROC eğrisi Şekil 16' da sunulmuştur.

Tablo 14. Akut Bruselloz Tanılı Hastalarda ROC Analizi Sonuçları

Area Under the Curve					
Test Result Variable(s)	**Area**	**Std. Error**	***p***	**95% Confidence Interval**	
				Lower Bound	**Upper Bound**
3-aminoizobütirik asit	0,960	0,023	<0.001	0,914	1,000
gama-aminobütirik asit	0,856	0,043	<0.001	0,771	0,940
glutamik asit	0,829	0,042	<0.001	0,747	0,911
sistin	0,789	0,057	<0.001	0,678	0,901
karnosin	0,744	0,053	<0.001	0,640	0,849
fenilalanin	0,669	0,057	0,006	0,557	0,780
3-metilhistidin	0,314	0,057	0,002	0,202	0,425



Şekil 16. Akut Grup İçin ROC Eğrisi

3-aminoizobütirik asit için Area Under the Curve (AUC) değeri 0,960±0,023 (%95 GA 0,914-1,000) olarak saptanmış olup en yüksek değere sahiptir. Akut brusellozun tanısında oldukça güçlü bir belirteç olduğu görülmektedir.

Gama-aminobütirik asit için AUC değeri 0,856±0,043 (%95 GA 0,771-0,940) ve glutamik asit için 0,829±0,042 (%95 GA 0,747-0,911) olup iyi düzeyde tanısal doğruluğa sahip diğer belirteçlerdir.

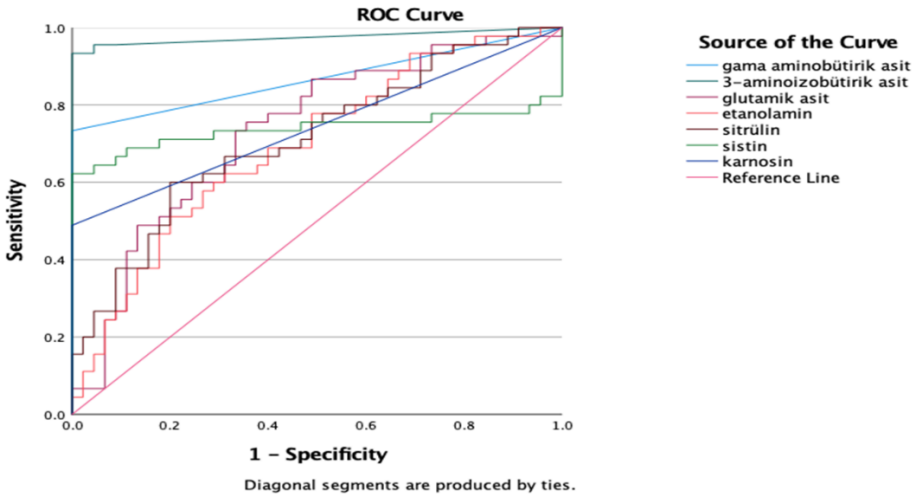
Sistin için AUC değeri 0,789±0,057 (%95 GA 0,678-0,901) ve karnosin için 0,744±0,053 (%95 GA 0,640-0,849) olarak saptanmış olup tanısal değerleri vardır ancak diğer üç belirtece göre tanısal değerleri daha zayıftır.

Fenilalanin (AUC=0,669±0,057 (%95 GA 0,557-0,780)) ve 3-metilhistidin (AUC=0,314±0,057 (%95 GA 0,202-0,425)) ise daha düşük tanısal doğruluk göstermektedir.

Subakut bruselloz tanılı hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark saptanan AA'lar değerlendirilmeye alınarak yapılan ROC analizine ait veriler Tablo 15' te ve ROC eğrisi Şekil 17' de sunulmuştur.

Tablo 15. Subakut Bruselloz Tanılı Hastalarda ROC Analizi Sonuçları

Area Under the Curve					
Test Result Variable(s)	**Area**	**Std. Error**	***p***	**95% Confidence Interval**	
				Lower Bound	**Upper Bound**
3-aminoizobütirik asit	0,975	0,019	0	0,938	1
gama-aminobütirik asit	0,867	0,042	0	0,785	0,948
karnosin	0,744	0,053	0	0,640	0,849
sistin	0,738	0,062	0	0,617	0,859
glutamik asit	0,731	0,054	0	0,626	0,836
sitrülin	0,712	0,054	0,001	0,605	0,818
etanolamin	0,693	0,055	0,002	0,584	0,801



Şekil 17. Subakut Grup İçin ROC eğrisi

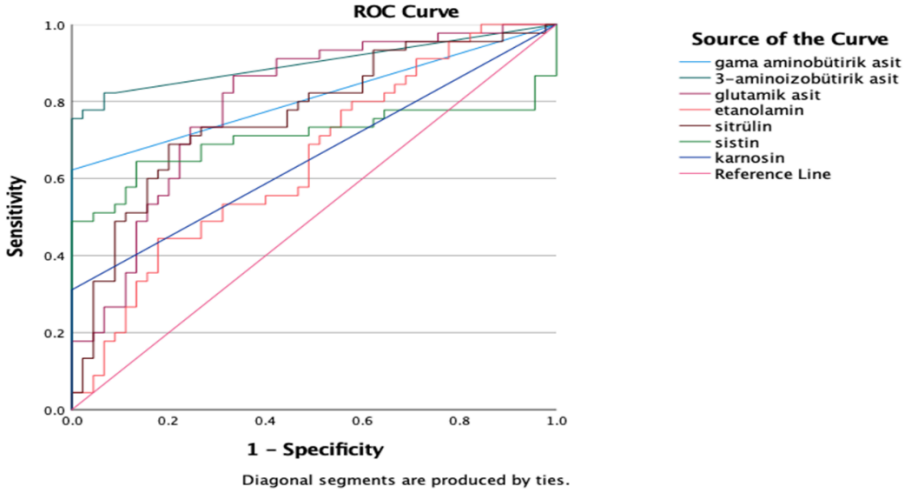
3-aminoizobütirik asit için AUC değeri 0,975±0,019 (%95 GA 0,938-1,000) olarak saptanmış olup en yüksek değere sahiptir. Gama-aminobütirik asit için AUC değeri 0,867±0,042 (%95 GA 0,785-0,948) olarak saptanmıştır ve ikinci en yüksek değerdir. Bu AA'ların subakut brusellozun tanısında oldukça güçlü birer belirteç olduğu görülmektedir.

Karnosin için AUC değeri 0,744±0,053 (%95 GA 0,640-0,849), sistin için AUC değeri 0,738±0,062 (%95 GA 0,617-0,859), glutamik asit için AUC değeri 0,731±0,054 (%95 GA 0,626-0,836), sitrülin için AUC değeri 0,712±0,054 (%95 GA 0,605-0,818), etanolamin için AUC değeri 0,693±0,055 (%95 GA 0,584-0,801) olarak saptanmıştır. Bu AA'lar subakut bruselloz için iyi düzeyde tanısal doğruluğa sahip diğer belirteçlerdir.

Kronik bruselloz tanılı hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark saptanan AA'lar değerlendirilmeye alınarak yapılan ROC analizine ait veriler Tablo 16' da ve ROC eğrisi Şekil 18' de sunulmuştur.

Tablo 16. Kronik Bruselloz Tanılı Hastalarda ROC Analizi Sonuçları

Area Under the Curve					
Test Result Variable(s)	**Area**	**Std. Error**	***p***	**95% Confidence Interval**	
				Lower Bound	**Upper Bound**
3-aminoizobütirik asit	0,9	0,036	0	0,828	0,971
gama-aminobütirik asit	0,811	0,048	0	0,717	0,905
glutamik asit	0,794	0,048	0	0,7	0,888
sitrülin	0,764	0,051	0	0,665	0,864
sistin	0,707	0,061	0,001	0,587	0,827
karnosin	0,656	0,058	0,011	0,542	0,77
etanolamin	0,647	0,058	0,016	0,534	0,76



Şekil 18. Kronik Grup İçin ROC Eğrisi

3-aminoizobütirik asit için AUC değeri 0,900±0,036 (%95 GA 0,828-0,971) olarak saptanmış olup en yüksek değere sahiptir. Gama-aminobütirik asit için AUC değeri 0,811±0,048 (%95 GA 0,717-0,905) olarak saptanmıştır ve ikinci en yüksek değere sahiptir. Bu AA'ların kronik brusellozun tanısında oldukça güçlü birer belirteç olduğu görülmektedir.

Glutamik asit için AUC değeri 0,794±0,048 (%95 GA 0,700-0,888), sitrülin için AUC değeri 0,764±0,051 (%95 GA 0,665-0,864), sistin için AUC değeri

0,707±0,061 (%95 GA 0,587-0,827), karnosin için AUC değeri 0,656±0,058 (%95 GA 0,542-0,770), etanolamin için AUC değeri 0,647±0,058 (%95 GA 0,534-0,760) olarak saptanmıştır. Bu AA'lar kronik bruselloz için iyi düzeyde tanısal doğruluğa sahip diğer belirteçlerdir.

Akut bruselloz tanılı hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark saptanan 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik asit, glutamik asit, sistin ve karnosin AA'ları ile lojistik regresyon analizi yapıldı. Yapılan analizde akut ve kontrol grupları arasında yalnızca 3-aminoizobütirik asit için istatistiksel anlamlılık tespit edilmiş olup (*p*=0,003), Odds Ratio (OR) 1,65 (%95 GA 1,190-2,298) olarak saptandı.

Subakut bruselloz tanılı hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark saptanan 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik asit, glutamik asit, etanolamin, sitrülin, sistin ve karnosin AA'ları ile lojistik regresyon analizi yapıldı. Yapılan analizde akut ve kontrol grupları arasında yalnızca 3-aminoizobütirik asit için istatistiksel olarak anlamlı değer saptanmış olup (*p*=0,000), OR 1,69 (%95 GA 1,282-2,247) olarak tespit edildi.

Kronik bruselloz tanılı hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark saptanan 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik asit, glutamik asit, sitrülin, sistin ve karnosin AA'ları ile lojistik regresyon analizi yapıldı. Yapılan analizde akut ve kontrol grupları arasında yalnızca 3-aminoizobütirik asit için istatistiksel anlamlılık tespit edilmiş olup (p=0,004), OR 1,39 (%95 GA 1,112-1,736) olarak saptandı.

5. TARTIŞMA

Bruselloz dünyada en sık görülen zoonotik hastalıktır. Enfekte hayvanların çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimi en sık bulaş yoludur. Ateş, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı, gece terlemeleri ve eklem ağrılarıyla ön planda kendini gösterir (2). Birçok hastalıkla benzer semptom ve bulgulara sahip olması sebebi ile, tanıda gecikmeler yaşanabilmektedir. Tanının gecikmesi; uzun süre tedavisiz kalan hastalarda komplikasyonların görülmesi, hayat kalitesini etkileyecek düzeyde semptomların şiddetlenmesi ve tedavinin güç olması gibi olumsuzlukları beraberinde getirmektedir. Osteoartiküler tutulum başta olma üzere, nörolojik, kardiyak, genitoüriner; daha az sıklıkla hematolojik, gastrointestinal, pulmoner, hepatobiliyer ve oftalmik komplikasyonlara sebep olabilmektedir (3).

Dünya genelinde, genellikle bir meslek hastalığı olması sebebiyle erkeklerde daha sık görüldüğü belirtilmektedir. Çoğunlukla genç yaş grubunda görülmekle birlikte vakaların %60'ı 13-40, %16'sı 40-60 yaş aralığındadır (25). Kuruoğlu ve arkadaşlarının bir çalışmasına dahil edilen hasta popülasyonun %61'inin erkeklerden oluştuğu, ortalama yaşın ise 46.4 ± 15.8 olduğu belirtilmiştir (101). Başka bir çalışmada benzer şekilde erkeklerin oranı %55,7; yaş ortalaması ise 46 olarak saptanmıştır (30). Çin'de yapılan bir çalışmada yine erkelerde daha sık olduğu görülmüş ve 45-64 yaş hastalığın en sık saptandığı yaş aralığı olarak tespit edilmiştir (102). Çalışmamızda da benzer şekilde hastaların %52,60'ı erkekti. Yaş ortalaması 43,71 ± 15,04 olarak bulundu.

Hastalığın görülme sıklığı mevsimsel farklılıklar gösterebilir. Liu ve arkadaşlarının Çin'de brusellozun endemik olduğu bir bölgede yaptıkları çalışmada vakaların %70'ten fazlasının yılın Mart ayından Ağustos ayına kadar olan sürede görüldüğü saptanmıştır (103). İran'da yapılan başka bir çalışmada vakalar %34,8 oranında en çok yaz aylarında görülmüş, bunu %25,5 ile ilkbahar takip etmiştir (104). İspanya'da yapılan başka bir çalışmada ise vakaların sıklıkla yaz ve ilkbahar Aylarında görüldüğü belirtilmiştir (105). Çalışmamızda vakaların çoğunluğunun (%40,74 oranında) yaz ayında hastaneye başvurmuş olması literatürle benzerdir. Ancak farklı olarak ikinci sıklıkla en çok vaka görülen ay kış ayları olmuştur. Bu farklılığın sebebi,

vakaların semptomlarının başladığı tarihe göre değil, hastaneye başvuru tarihlerine göre değerlendirilmeleri olabilir. Bu hastaların çoğunlukla semptomlarının yaz aylarında başlamış olması ve kış aylarına kadar hastaneye başvurma gerekliliği hissetmemiş olmaları bu durumu açıklayabilir.

Bazı hastalıkların görülme sıklığı, toplumun sosyokültürel düzeyi ve yaşam standartları ile bağlantılı olabilir. Literatürde yapılan çalışmalarda bruselloz hastalarının çoğunluğunun kırsal alanda yaşadığı ve eğitimsiz ya da düşük eğitim düzeyli kişiler olduğu belirtilmiştir (104, 106, 107). Çalışmamızda da benzer şekilde vakaların %65,18'i en fazla ilkokul seviyesinde eğitim almış kişilerden oluşmaktaydı ve tüm hastaların %62,96'sı kırsal alanda ikamet etmekteydi.

Bruselloz etiyolojisinde hayvanlarla yakın temas önemli bir rol oynamaktadır. Hayvanlarla yakın temas gerektiren çiftçilik, hayvancılık, kasaplık, mezbaha çalışanı, veterinerlik gibi mesleklerle hastalığın yakın ilişkisi muhtemeldir. Yapılan birkaç çalışmada bruselloz hastalarının %41,3, %67,3, %90,6 gibi değişen oranlarda çobanlık ve çiftçilik ile uğraşmakta olduğu belirtilmiştir (103, 107, 108). Bir başka çalışmada ise çiftçilerin oranı %50 idi (106). Türkiye'de yapılan birkaç çalışmada ise çiftçilik-hayvancılıkla uğraşanların oranlarının %16,2-24 arasında değişmekte olduğu; bir çalışmada ise vakalar arasında %1 oranında hayvan sağlığı ile ilgili çalışanların olduğu görülmüştür (109-111). Çalışmamızda hayvancılıkla uğraşanların oranı %70,37 olup çoğunluğu oluşturmakta ve %0,74 oranında veteriner hekim bulunmaktaydı.

Brusellozun en sık bulaş yollarından biri çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimidir. Bu tüketim alışkanlıkları hastalığa yakalanma riskini arttırmaktadır. Çalışmamızda bruselloz hastalarında bu ürünlerin tüketim oranı %95,56 olarak saptandı. Literatürde dünyanın çeşitli yerlerinden yapılan çalışmalarda bu oranlar %34,7-82 arasında değişmektedir. En yüksek oranlar Türkiye'de ve ikinci sırada İran'da yapılan çalışmalardan saptanmıştır. Çalışmamızda da benzer şekilde bu oranın yüksek olmasının sebebi halkımızın bu konuda yeterli bilgi düzeyine sahip olmaması olarak yorumlanabilir (104, 106, 108, 110, 112).

Almanya'da yapılan bir çalışmada bruselloz tanısı alan hastalarda %88 oranıyla en sık saptanan semptom ateş olarak tespit edilmiştir. Yorgunluk ve eklem ağrıları sırasıyla ateşten sonra en sık görülen semptomlar olmuştur (113). Çin'de yapılan başka bir çalışmada, yorgunluk %87,5 oranıyla en sık görülen semptom olup, bunu sırasıyla terleme, ateş, eklem ve kas ağrıları takip etmiştir. Testislerde şişlik %1,7 oranıyla en az görülen semptom olmuştur (103). Yunanistan'da yapılan bir çalışmada hastalar klinik alt gruplara göre değerlendirilmiş; ateş, artralji ve terleme akut brusellozlu hastalarda en sık görülürken; daha geç vakalarda artralji en çok görülen semptom olmuştur (108). Türkiye'de yapılan bir çalışmada ise ateş, halsizlik, eklem ve kas ağrısı en sık görülen semptomlar iken başka bir çalışmada sırasıyla ateş, halsizlik ve kas ağrısı en sık görülen bulgular olarak bildirilmiştir (109, 111). Çalışmamızda en sık görülen semptom %79,3 oranıyla artralji olup, bunu %54,8 ile halsizlik ve %51,9 oranı ile ateş takip etmekteydi. Testis şişliği %2,96 oranıyla en az görülen semptomdu. Klinik alt gruplar değerlendirildiğinde, akut ve subakut hastalarda en sık görülen semptom artralji ve ardından halsizlik iken; kronik hastalarda ilk sırada görülen semptom yine artralji olup, ikinci sırada ateş bulunmaktaydı. Semptomların klinik alt gruplara göre istatistiksel olarak karşılaştırılmasında anlamlı bir fark bulunamamış ($p>0,005$) olup her semptom hastalığın süresinden bağımsız olarak her hastada görülebilmektedir.

Kassiri ve arkadaşlarının bir çalışmasında, hastaların %35,1'inde Wright tüp aglütinasyon titresi 1/160, %54,1'inde 1/320 olarak saptanmıştır (104). Başka bir çalışmada 1/160 titre oranı %19,1, 1/320 oranı %20, 1/640 oranı %20, 1/1280 oranı ise %17,4 olarak verilmiştir (114). Yine Türkiye'de yapılan bir çalışmada hastaların %23,5'inde titre sonucu 1/160, %12,9'unda 1/320, %18,8'inde 1/640, %16,5'inde ise 1/1280 olarak saptanmıştır (115). Çalışmamızda da hastaların %74,82'sinde Wright tüp aglütinasyon sonucu 1/160, %16,30'unun ise 1/320 olarak saptanmış ve Kassiri ve arkadaşlarının çalışması ile benzer şekilde en sık saptanan sonuçlar bunlar olmuştur.

Çalışmamızda kan kültürü pozitifliği oranı %11,85 olarak saptandı. Katar'da yapılan bir çalışmada bu oran %72,8 iken Türkiye'de yapılan üç farlı çalışmada ise oranlar %13,2, %13,6 ve %68 olarak verilmiştir (30, 101, 112, 116). Günümüzde yeni kültür yöntemleriyle *Brucella*'nın kan kültüründe izole edilme oranları her ne kadar

artmış olsa da çalışmamızda bu oran yüksek bulunamamıştır. Bunun sebebi örneklerin laboratuvara uygun koşularda ulaşmamış olması ve yeterli inkübasyon süresinin sağlanamamış olması olabilir.

Aynı çalışmada IgM ve IgG pozitiflikleri oranı sırasıyla %73,1 ve %72,5 olarak saptanmıştır (112). Çalışmamızda ise IgM pozitif hastaların oranı %31,11, IgG pozitifliği oranı %56,29 olarak saptandı. Hastalığın klinik alt gruplarına göre immünglobülinlerin pozitiflik oranları değişebilmekte olup, çalışmamızda eşit sayıda akut, subakut ve kronik hastalar bulunmakta iken, literatürdeki çalışmada klinik alt gruplara ait bir bilgi bulunmamaktadır. Değerler arasındaki fark, alt grupların literatürdeki çalışmada eşit dağılmamış olması sebebiyle olabilir.

Bruselloz tanılı hastalarda çeşitli hemogram bulguları görülebilmekte, AST, ALT değerlerinde ve CRP, ESR gibi belirteçlerde artış olabilmekte iken kimi hastada ise hiçbir anlamlı pozitif laboratuvar bulgusuna rastlanmamaktadır. Yapılan çalışmalarda hastalarda anemi %2,7-52,87, lökositoz %6-13,9, lökopeni %12,5-18,5, trombositopeni %2,7-37, ESR artışı %32,4-64,6, CRP artışı %39,6-85, AST artışı %14,5-47, ALT artışı %12,1-41 oranlarında bildirilmiştir. Çalışmamızda hastaların %18,52'sinde anemi, %10,37'sinde lökositoz, %2,22 oranında trombositopeni; %23,7'sinde ESR, %21,48'inde CRP, %7,41'inde AST ve %15,56'sında ALT artışı tespit edilmiş olup önceki çalışma sonuçları ile uyumludur.

Protein eksikliklerinin immün sistem bozukluklarına sebep olduğu ve hastalıklara yatkınlık oluşturduğu bilinmektedir. Proteinlerin eksikliğiyle, yapıtaşları olan AA'lara ulaşımın zorlaşması söz konusudur. İmmün sistemdeki aksaklıklar aslında bu sebeple gelişmektedir; AA'ların lenfositleri, NK hücrelerini, makrofajları aktifleştirmek, hücrelerin oksidasyon sistemine destek olmak, NO ve glutatyon sentezi, antikorların ve stokinlerin oluşumu gibi birçok alanda rolleri bulunmaktadır (8, 17). Birçok hastalığın patogenezinde AA'ların eksiklik ya da fazlalığının rol oynadığına dair çalışmalar mevcuttur. Bu konuda malignite üzerine yapılan birçok çalışmanın yanı sıra (9-13, 15, 16), hepatitler, COVID-19, HIV, pnömoni, sepsis, tüberküloz, salmonella ve klamidya enfeksiyonları gibi bazı enfeksiyon hastalıkları

üzerine de araştırmalar yapılmıştır (17, 117-122). Literatürde bruselloz ile ilgili bu konuda çocuk hasta grubunda yapılan yalnızca bir çalışma bulunmaktadır (123).

Çalışmamızda, akut bruselloz olguları ve subakut bruselloz olguları karşılaştırıldığında, sitrülin seviyeleri akut olgularda subakutlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. Akut bruselloz olguları bu kez kronik bruselloz olgularıyla karşılaştırıldığında ise triptofan, sitrülin ve histidin seviyeleri akut olgularda kroniklere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu.

Akut bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, akut bruselloz olgularında triptofan, histidin ve 3-metilhistidin AA'ları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. Fenilalanin, gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, sistin ve karnosin AA'ları ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Subakut bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, etanolamin, sitrülin, sistin ve karnosin düzeyleri subakut olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunurken; beta-alanin ve 3-metilhistidin ise subakut olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu.

Kronik bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, glisin, sitrülin, sistin ve karnosin düzeyleri kronik olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunurken; beta-alanin, treonin, serin ve 3-metilhistidin ise kronik olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu.

Çalışmamızda glisin düzeylerinin kronik hasta grubunda, kontrol grubuna göre arttığı görülmüştür. Glisin, glukojenik bir AA olup, gerekli durumlarda glukoneojeneze katılarak enerji üretimine katkı sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda kanser gibi uzun süreli artmış katabolik durumlarda plazmada glisin seviyelerinin arttığı görülmüştür (124). Çalışmamızda da kronik hasta grubunda görülen bu durum, uzun süre kontrol altına alınamamış bir enfeksiyona sekonder olarak gelişen artmış katabolizmayı göstermektedir.

Fenilalanin düzeyi, akut grupta kontrol grubuna göre artmıştır. Aromatik bir AA olan fenilalanin, karaciğerde metabolize edilmektedir. Karaciğeri etkileyen bir hastalık durumunda azalmış karaciğer aktivitesi sebebiyle, fenilalanin plazma seviyelerinin arttığı bilinmektedir (124). Ayrıca fenilalaninin bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda arttığı da bilinmektedir (118). Çalışmamızda artmış fenilalanin düzeyi, özellikle akut dönemdeki hastalarda karaciğerin de ön planda tutulmuş olabileceğini gösterebilir.

Histidin makrofajlar, T lenfositler ve trombositlerde histamin sentezinde substrattır. Histidinden üretilen histamin, birçok immünolojik fonksiyonu düzenlemede, trombosit agregasyonunda ve Th2 hücrelerin aktivitesini düzenlemede görev alır (17). Bakterilerde bulunan "Histidine Utilizing" (Hut) sistemi, *Brucella spp*. 'de de bulunmakta olup, histidini katabolize ederek son ürün olan glutamik aside ulaşma yolunda karbon, nitrojen ve enerji üretebilecekleri bir sistemdir (125). Histidin ve onun modifiye formları olan 1-metilhistidin ve 3-metilhistidin, bu sistemin indükleyicileridir (126). Çalışmamızda bu bilgilerle uyumlu olarak akut hasta grubunda histidin ve 3-metilhistidin AA'ları kontrol grubuna göre düşük seviyelerde iken; Hut sisteminin son ürünü olan glutamik asit ise aynı hasta grubunda, anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Yapılan *in-vitro* ve hayvan çalışmalarında, treoninin immün fonksiyonları düzenleme görevi olduğu görülmüştür. Metabolizması, kompleman aracılı bakteriyel ölümle ilişkilidir (118). Aynı zamanda sepsis, COVID-19 gibi inflamatuar hastalıklarda treonin düzeylerinin düştüğü bulunmuştur (17, 119). Çalışmamızda da kronik hasta grubunda treonin düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

Sitrülin, arjininin öncüsü olan bir AA'dır. Arjinin ise akut ve kronik inflamasyon durumlarında pro veya antiinflamatuar etkileri olan NO'nun sentezinde kullanılmaktadır. Arjinin ve sitrülin bakteriyel enfeksiyonlarda önemli bir rol oynamaktadır (118). Sepsis ve inflamasyon durumlarında plazmada arjinin seviyeleri artarken, sitrülin seviyeleri azalmaktadır (119). Çalışmamızda sitrülin seviyesi azalmış, ancak buna rağmen arjinin seviyelerinde anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür. Bu durum var olan bir inflamasyonun sonucunda yoğun bir şekilde

tüketilen sitrülin sayesinde, arjinin düzeyinin stabil kalmasının sağlanabilmiş olması olarak yorumlanabilir.

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda, gama-aminobütirik asit yani GABA'nın oksidatif stresi azalttığı ve immün sinyalizasyonu aktifleştirdiği görülmüştür (127, 128). Sepsis ve COVID-19 gibi yoğun immün aktivasyonun görüldüğü hastalıklarda benzer şekilde alfa-aminobütirik asit, beta-aminoizobütirik asit ve 2-aminobütirik asit seviyelerinde artış olduğu görülmüştür. Çalışmamızda da Bruselloz tanılı hastalarda GABA ve 3-aminoizobütirik asit seviyelerinde anlamlı düzeyde bir artış saptandı (17, 119).

Karnosin, yapısında histidin ve beta-alanin bulunduran bir dipeptit olup, kaslarda intraselüler pH'nın düzenlenerek normal kas fonksiyonlarının yerine getirilmesine yardımcı olur. Beta-alanin takviyesi, kaslardaki karnosin seviyesinin arttırılarak, kas yorgunluklarının ve güçsüzlüğünün giderilmesinde kullanılmaktadır (129). Bruselloz hastalarında yaygın kas ağrıları ve yorgunluk beklenen semptomlardır. Çalışmamızda subakut ve kronik hasta gruplarında karnosin seviyeleri kontrol grubuna göre yüksekken beta-alanin seviyeleri düşük bulunmuştur. Bu hasta gruplarında uzun süredir görülen kas ağrıları ve yorgunluğun karnosin seviyeleri arttırılarak kompanse edilmeye çalışıldığı düşünülebilir.

Sistin ve sistein birbirlerine dönüşebilen iki AA olup, N-asetilsisteinin öncüleridir. N-asetilsistein, oksidatif stres hasarını ve organ hasarını azaltır; sürviyi arttırır. Sepsis üzerine yapılan çalışmalarda, sistin düzeyleri ağır sepsisli hastalarda diğerlerine göre daha düşük düzeyde bulunmuştur (119). Bruselloz mortalitesi düşük bir hastalık olup, çalışmamızda sistin seviyelerinin artmış olarak bulunması, inflamasyonla gelişen oksidatif stresle baş edilebildiği ve çoklu organ hasarının sınırlandırılabildiğini gösteriyor olabilir.

Triptofan, serin, alanin, sistin, glisin ve treonin pürivik aside metabolize olurlar. Bu AA'lar ile glukoneojenez, pirüvik asitten başlar. Çalışmamızda triptofan ve serin seviyelerinde azalma olması ve diğerlerinin artması ya da belirgin bir değişiklik olmaması, bruselloz hastalarında glukoneogenez için seçici davranıldığını

gösterebilir. Bakteriyel pnömoni tanılı hastalarda yapılan bir çalışmada sistin dışındaki AA'ların azalması ve sistinde bu durumun görülmemesi benzer şekilde açıklanmıştır (118).

Triptofan, indoleamin 2,3-dioksijenaz-1 enzimi aracılığıyla immünmodülatör bir etkiye sahiptir; bu enzim triptofanın kinürenine yıkımını sağlar. Triptofan düzeylerinin düşmesi, CD4+ T hücrelerinin proliferasyonunu azaltır. Bu enzimin indüklenmesi bakteriler tarafından sağlanır. Birçok enfeksiyonda triptofan düzeyleri düşük bulunmuştur (118, 120-122). Çalışmamızda da akut hasta grubunda triptofan düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı seviyede düşüktü.

Etanolamin düzeyleri kontrol grubuna göre, subakut grupta anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştu. Benzer durum literatürde COVID-19 ve sepsis hastalarında da görülmektedir (17, 119).

Sitrülin seviyelerinin akut olgularda, subakut olgulara göre düşük; triptofan, sitrülin ve histidin seviyelerinin de akut olgularda kronik olgulara göre düşük bulunması, gelecekte yapılacak akut hasta grubunu diğer gruplardan ayırmaya yönelik çalışmalara ışık tutabilir.

Yapılan ROC analizinde akut bruselloz hastalarında 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik asit ve glutamik asitin iyi düzeyde tanısal doğruluğa sahip oldukları saptanmıştır. 3-aminoizobütirik asit için AUC değeri 0,960±0,023 (%95 GA 0,914-1,000) olup, bu AA'nın yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu değer 3-aminoizobütirik asitin akut bruselloz hastalarını ayırt etmede oldukça başarılı olduğunu; yanlış negatiflik ve yanlış pozitiflik oranlarının düşük olduğunu ifade etmektedir. Gama-aminobütirik asit için AUC değeri 0,856±0,043 (%95 GA 0,771-0,940) ve glutamik asit için 0,829±0,042 (%95 GA 0,747-0,911) olup, bu AA'ların da tanısal doğruluğunun yüksek olduğu söylenebilir.

Subakut bruselloz hastaları için yapılan ROC analizinde 3-aminoizobütirik asit ve gama-aminobütirik asitin iyi düzeyde tanısal doğruluğa sahip oldukları saptanmıştır. 3-aminoizobütirik asit için AUC değeri 0,975±0,019 (%95 GA 0,938-1,000) ve gama amininobütirik asit için AUC değeri 0,867±0,042 (%95 GA 0,785-

0,948) olup, bu AA'ların yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar 3-aminoizobütirik asit ve gama-aminobütirik asitin subakut bruselloz hastalarını ayırt etmede oldukça başarılı olduğunu; yanlış negatiflik ve yanlış pozitiflik oranlarının düşük olduğunu ifade etmektedir. Karnosin, sistin, glutamik asit, sitrülinin ve etanolaminin de tanısal doğruluklarının yüksek olduğu söylenebilir. Yüksek AUC değerleri, bu AA'ların akut bruselloz tanısında iyi bir duyarlılık ve özgüllük sağlayabileceğini göstermektedir.

Kronik bruselloz hastaları için yapılan ROC analizinde de benzer şekilde 3-aminoizobütirik asit ve gama-aminobütirik asitin iyi düzeyde tanısal doğruluğa sahip oldukları saptanmıştır. 3-aminoizobütirik asit için AUC değeri 0,900±0,036 (%95 GA 0,828-0,971) ve gama amininobütirik asit için AUC değeri 0,811±0,048 (%95 GA 0,717-0,905) olup, bu AA'ların yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar 3-aminoizobütirik asit ve gama-aminobütirik asitin kronik bruselloz hastalarını ayırt etmede oldukça başarılı olduğunu; yanlış negatiflik ve yanlış pozitiflik oranlarının düşük olduğunu ifade etmektedir. Glutamik asit, sitrülin, sistin, karnosin ve etanolaminin de tanısal doğruluklarının yüksek olduğu söylenebilir.

Her üç klinik alt grupta da 3-aminoizobütirik asit ve gama-aminobütirik asit en yüksek AUC değerlerine sahip AA'lar olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre, bu AA'ların akut, subakut ve kronik brusellozu ayrı ayrı tespit etmede duyarlılıklarının yüksek ancak özgüllüklerinin düşük olduğu; klinik alt gruplardan bağımsız olarak yorumlandığında bruselloz hastalarının tespitinde bu iki AA'nın özgüllüğünün yüksek olduğu görülmektedir.

Bu aminoasitlerin hastalığın tanısında birer belirteç olarak kullanılabileceği söylenebilir. Ve bu bulgular, yeni tanısal testlerin geliştirilmesinde rol oynayabilir.

Akut, subakut ve kronik bruselloz tanılı hastalarda ayrı ayrı kontrol grubuna göre anlamlı seviyede artış olduğu saptanan AA'lar arasında yapılan lojistik regresyon analizi sonucunda her grupta 3-aminoizobütirik asit risk faktörü olarak belirlenmiştir (sırasıyla akut, subakut, kronik gruplar için OR: 1,65 (%95 GA 1,190-2,298), OR: 1,69

(%95 GA 1,282-2,247), OR: 1,39 (%95 GA 1,112-1,736)). Bu AA değerinin bir bireyde yüksek saptanması, bireyin bruselloz hastalığı açısından 1,39-1,69 kat risk altında olduğunu göstermektedir.

Hastalığın her bir klinik alt grubunda risk faktörü olduğu tespit edilen 3-aminoizobütirik asitin, klinik alt gruplardan bağımsız olarak da bruselloz hastalarında bir risk faktörü olduğu söylenebilir. Her üç klinik alt grup için kontrol grubuyla yapılan ROC analizinde 3-aminoizobütirik asitin tanısal değerinin bulunması ve aynı gruplarda yapılan lojistik regresyon analizinde de 3-aminoizobütirik asitin risk faktörü olarak belirlenmesi sonucunda; bu aminoasitin hem tanıda kullanılabileceği hem de bruselloz hastalığının varlığını gösteren bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği söylenebilir.

Bruselloz, hastalarda AA'ların da içinde bulunduğu birçok metabolik durumu etkilemektedir. Çeşitli patogenezlerle bazı AA'ların plazma düzeylerinin azalmasına sebep olmaktadır. Bu AA'ların belirlenmesi, bruselloz tanısına yardımcı birer parametre olarak kullanılabilmelerine, klinik alt grupların ayrımının daha kolay yapılabilmesine, replasmanları ile destek tedavi imkanı oluşturulmasına olanak sağlayabilir. Yapılacak ileri çalışmalarla, plazmada düzeyleri artan AA'ların prognostik parametreler olarak kullanılmaları sağlanabilir.

Çalışmanın güçlü yönleri, geniş bir zaman diliminde her mevsimi kapsayacak şekilde verilerin toplanmış olması ve klinik alt gruplara göre inceleme yapabilmek adına, her alt gruptan eşit sayıda hastanın çalışmaya dahil edilmesidir. Çalışmamız, çocuk hasta grubunda yapılan bir çalışma dışında literatürde benzerinin bulunmaması sebebiyle önemlidir.

Çalışmanın zayıf yönleri ise, sınırlı örneklem büyüklüğü ve hastaların tedavi sonrası AA profillerinin çalışılmamasıdır. Çok daha geniş vaka gruplarıyla, tanı anındaki ve tedavi sonrasındaki incelemelerin sonucunda değişim görülen AA'ların saptanması bu konuda daha fazla bilgi sahibi olmamıza olanak sağlayacaktır. Bu çalışma, gelecekte planlanacak daha geniş kapsamlı bu ve benzeri çalışmalara ışık tutacaktır.

6. SONUÇ

1. Hastalığın sıklıkla erkek cinsiyette ve genç yaş grubunda görüldüğü; hastaların çoğunlukla düşük eğitim düzeyinde oldukları ve sıklıkla hayvancılıkla uğraştıkları, çoğunlukla kırsal alanda yaşadıkları ve çiğ süt ve süt ürünlerini tükettikleri görüldü. Yaz aylarında hastaların başvuru sıklığının arttığı tespit edildi.
2. En sık saptanan semptomun, klinik alt grupların hepsinde artralji olduğu görüldü. Semptomların klinik formlara göre istatistiksel olarak karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık saptanmadı.
3. Kan kültürü pozitifliği ve Wright tüp aglütinasyonu sonuçları ile klinik alt gruplar arasında anlamlı bir istatistiksel fark olduğu bulundu.
4. CRP değeri, akut brusellozlu hastalarda, subakut brusellozlu hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu.
5. Nötrofil sayısı, akut brusellozlu hastalarda, kronik brusellozlu hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu.
6. Akut bruselloz olguları ve subakut bruselloz olguları karşılaştırıldığında, sitrülin seviyeleri akut olgularda subakutlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.
7. Akut bruselloz olguları ve kronik bruselloz olguları karşılaştırıldığında triptofan, sitrülin ve histidin seviyeleri akut olgularda kroniklere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.
8. Akut bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, akut bruselloz olgularında fenilalanin, gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, sistin ve karnosin AA'ları ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Triptofan, histidin ve 3-metilhistidin AA'ları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.
9. Subakut bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, etanolamin, sitrülin, sistin ve karnosin düzeyleri subakut olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Beta-alanin ve 3-

metilhistidin ise subakut olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

10. Kronik bruselloz olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; gama-aminobütirik asit, 3-aminoizobütirik asit, glutamik asit, glisin, sitrülin, sistin ve karnosin düzeyleri kronik olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Beta-alanin, treonin, serin ve 3-metilhistidin ise kronik olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.
11. Akut bruselloz hastalarında 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik asit ve glutamik asit tanısal açıdan yüksek doğruluk potansiyeli taşımaktadır.
12. Subakut bruselloz hastalarında 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik, karnosin, sistin, glutamik asit, sitrülin ve etanolamin tanısal açıdan yüksek doğruluk potansiyeli taşımaktadır.
13. Kronik bruselloz hastalarında 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik asit, glutamik asit, sitrülin, sistin, karnosin ve etanolamin tanısal açıdan yüksek doğruluk potansiyeli taşımaktadır.
14. Tüm klinik alt gruplarda 3-aminoizobütirik asit yüksekliği hastalık için bir risk faktörü olarak tespit edilmiştir.
15. Bruselloz hastalarında kan plazma düzeyi azalmış ya da artmış olan AA'ların bruselloz tanısına yardımcı birer parametre olarak kullanılabileceği, klinik alt grupların ayrımının daha kolay yapılabileceği ve replasmanları ile destek tedavi imkanı oluşturulabileceği, ileri çalışmalar ile prognostik parametreler olarak kullanılabileceği; tanısal değeri olduğu saptanan AA'ların ise daha geniş popülasyonlu ileri çalışmalarla bu değerlerinin klinik kullanıma uygunluğunun daha iyi şekilde değerlendirilebileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Harrison ER, Posada R. Brucellosis. Pediatr Rev. 2018;39(4):222-4.
2. Bosilkovski M, Edwards MS, Calderwood S. Brucellosis: epidemiology, microbiology, clinical manifestations, and diagnosis. Uptodate, United States. 2019.
3. Doganay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. International journal of infectious diseases. 2003;7(3):173-82.
4. Yilmaz BZ, Akcan ÖM, Genceli M, Oltulu R. A Rare Pediatric Case of Neurobrucellosis With Cerebral Salt Wasting. The Pediatric Infectious Disease Journal. 2024;43(1):e20-e1.
5. Selçuk K. Bruselloz ve tedavi sorunu. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 2006;20(3):227-30.
6. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals: World Health Organization; 2006. 22-7 p.
7. Huang S, Wang H, Li F, Du L, Fan W, Zhao M, et al. Better efficacy of triple antibiotics therapy for human brucellosis: A systematic review and meta-analysis. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2023;17(9):e0011590.
8. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. Amino acids. 2009;37:1-17.
9. Watanabe A, Higashi T, Sakata T, Nagashima H. Serum amino acid levels in patients with hepatocellular carcinoma. Cancer. 1984;54(9):1875-82.
10. Cascino A, Muscaritoli M, Cangiano C, Conversano L, Laviano A, Ariemma S, et al. Plasma amino acid imbalance in patients with lung and breast cancer. Anticancer research. 1995;15(2):507-10.
11. Leichtle AB, Nuoffer J-M, Ceglarek U, Kase J, Conrad T, Witzigmann H, et al. Serum amino acid profiles and their alterations in colorectal cancer. Metabolomics. 2012;8:643-53.
12. Mustafa A, Gupta S, Hudes GR, Egleston BL, Uzzo RG, Kruger WD. Serum amino acid levels as a biomarker for renal cell carcinoma. The Journal of urology. 2011;186(4):1206-12.
13. Hasim A, Aili A, Maimaiti A, Mamtimin B, Abudula A, Upur H. Plasma-free amino acid profiling of cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia patients and its application for early detection. Molecular biology reports. 2013;40:5853-9.
14. Tochikubo O, Nakamura H, Jinzu H, Nagao K, Yoshida H, Kageyama N, et al. Weight loss is associated with plasma free amino acid alterations in subjects with metabolic syndrome. Nutrition & diabetes. 2016;6(2):e197-e.
15. Hong S-Y, Yang D-H, Chang S-K. The relationship between plasma homocysteine and amino acid concentrations in patients with end-stage renal disease. Journal of Renal Nutrition. 1998;8(1):34-9.
16. Celik M, Şen A, Koyuncu İ, Gönel A. Plasma-free amino acid profiling of nasal polyposis patients. Combinatorial chemistry & high throughput screening. 2019;22(9):657-62.
17. Atila A, Alay H, Yaman ME, Akman TC, Cadirci E, Bayrak B, et al. The serum amino acid profile in COVID-19. Amino Acids. 2021;53:1569-88.

18. Dashti AS, Karimi A. Skeletal involvement of Brucella melitensis in children: a systematic review. Iranian Journal of Medical Sciences. 2013;38(4):286.
19. D'Anastasio R, Zipfel B, Moggi-Cecchi J, Stanyon R, Capasso L. Possible brucellosis in an early hominin skeleton from Sterkfontein, South Africa. PloS one. 2009;4(7):e6439.
20. de Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, Rossetti CA, Adams LG. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of Brucella–Host Interactions. The American journal of pathology. 2015;185(6):1505-17.
21. Pappas G, Panagopoulou P, Christou L, Akritidis N. Biological weapons: Brucella as a biological weapon. Cellular and molecular life sciences CMLS. 2006;63:2229-36.
22. Moreno E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. Frontiers in microbiology. 2014;5:213.
23. ÇAKIR Ş, YILDIRIM M. Türkiye'de Küçük Ruminantlarda Brusellozun Kontrol ve Eradikasyon Stratejileri. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2018;11(2):98-104.
24. El-Sayed A, Awad W. Brucellosis: Evolution and expected comeback. International journal of veterinary science and medicine. 2018;6:S31-S5.
25. Hayoun MA, Muco E, Shorman M. Continuing Education Activity. StatPearls Publishing LLC. 2023.
26. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye'de Bruselloz: Genel Bakış. Klimik Dergisi. 2006;19(3):87-97.
27. Lai S, Chen Q, Li Z. Human brucellosis: an ongoing global health challenge. China CDC Weekly. 2021;3(6):120.
28. Laine CG, Johnson VE, Scott HM, Arenas-Gamboa AM. Global estimate of human brucellosis incidence. Emerging Infectious Diseases. 2023;29(9):1789.
29. Altunçekiç Yildirim A, Kurt C, Çetinkol Y. Brucellosis with rare complications and review of diagnostic tests: a case report. Journal of Medical Case Reports. 2022;16(1):492.
30. Konya P, Demirturk N, Gürbüz M, Colak G. Comparison of the Characteristics of Brucella Patients Diagnosed With Blood Culture Positivity and/or Serology. Cureus. 2023;15(8).
31. Selçuk K. Brucellosis And Difficulties In Treatment. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 2006;20(3):227-30.
32. HSGM. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Türkiye 2008-2017 Yılları Bruselloz İstatistikleri 2017 [updated 2017. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-ve-vektorel-hastaliklar-db/Dokumanlar/Istatistikler/Web-Bruselloz.jpg.
33. HSGM. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Türkiye 2017 Yılı Bruselloz İnsidans Haritası 2017 [Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-ve-vektorel-hastaliklar-db/Dokumanlar/Istatistikler/Web_Bruselloz_haritasi.pdf.
34. Alsaif M, Dabelah K, Girim H, Featherstone R, Robinson JL. Congenital brucellosis: A systematic review of the literature. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2018;18(8):393-403.
35. Tuon FF, Gondolfo RB, Cerchiari N. Human-to-human transmission of Brucella–a systematic review. Tropical Medicine & International Health. 2017;22(5):539-46.

36. Control CfD, Prevention. Third Case of Rifampin/penicillin-resistant strain of RB51 Brucella from consuming raw milk. 2019.
37. Pappas G, Akritidis, N., Bosilkovski, M., Tsianos, E. Brucellosis. New England Journal of Medicine. 2005;352(22):2325–36.
38. Kämpfer P. WS, Scholz H. The Family Brucellaceae. In: Rosenberg E. DEF, Lory S., Stackebrandt E., Thompson F., editor. The Prokaryotes: Springer, Berlin, Heidelberg; 2014. p. 155–78.
39. Jin M, Fan Z, Gao R, Li X, Gao Z, Wang Z. Research progress on complications of Brucellosis. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2023;13:1136674.
40. Cooke F. J. SMPE. Gram-Negative Coccobacilli. Infectious Diseases2017. p. 1611–27.
41. Yagupsky P. Detection of Brucellae in blood cultures. Journal of clinical microbiology. 1999;37(11):3437-42.
42. Ibrahim D, Dabbous H, Abi Aad Y, Araj GF, Rizk NA. Simultaneous Brucella breast and pacemaker infection. IDCases. 2019;15:e00485.
43. Lapaque N, Moriyon I, Moreno E, Gorvel J-P. Brucella lipopolysaccharide acts as a virulence factor. Current opinion in microbiology. 2005;8(1):60-6.
44. Cengiz AT, DOLAPÇI Gİ. BRUCELLA'LARIN ÖZELLİKLERİ VE BRUSELLOZDA TANI YÖNTEMLERİ. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 1997;50(1).
45. Porte F, Naroeni A, Ouahrani-Bettache S, Liautard J-P. Role of the Brucella suis lipopolysaccharide O antigen in phagosomal genesis and in inhibition of phagosome-lysosome fusion in murine macrophages. Infection and immunity. 2003;71(3):1481-90.
46. Cardoso PG, Macedo GC, Azevedo V, Oliveira SC. Brucella spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. Microbial cell factories. 2006;5:1-11.
47. MOHAMED RMH, ALÇAY AÜ. İstanbul'daki süt ve süt ürünlerinde Brucella türlerinin varlığının araştırılması. Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi. 2020;15(59):263-90.
48. Suárez-Esquivel M, Chaves-Olarte E, Moreno E, Guzmán-Verri C. Brucella genomics: macro and micro evolution. International journal of molecular sciences. 2020;21(20):7749.
49. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucella: a pathogen without classic virulence genes. Veterinary microbiology. 2008;129(1-2):1-14.
50. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. The Lancet infectious diseases. 2007;7(12):775-86.
51. Głowacka P, Żakowska D, Naylor K, Niemcewicz M, Bielawska-Drozd A. – Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. Polish journal of microbiology. 2018;67(2):151-61.
52. Zhang L, Zhao J, Gurkar A, Niedernhofer LJ, Robbins PD. Methods to quantify the NF-κB pathway during senescence. Cellular Senescence: Methods and Protocols. 2019:231-50.
53. Andriopoulos P, Tsironi M, Deftereos S, Aessopos A, Assimakopoulos G. Acute brucellosis: presentation, diagnosis, and treatment of 144 cases. International journal of infectious diseases. 2007;11(1):52-7.

54. Ariza J, Bosilkovski M, Cascio A, Colmenero JD, Corbel MJ, Falagas ME, et al. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations. PLOS medicine. 2007;4(12):e317.
55. Mantur B, Amarnath S, Shinde R. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. Indian journal of medical microbiology. 2007;25(3):188-202.
56. Wang W, Lu X, Li C, Ri MJ, Cui W. A man with recurrent fever, arthritis, and rashes-brucellosis? A case report. BMC infectious diseases. 2020;20:1-4.
57. Vargas V, Pedreira J, Vilaseca J, Ramos F, Rodrigo M, Guardia J. Transitory IgM monoclonal gammopathy associated with brucellosis and tuberculosis (author's transl). Medicina Clinica. 1981;77(6):247-9.
58. Di Bonaventura G, Angeletti S, Ianni A, Petitti T, Gherardi G. Microbiological laboratory diagnosis of human brucellosis: An overview. Pathogens. 2021;10(12):1623.
59. Vila A, Pagella H, Bello GV, Vicente A. Brucella suis bacteremia misidentified as Ochrobactrum anthropi by the VITEK 2 system. The Journal of Infection in Developing Countries. 2016;10(04):432-6.
60. Poonawala H, Marrs Conner T, Peaper DR. The brief case: misidentification of Brucella melitensis as Ochrobactrum anthropi by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Am Soc Microbiol; 2018.
61. Yagupsky P, Morata P, Colmenero JD. Laboratory diagnosis of human brucellosis. Clinical microbiology reviews. 2019;33(1):10.1128/cmr. 00073-19.
62. Ulu Kilic A, Metan G, Alp E. Clinical presentations and diagnosis of brucellosis. Recent patents on anti-infective drug discovery. 2013;8(1):34-41.
63. Justman N, Farahvar S, Ben-Shimol S. The implications of Rose Bengal test seroconversion in the diagnosis of brucellosis in children in an endemic region. Infectious Diseases. 2021;53(5):340-7.
64. Díaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyon I. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. PLOS Neglected tropical diseases. 2011;5(4):e950.
65. Bastos CR, Mathias LA, Jusi MMG, Santos RFd, Silva GCPd, André MR, et al. Evaluation of dot-blot test for serological diagnosis of bovine brucellosis. brazilian journal of microbiology. 2018;49:564-8.
66. Nielsen K, Lin M, Gall D, Jolley M. Fluorescence polarization immunoassay: detection of antibody to Brucella abortus. Methods. 2000;22(1):71-6.
67. Uysal B, Mumcu N, Yıldız O, Aygen B. Bruselloz Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması. Klimik Journal/Klimik Dergisi. 2021;34(3).
68. Altuglu I, Zeytinoğlu A, Bilgic A, Kamcioglu S, Karakartal G, Smits H. Evaluation of Brucella dipstick assay for the diagnosis of acute brucellosis. Diagnostic Microbiology and infectious disease. 2002;44(3):241-3.
69. Peeridogaheh H, Golmohammadi MG, Pourfarzi F. Evaluation of ELISA and Brucellacapt tests for diagnosis of human Brucellosis. Iranian Journal of Microbiology. 2013;5(1):14.
70. Shakir R. Brucellosis. J Neurol Sci. 2021;420:117280.
71. Lopez MJ, Mohiuddin SS. Biochemistry, Essential Amino Acids: StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2023 2023.
72. Nelson D, Cox M. Lehninger Biyokimyanın Temelleri. Palme Yayıncılık, Ankara. 2005;116:118.

73. Gundersen R, Vaagenes P, Breivik T, Fonnum F, Opstad P. Glycine–an important neurotransmitter and cytoprotective agent. Acta Anaesthesiologica Scandinavica. 2005;49(8):1108-16.
74. Aragón C, López-Corcuera B. Structure, function and regulation of glycine neurotransporters. European journal of pharmacology. 2003;479(1-3):249-62.
75. Artioli GG, Gualano B, Smith A, Stout J, Lancha Jr AH. Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance. Med Sci Sports Exerc. 2010;42(6):1162-73.
76. Brestenský M, Nitrayová S, Patras P, Heger J, Nitray J. Branched chain amino acids and their importance in nutrition. The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2015;5(2):197.
77. Kimball SR, Jefferson LS. Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2001;4(1):39-43.
78. Seymour JL, Turecek F. Distinction and quantitation of leucine-isoleucine isomers and lysine-glutamine isobars by electrospray ionization tandem mass spectrometry (MS(n), n = 2, 3) of copper(II)-diimine complexes. J Mass Spectrom. 2000;35(4):566-71.
79. Shen J, Sun B, Yu C, Cao Y, Cai C, Yao J. Choline and methionine regulate lipid metabolism via the AMPK signaling pathway in hepatocytes exposed to high concentrations of nonesterified fatty acids. J Cell Biochem. 2020;121(8-9):3667-78.
80. Vettore LA, Westbrook RL, Tennant DA. Proline metabolism and redox; maintaining a balance in health and disease. Amino Acids. 2021;53(12):1779-88.
81. Remko M, Fitz D, Broer R, Rode BM. Effect of metal Ions (Ni 2+, Cu 2+ and Zn 2+) and water coordination on the structure of L-phenylalanine, L-tyrosine, L-tryptophan and their zwitterionic forms. Journal of Molecular Modeling. 2011;17:3117-28.
82. Bloemendaal M, Froböse MI, Wegman J, Zandbelt BB, van de Rest O, Cools R, et al. Neuro-Cognitive Effects of Acute Tyrosine Administration on Reactive and Proactive Response Inhibition in Healthy Older Adults. eNeuro. 2018;5(2).
83. Öztürk ME, Yabancı Ayhan N. Triptofan ve sağlık. 2020.
84. Schell MJ. The N–methyl D–aspartate receptor glycine site and D–serine metabolism: an evolutionary perspective. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences. 2004;359(1446):943-64.
85. Guevara CM, Mani AR. The role of D-serine in peripheral tissues. European journal of pharmacology. 2016;780:216-23.
86. Jakubke H, Jeschkeit H. Aminosäuren, Peptide, Proteine. Verlag Chemie. Weinheim; 1982.
87. Zhu W, Radadiya A, Bisson C, Wenzel S, Nordin BE, Martínez-Márquez F, et al. High-resolution crystal structure of human asparagine synthetase enables analysis of inhibitor binding and selectivity. Communications biology. 2019;2(1):345.
88. Legault Z, Bagnall N, Kimmerly DS. The influence of oral L-glutamine supplementation on muscle strength recovery and soreness following unilateral knee extension eccentric exercise. International journal of sport nutrition and exercise metabolism. 2015;25(5):417-26.
89. D'Aniello A. D-Aspartic acid: an endogenous amino acid with an important neuroendocrine role. Brain research reviews. 2007;53(2):215-34.

90. Meldrum BS. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. The Journal of nutrition. 2000;130(4):1007S-15S.
91. Rutten EP, Engelen MP, Wouters EF, Schols AM, Deutz NE. Metabolic effects of glutamine and glutamate ingestion in healthy subjects and in persons with chronic obstructive pulmonary disease. The American journal of clinical nutrition. 2006;83(1):115-23.
92. Zhuo M. Ionotropic glutamate receptors contribute to pain transmission and chronic pain. Neuropharmacology. 2017;112:228-34.
93. Peterson JW, Boldogh I, Popov VL, Saini SS, Chopra AK. Anti-inflammatory and antisecretory potential of histidine in Salmonella-challenged mouse small intestine. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 1998;78(5):523-34.
94. Matarredona ER, Murillo-Carretero M, Moreno-López B, Estrada C. Nitric oxide synthesis inhibition increases proliferation of neural precursors isolated from the postnatal mouse subventricular zone. Brain research. 2004;995(2):274-84.
95. Calabrese V, Mancuso C, Calvani M, Rizzarelli E, Butterfield DA, Giuffrida Stella AM. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. Nature reviews neuroscience. 2007;8(10):766-75.
96. Pieper GM. Review of alterations in endothelial nitric oxide production in diabetes: protective role of arginine on endothelial dysfunction. Hypertension. 1998;31(5):1047-60.
97. Kirk SJ, Barbul A. Role of arginine in trauma, sepsis, and immunity. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition. 1990;14(5, Supplement).
98. Flodin NW. The metabolic roles, pharmacology, and toxicology of lysine. Journal of the American College of Nutrition. 1997;16(1):7-21.
99. Carter BW, Chicoine LG, Nelin LD. L-lysine decreases nitric oxide production and increases vascular resistance in lungs isolated from lipopolysaccharide-treated neonatal pigs. Pediatric research. 2004;55(6):979-87.
100. Pedrazini MC, da Silva MH, Groppo FC. L-lysine: Its antagonism with L-arginine in controlling viral infection. Narrative literature review. British Journal of Clinical Pharmacology. 2022;88(11):4708-23.
101. Kuruoglu T, Sensoy L, Atilla A, Temocin F, Gur D, Tanyel E. Evaluation of risk factors for the development of bacteremia and complications in patients with brucellosis: Is it possible to predict the clinical course? The Journal of Infection in Developing Countries. 2023;17(09):1277-84.
102. Tao Z, Chen Q, Chen Y, Li Y, Mu D, Yang H, et al. Epidemiological Characteristics of Human Brucellosis - China, 2016-2019. China CDC Wkly. 2021;3(6):114-9.
103. Liu Z, Shen T, Wei D, Yu Y, Huang D, Guan P. Analysis of the epidemiological, clinical characteristics, treatment and prognosis of human brucellosis during 2014–2018 in Huludao, China. Infection and drug resistance. 2020:435-45.
104. Kassiri H, Amani H, Lotfi M. Epidemiological, laboratory, diagnostic and public health aspects of human brucellosis in western Iran. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. 2013;3(8):589-94.
105. Rodríguez-Alonso B, Almeida H, Alonso-Sardón M, Velasco-Tirado V, Romero-Alegria Á, Pardo-Lledias J, et al. Epidemiological assessment of 5598 brucellosis inpatients in Spain (1997–2015). Epidemiology & Infection. 2021;149:e149.

106. Ali S, Nawaz Z, Akhtar A, Aslam R, Zahoor MA, Ashraf M. Epidemiological investigation of human brucellosis in Pakistan. Jundishapur Journal of Microbiology. 2018;11(7).
107. Abdalla AS. Socio-demography characteristics and prevalence of brucellosis among community members in Kenya. a case of Mandera East Sub-County, Mandera County, Kenya. Int J Healthcare Med Sci. 2019;511:59-65.
108. Akhvlediani T, Clark DV, Chubabria G, Zenaishvili O, Hepburn MJ. The changing pattern of human brucellosis: clinical manifestations, epidemiology, and treatment outcomes over three decades in Georgia. BMC infectious diseases. 2010;10:1-9.
109. Akpınar O, Kılıç H. Bruselloz: 382 olgunun geriye dönük irdelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2012;3(3):108-13.
110. Kış TT, Kış M, Köse Ş. 111 Bruselloz olgusunun etyoloji, klinik seyir ve komplikasyonlarının değerlendirilmesi; bir retrospektif çalışma. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2020;13(3):339-47.
111. Güler M, Avcı M, Gökgöz A. Doksan Altı Bruselloz Olgusu: Retrospektif Bir Değerlendirme. Klimik Journal/Klimik Dergisi. 2019;32(2).
112. Varikkodan I, Naushad VA, Purayil NK, Zahid M, Sirajudeen J, Ambra N, et al. Demographic characteristics, laboratory features and complications in 346 cases of brucellosis: A retrospective study from Qatar. IJID regions. 2024;10:18-23.
113. Al Dahouk S, Neubauer H, Hensel A, Schöneberg I, Nöckler K, Alpers K, et al. Changing epidemiology of human brucellosis, Germany, 1962–2005. Emerging infectious diseases. 2007;13(12):1895.
114. Gündem NS, Kalem F. Bruselloz şüpheli olgularda Rose Bengal, Standart Tüp Aglütinasyon ve Brucellacapt Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Genel Tıp Dergisi. 2015;25(2):46-51.
115. Mehli M, Karslıgil T, Gayyurhan ED, Akın FEÖ. The relationship between standard tube agglutination titres and the Rose Bengal test results with biochemical parameters in brucellosis. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2008;38:16-22.
116. Turken M, Pamukcuoglu S, KARAKEÇİLİ F, Tunca B, Celik D, Kose Ş. Evaluation of Laboratory, Clinical and Treatment Results in Patients with Uncomplicated Brucellosis. FLORA INFEKSIYON HASTALIKLARI VE KLINIK MIKROBIYOLOJI DERGISI. 2020;25(1).
117. Yang J, He J, Cao H, Zhao X, Fu S, Lu H, et al. Correlation between plasma amino acid profiles and the various stages of hepatitis B infection. European journal of clinical microbiology & infectious diseases. 2012;31:2045-52.
118. Ikeda H. Plasma amino acid levels in individuals with bacterial pneumonia and healthy controls. Clinical Nutrition ESPEN. 2021;44:204-10.
119. Su L, Li H, Xie A, Liu D, Rao W, Lan L, et al. Dynamic changes in amino acid concentration profiles in patients with sepsis. PloS one. 2015;10(4):e0121933.
120. Amalia F, Syamsunarno MRA, Triatin RD, Fatimah SN, Chaidir L, Achmad TH. The role of amino acids in tuberculosis infection: a literature review. Metabolites. 2022;12(10):933.
121. Blohmke CJ, Darton TC, Jones C, Suarez NM, Waddington CS, Angus B, et al. Interferon-driven alterations of the host's amino acid metabolism in the pathogenesis of typhoid fever. The Journal of experimental medicine. 2016;213(6):1061.

122. Wang L, Hou Y, Yuan H, Chen H. The role of tryptophan in Chlamydia trachomatis persistence. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2022;12:931653.
123. Guzelcicek A, Bayraktar N, Bayraktar M. Amino Acids Profile in Children with Acute Brucellosis. Current Pediatric Reviews. 2024;20(2):188-93.
124. Raouf AA, El-Fert AY, El-Hamead A, Ayman K, El-Sebaey HM, El-Gendy YE. Plasma free amino acid profile changes in hepatocellular carcinoma patients. Menoufia medical journal. 2016;29(4):895-903.
125. Sieira R, Arocena GM, Bukata L, Comerci DJ, Ugalde RA. Metabolic control of virulence genes in Brucella abortus: HutC coordinates virB expression and the histidine utilization pathway by direct binding to both promoters. J Bacteriol. 2010;192(1):217-24.
126. Lonergan ZR, Palmer LD, Skaar EP. Histidine utilization is a critical determinant of Acinetobacter pathogenesis. Infection and Immunity. 2020;88(7):10.1128/iai. 00118-20.
127. Yang C, Wang N, Wang K, Huang Z, Lin H, Zhang L, et al. Effects and Mechanisms of Exogenous GABA Against Oxidative Stress in Piglets. Scientia Agricultura Sinica. 2022;55(17):3437-49.
128. Bhandage AK, Barragan A. GABAergic signaling by cells of the immune system: more the rule than the exception. Cell Mol Life Sci. 2021;78(15):5667-79.
129. Stout JR, Graves BS, Smith AE, Hartman MJ, Cramer JT, Beck TW, et al. The effect of beta-alanine supplementation on neuromuscular fatigue in elderly (55–92 years): a double-blind randomized study. Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2008;5:1-6.

EKLER

EK-1. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Sizi "Bruselloz Hastalarında Plazma Aminoasit Profilindeki Değişikliklerin Hastalığın Seyri Üzerine Etkisinin Araştırılması" amacı olan **araştırmaya** davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz.

Bu çalışmaya katılmak tamamen **gönüllülük** esasına dayanmaktadır. Çalışmaya **katılmama** veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan **çıkma** hakkında sahipsiniz.

Çalışma için verdiğiniz yanıtlar, araştırmaya katılım için onam verdiğiniz biçiminde yorumlanacaktır. Sizden elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacaktır.

Çalışmanın Adı: Bruselloz Hastalarında Plazma Aminoasit Profilindeki Değişikliklerin Hastalığın Seyri Üzerine Etkisinin Araştırılması

Amacı: Bu çalışma bruselloz hastalarında kandaki aminoaistlerin düzeyinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır. Kandaki aminoasit düzeylerindeki değişimlerin bruselloz hastalarında görülen klinik ile ilişkili olup olmadığını belirlemek hedeflenmiştir. Hastalık hakkında faydalı olacak bilgilerin elde edilmesi daha sonraki hastalara faydalı olmak, yeni tedaviler geliştirmek için önem arz etmektedir.

Metod: Araştırmaya katılan gönüllülerden sadece 1 kez kan alınacaktır. Alınan kanın plazmasından aminoasitler elde edilecektir. Bu aminoasitlerin düzeylerinin bruselloz hastalarında nasıl değiştiği yorumlanacaktır. Çalışmalar Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanemiz laboratuvarları ve üniversitemiz bünyesindeki Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)' da yapılacaktır.

Gönüllünün araştırmaya katılacağı süre: Kan alma süresi bir- iki dakika

Karşılaşılabilecek güçlükler: Kan alma sırasında acıma ve o bölgede morarma görülebilir.

Kişi veya kişiler için araştırmadan beklenilen tıbbi yarar: Bu araştırmada şu anda takip edilen hastalardan ziyade sonraki hastalar için ülkemizde sık görülen bu hastalık için ülkemize ait yeni bilgilerin oluşması, bu çalışmadan çıkarılan sonuçların

hastalığın tanı ve destek tedavilerini geliştirme konusunda da başka insanların yararına kullanılabilecek olması yönüyle fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Muhtemel zarar durumunda gönüllünün veya yakının bilgi için ilişki kuracağı kişinin ismi: Hastadan kan alan kişiye numaralı telefondan başvurabilirsiniz.

• Gönüllü araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahiptir.

• Gönüllünün kendi rızasına bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabileceğinin bildirilir.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce katılımcıya/gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. **Çalışma hakkında yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı, soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı.** Bu çalışmayı istediğim zaman ve herhangi bir neden belirtmek zorunda kalmadan bırakabileceğimi ve bıraktığım takdirde herhangi bir olumsuzluk ile karşılaşmayacağımı anladım. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya kendi isteğimle, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Katılımcının;
Adı-Soyadı:
İmzası:
Telefon no:
Adresi (varsa, faks no.):

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasisinin;
Adı-Soyadı:
İmzası:
Telefon no:
Adresi (varsa, faks no.):

Açıklamaları yapan araştırmacının
Adı-Soyadı:
İmzası:

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin
Adı-Soyadı:
İmzası: