

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İMMÜN YANITI YÖNLENDİREN sTREM-1, sHLA-G5 ve HLA-
DR FAKTÖRLERİNİN AKUT BRUSELLOZLU
HASTALARDAKİ DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. SERHAT MURAT HOPOĞLU
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ÜNER KAYABAŞ

MALATYA-2014

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İMMÜN YANITI YÖNLENDİREN sTREM-1, sHLA-G5 ve HLA-
DR FAKTÖRLERİNİN AKUT BRUSELLOZLU
HASTALARDAKİ DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. SERHAT MURAT HOPOĞLU
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ÜNER KAYABAŞ

Bu tez İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2011/176 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimi hazırlama aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana destek olan tez hocam Sayın Doç. Dr. Üner KAYABAŞ'a, uzmanlık eğitimime katkıda bulunan Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR'a, Sayın Prof. Dr. Yasemin ERSOY'a, Sayın Doç. Dr. Funda YETKİN'e, tezimin planlanmasından tamamlanmasına kadar geçen aşamada verdikleri destek için Sayın Doç. Dr. Başak KAYHAN'a, istatistiksel analiz konusunda yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı araştırma görevlisi Uzm. Bio. Elçin Latife KURTOĞLU'na, tezim için hasta bulma konusunda yardımlarından dolayı Malatya Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nden Uzm. Dr. Sibel TOPLU, Uzm. Dr. Özlem ÇAĞAŞAR'a, Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Servet KÖLGELİER ve Adıyaman Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nden Uzm. Dr. Selçuk AKSÖZ'e, bu zorlu süreci birlikte yol aldığımız sevgili çalışma arkadaşlarıma ve bölümümüz hemşire ve diğer çalışanlarına, emek ve destekleri için kıymetli annem Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanı Uzm. Dr. Gülen HOPOĞLU'na ve güzide aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Serhat Murat HOPOĞLU

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar DİZİNİ	iv
GRAFİKLER DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Bruselloz.....	4
2.1.1. Tarihçe.....	4
2.1.2. Etken.....	5
2.1.3. Epidemiyoloji.....	6
2.1.4. Patogenez.....	8
2.1.5. Klinik Belirti ve Bulgular.....	10
2.1.5.1. Subklinik veya Asemptomatik Enfeksiyon.....	10
2.1.5.2. Akut Form.....	10
2.1.5.3. Subakut Form.....	10
2.1.5.4. Kronik Form.....	11
2.1.6. Komplikasyonlar.....	11
2.1.6.1. İskelet Sistemi.....	11
2.1.6.2. Sinir Sistemi.....	12
2.1.6.3. Kardiyovasküler Sistem.....	12
2.1.6.4. Gastrointestinal Sistem.....	12
2.1.6.5. Hematopoetik Sistem.....	12
2.1.6.6. Genitoüriner Sistem.....	13
2.1.6.7. Diğer Sistemler.....	13
2.1.7. Tanı.....	13
2.1.7.1. Kültür.....	12
2.1.7.2. Serolojik Tanı.....	14
2.1.7.3. Moleküler Tanı.....	16
2.1.8. Tedavi.....	17
2.2. İnsan Lökosit Antijenleri [“Human Leukocyte Antigens” (HLA)]....	19

2.3. Myeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör ["The triggering receptor expressed on myeloid cells"(TREM)].....	23
3. MATERYAL ve METOD.....	25
3.1. Akut Bruselloz Tanısı.....	25
3.2. Hasta Seçimi.....	25
3.3. Kontrol Grubu.....	26
3.4. Brusella tüp aglütinasyonu ve kan kültürü çalışılması.....	26
3.5. Periferik Kanda İmmünofenotipleme ve sHLA-G ve sTREM-1 düzeyinin saptanması.....	26
3.5.1. Heparinize periferik kan örneklerinde, lenfosit izolasyonu sonrası ya da direkt periferik kandan akım sitometri yöntemi ile lenfosit-monosit-granülosit oranları.....	26
3.5.2. Serum örneklerinde sTREM-1 düzeyi ölçümü.....	27
3.5.3. Serum örneklerinde sHLA-G düzeyi ölçümü.....	27
3.6. Verilerin Değerlendirilmesi.....	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇLAR.....	47
7. ÖZET.....	49
8. SUMMARY.....	51
9. KAYNAKLAR.....	53
10. EKLER.....	74
10.1. Ek-1 Hasta Formu.....	74

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamasına göre dağılımı.....	29
Tablo 2. Hastaların brusella aglütinasyon titrelerinin ve kültür pozitifliğinin dağılımı.....	29
Tablo 3. Akut brusellozlu hastalarda görülen semptomların dağılımı.....	30
Tablo 4. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 ve sHLA-G düzeyleri.....	30
Tablo 5. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun kan lökosit gruplarının dağılımı.....	32
Tablo 6. Hastaların bazı immünolojik parametrelerinin korelasyonu.....	41

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 düzeyleri.....	51
Grafik 2. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun sHLA-G düzeyleri.....	51
Grafik 3. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama lenfosit ve granülosit düzeyleri.....	33
Grafik 4. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama CD4 ⁺ ve CD8 ⁺ T-lenfosit düzeyleri.....	33
Grafik 5. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama CD14 ⁺ ve CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ monosit düzeyleri.....	33
Grafik 6. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama NK ve NK-T hücreleri düzeyleri.....	34
Grafik 7. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama CD3 ⁺ , CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ T-lenfosit ve CD19 ⁺ B-lenfosit düzeyleri.....	34
Grafik 8. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün ve akut brusellozlu bir hastanın periferik kan mononükleer hücrelerinin dağılımını gösteren akım sitometri görüntüsü.	35
Grafik 9. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün ve akut brusellozlu bir hastanın periferik kan mononükleer hücrelerinde CD14 ⁺ monosit oranını ve CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ hücre dağılımını gösteren akım sitometri görüntüsü.....	35
Grafik 10. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün ve akut brusellozlu bir hastanın periferik kan hücrelerinde CD3 ⁺ T-lenfosit ve CD19 ⁺ B-lenfosit hücre dağılımını gösteren temsili akım sitometri görüntüsü.....	37
Grafik 11. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün ve akut brusellozlu bir hastanın periferik kan hücrelerinde aktive olmuş T-lenfositlerin (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺) dağılımını gösteren akım sitometri görüntüsü... ..	38
Grafik 12. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün ve akut brusellozlu bir hastanın periferik kan mononükleer hücrelerinde yardımcı T-lenfosit (CD3 ⁺ CD4 ⁺) ve sitotoksik T-lenfosit (CD3 ⁺ CD8 ⁺) hücre gruplarının dağılımını gösteren akım sitometri görüntüsü..	39

Grafik 13 . Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün ve akut brusellozlu bir hastanın periferik kan mononükleer hücrelerinde NK ($CD3^- CD16^+56^+$) ve NK-T ($CD3^+CD16^+56^+$) hücre gruplarının dağılımını gösteren akım sitometri görüntüsü..... 40

SİMGELER ve KISALTMALAR

BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
camp	: Siklik Adenozin Monofosfat
CMV	: “Cytomegalovirus” (Sitomegalovirüs)
CO₂	: Karbondioksit
DH	: Dendritik hücreler
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: “Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay”
FITC	: “Fluorescein Isothiocyanate”
FPA	: “Floresan Polarisation Immunoassay”
HIV	: “Human Immunodeficiency Virus” (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)
HLA	: “Human Leukocyte Antigen” (İnsan Lökosit Antijen)
H₂S	: Hidrojen Sülfür
IFN-γ	: İnterferon Gama
IgG	: İmmünglobulin G
IgM	: İmmünglobulin M
IL-2	: İnterlökin-2
IL-6	: İnterlökin-6
IL-10	: İnterlökin-10
IL-12	: İnterlökin-12
KCl	: Potasyum Klorür
KH₂PO₄	: Potasyum Hidrojen Fosfat
LFA	: “Lateral Flow Assay”
LPS	: Lipopolisakkarit
MHC	: “Major Histocompatibility Complex” (Majör Doku Uyumluluk Kompleksi)
NaCl	: Sodyum Klorür
Na₂HPO₄	: Disodyum Hidrojen Fosfat
NK	: “Natural Killer” (Doğal Öldürücü)
Omp	: “Outer Membrane Protein” (Dış Membran Proteini)

PBS	: “Phosphate Buffered Solution”
PCR	: “Polymerase Chain Reaction” (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
Pe	: “Phycoerythrin”
R	: “Rough” tipi suş
RNA	: Ribo Nükleik Asit
S	: “Smooth” tipi suş
Th	: “T helper” (Yardımcı T hücreleri)
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TREM	: “Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells” (Myeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör)
SPSS	: “Statistical Package for the Social Sciences” (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi)
2-ME	: 2- merkaptoetanol

1. GİRİŞ

Bruselloz, *Brucella* cinsi bakteriler tarafından oluşturulan, dünya çapında yaygın, ülkemizde sık görülen bir zoonozdur. *Brucella* türleri 0.6-1.5 µm boyunda küçük, hareketsiz, sporsuz, aerob/mikroaerofil, gram negatif boyanan kokobasillerdir. Üç ana bulaş yolu; sindirim sistemi, enfekte dokularla direkt temas ve inhalasyondur. Ülkemizde en sık çiğ süttten yapılmış peynir, krema ve yağ tüketimi ile bulaşır. Her yaş ve cinsiyette görülebilmekle beraber, en sık 15-35 yaş arasında görülür (1).

Tarım ve hayvancılığın yaygın geçim kaynağı olduğu ülkemizde, bruselloz, hem insanlar hem de hayvanlar için önemli bir sağlık sorununu oluşturmaktadır. Bruselloz, mortalitesi düşük, morbiditesi yüksek zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalığın mortalitesinin düşük olmasına karşın, semptomların birçok hastalığı taklit etmesi nedeniyle tanının güç konabilmesi, tedavisinin uzun sürmesi ve kronikleşme özelliği gösterebilmesi hastalığın önemini artırmaktadır. Hastalık, insanlarda neden olduğu morbiditenin yol açtığı iş gücü kaybı ve tedavi giderleri; hayvanlarda ise verim düşüklüğü nedeniyle önemli bir ekonomik kayıp nedenidir (2).

Brucella bakterisi konakta birçok organı etkileyebilme yeteneğine sahip olduğu için, hastalık çeşitli semptom ve bulgularla seyretmektedir. İnkübasyon süresi 1-5 haftadır. Bu süreyi takiben ateş, üşüme, titreme, halsizlik, kas ağrısı, eklem ağrısı, baş ağrısı gibi özgül olmayan semptomlar ortaya çıkar. Subklinik veya asemptomatik enfeksiyon, akut enfeksiyon, subakut enfeksiyon, kronik enfeksiyon, lokalize enfeksiyon olmak üzere beş klinik formu vardır (1).

Çoğaldığı dokularda oluşturduğu mikroapseler, granülom odakları hastalığın kronikleşmesinde ve relapsında önemli rol oynar (1).

Bruselloz tanısı, kan, kemik iliği, karaciğer, lenf nodu, beyin omurilik sıvısı (BOS), sinoviyal sıvı, prostatik sıvı veya diğer klinik örneklerden mikroorganizmanın izolasyonu ve/veya klinik bulgular varlığında serolojik testlerin pozitifliği ile konulur (1).

Bruselloz tanısında yaşanan bazı zorluklar, tedavide de yaşanmaktadır. Tedaviye rağmen hastalık % 10 civarında nüks edebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2006 yılında erişkinlerde komplike olmayan olgularda ve sekiz yaş üzerindeki çocuklarda bruselloz tedavisini doksisisiklin 200 mg/gün 6 hafta ve streptomisin 1 gr/gün 2-3 hafta veya doksisisiklin 200 mg/gün 6 hafta ve rifampisin 600-900 mg/gün 6 hafta şeklinde önermiştir. Özellikle spondiliti olan hastalarda streptomisinli kombinasyonun daha etkin olduğu bildirilmiştir (3).

İnsanlarda brusellozun önlenmesi evcil hayvanlarda brusellozun eradikasyonu ve kontrolüne bağlıdır. Bu açıdan veteriner hekimler ve doktorlar işbirliği içinde çalışmalıdır. En sık bulaş yolu olan çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimi önlenmelidir (1).

Brucella türleri, yerleştiği hücrenin canlılığını etkilemeksizin replike olur, patojen hücre apoptozunu engeller ve böylece kendi yaşamını da uzatır. Brusellozda enfeksiyonun kontrolü asıl olarak hücresel aracılı immün yanıt tarafından düzenlenen CD4⁺ ve CD8⁺T-lenfositler ve antijen sunan hücrelerin aktivasyonu ile düzenlenmektedir (4). İnsan Lökosit Antijeni ["Human Leukocyte Antigen"(HLA)] G dört membrana bağlı (HLA-G1, -G2, -G3 ve G4) ve üç çözünebilir (HLA-G5, -G6 ve -G7) izoform içeren farklı ekleme varyantı olarak ifade edilir. İmmün hücrelerdeki bilinen HLA-G reseptörleri inhibitör reseptörlerdir ve HLA-G'nin bilinen fonksiyonlarının çoğu inhibitördür ve immün inhibisyon ve tolerans doğrultusunda yönlendirilir (5). Myeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör-1 ["Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells" (TREM-1)] nötrofillerde ve monositlerde ifade edilen aktive edici bir reseptördür. Hücre membranının yüzeyindeki TREM-1'in bağlanması sitokin üretimi,

nötrofillerin degranülasyonu ve fagositoz gibi inflamatuvar etkilerle sonuçlanan hücre içi olaylar kaskadının aktivasyonuna yol açar (6).

İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi (Proje no: 2011/176) tarafından desteklenen bu çalışmada, akut brusellozlu hastalarda periferik kanda immünofenotipleme ve periferik kandan serumda “Enzyme Linked Immunosorbent Assay” (ELISA) kullanılarak immün yanıtı yönlendiren çözünebilir HLA-G5 (sHLA-G5) ve çözünebilir TREM-1 (sTREM-1) düzeylerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bruselloz

Bruselloz, *Brucella* cinsi bakterilerin oluşturduğu koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi hayvanların etleri, süt, idrar gibi vücut sıvıları, enfekte süt ile hazırlanan süt ürünleri, enfekte hayvanın gebelik materyali ile bulaşır.

Kliniğinde titreme ile yükselen ateş, kas ve büyük eklem ağrılarının görüldüğü farklı klinik tabloları taklit edebilen; dünya çapında yaygın zoonotik bir hastalıktır ve bazı gelişmekte olan ülkelerde hala endemik olmaya devam etmektedir (4, 7).

Hastalık 'Ondülan ateş', 'Akdeniz ateşi', 'Malta ateşi' olarak da bilinmektedir (7-9).

2.1.1. Tarihçe

Hastalık ilk olarak 1860 yılında Marston tarafından tanımlanmıştır. Sorumlu mikroorganizma 1887'de David Bruce tarafından izole edilmiştir (4). Veteriner hekim Bang 1895'de sığırlardan *Brucella abortus*'u, 1914'de Traum domuzlardan *Brucella suis*'i, 1966'da Carmichael köpeklerinden *Brucella canis*'i izole etmiştir (7, 9, 10). *Brucella ovis* koyunlardan, *B. neotomae* ise çöl farelerinden izole edilmiştir (4).

Son zamanlarda deniz memelilerinden geçici olarak *Brucella maris* ismi verilen farklı bir *Brucella* suşu izole edilmiştir (4, 11).

Ülkemizde *Brucella* bakterisi ilk defa 1. Dünya Savaşı sırasında Ord. Prof. Dr. Abdülkadir Noyan tarafından izole edilmiştir (1, 7, 12).

2.1.2. Etken

Brucella türleri gram negatif kokobasil yapısında, hareketsiz, aerobik/mikroaerofil mikroorganizmalardır. Bakterinin kapsül, spor veya flajellası yoktur. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan besiyerlerinde iyi üremezler. Üreme en iyi triptaz soy agar, *Brucella* agar veya 37°C'de serum dekstroz agarda, özellikle bifazik kültür sisteminde olur. *Brucella abortus* ve *B. suis* özellikle primer izolasyon için CO₂'ye ihtiyaç duyar (4).

Brucella bakterileri besiyerlerinde şeffaf, küçük, şebnem tanesi gibi "Smooth" (S) koloniler yaparlar. Kolonileri pigmentsiz ve hemolizsizdir. *Brucella ovis* ve *B. canis* "Rough" (R) tipi koloni yapar (1, 8, 13, 14). *Brucella* türlerinin hepsi katalaz pozitifdir. *Brucella ovis* ve *B. neotomae* hariç hepsi oksidaz pozitifdir. H₂S ve üreaz aktiviteleri değişkendir (1, 8, 10).

Brucella'nın hücre duvarında pilus, fimbriya ve kapsül gibi yapıları bulunmaz. Dış membranında lipopolisakkarit (LPS) ve dış membran proteini (DMP) içerirler. *Brucella*'nın LPS tabakasında somatik M, A ve yüzeyel L antijenleri bulunur. *B. abortus* ve *B. suis*'de A antijeni fazla, M antijeni az bulunurken, *B. melitensis*'te M antijeni fazla, A antijeni azdır (1, 13-16).

Brucella bakterisinin asıl virülan ve immüno-dominant antijeni S suşlarının lipopolisakkarit (S-LPS) yapısıdır. "Rough" tipi suşlarda virülans azalmıştır. Doğal R formundaki türler (*B. canis* ve *B. ovis*) konak savunmasına karşı daha dirençsizdir (1, 10, 17). Bu fenomen O polisakkaritin ve yapısal olarak bununla ilişkili doğal haptenin *Brucella* bakterisinin hücrelere invazyon ve virülansını belirlemede önemli yeri olduğunu gösterir. Kısa bir süre önce bu bakterinin virülans ilişkili düzenleyicisi veya sensör sistemi tanımlanmıştır (1, 4, 10, 17, 18).

Genomunun ortalama büyüklüğü 2.37x10⁹ daltondur. DNA guanin + sitozin içeriği %58-59 mol'dür. Bütün *Brucella* türleri %95 DNA homolojisi gösterir. *Brucella* genomu 2.1 ve 1.5 megabaz büyüklüğünde iki halkasal kromozom içerir. *Brucella* türlerinde doğal plazmidler saptanmamıştır (1, 9, 17, 18).

2.1.3. Epidemiyoloji

Brucella spp. birçok hayvan türünü ve insanları enfekte edebilir. Evcil hayvanlar rezervuar görevi görmektedir. Dünya çapında ana patojenik tür olan *B. abortus* büyükbaş hayvan brusellozundan sorumludur. *Brucella melitensis* küçükbaş hayvan ve keçi brusellozunun esas etiyolojik ajanıdır. *Brucella suis* ise sadece domuzlarla sınırlı değil geniş bir konak aralığı vardır ve biovar 2 dışında bütün suşlar insanlar için patojendir. Bu üç *Brucella* türü büyük ekonomik kayıplarla sonuçlanan kendi doğal konaklarında düşüklere neden olur. *Brucella melitensis* en virülan türdür. *Brucella canis* ara sıra insanlarda hastalığa yol açar. *Brucella maris* deniz memelilerinden izole edilmiştir (4, 11, 19-21). Bir deniz izolatu ile enfekte sadece iki insan olgusu rapor edilmiştir (4, 22).

Hasta hayvanlar *Brucella*'yı idrar, süt, plasenta ve düşük materyalleri yolu ile yayarlar. Bu yolla diğer hayvanları ve insanları enfekte ederler. *Brucella* türlerinin hayvanlar dışındaki sağ kalımı değişkendir. Nemli toprakta, gübrede hayatta kalma süresi 70-80 gün olarak rapor edilmiştir. Çamurda *Brucella*'nın sağ kalımı ortam nem oranına bağlı olarak 15-40 gün arasında değişmektedir (4, 23). Bu nedenle bruselloz çiftçiler, veterinerler, mezbaha çalışanları ve laboratuvar personeli için mesleki bir risktir (4, 20, 21, 24).

Enfeksiyonun insanlara bulaşı enfekte hayvanların sekresyonlarının ciltteki kesik ve çiziklerle direkt teması, enfekte aerosollerin inhalasyonu veya gözlerde konjunktivaya inokülasyonu ve pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile olmaktadır (4, 19-21, 23, 24).

Süt *Brucella* türlerinin bulaşmasından sorumlu ana gıdadır. Özellikle Suudi Arabistan ve diğer Arap ülkeleri gibi bruselloz insidansının yüksek olduğu yerlerde geleneksel olarak hayvansal taze çiğ süt tüketimi yaygındır (4, 24). Taze peynirin değişik çeşitleri, özellikle keçi ve koyun peynirleri insan brusellozundan sorumlu ana gıda maddeleridir. Macun formunda konserve edilen peynirlerdeki *Brucella* ortalama 20 gün bazen 3 aydan fazla hayatta kalır. Et ürünleri nadiren enfeksiyon kaynağıdır, çünkü et ürünleri genellikle çiğ yenmez ve kas dokusundaki organizma sayısı düşüktür (4, 21, 23). İnsan brusellozundan korunmak için hayvan brusellozunun kontrolü ve pastörize süt ve süt ürünlerinin kullanımı önemlidir.

Laboratuar çalışanlarının *Brucella* kültürleri ile çalışırken kazalar, aerosoller ve yetersiz laboratuar önlemleri nedeniyle enfekte olma riskleri yüksektir (4, 24, 25).

İnsan brusellozu herhangi bir yaş grubunda gelişebilir, fakat vakaların çoğu 20-40 yaşları arasındaki genç erkeklerdir. Bu genel olarak genç erkeklerdeki mesleki risklerle ilişkilidir (4, 21, 26-29). Endemik bölgelerde yaşayan, altta yatan bir hastalığı olan [“Human Immunodeficiency Virus” İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) enfeksiyonu, kronik böbrek veya karaciğer hastalığı] bütün insanlar brusellozun kazanımında sağlıklı insanlar ile aynı riske sahiptir (4, 30-32).

İnsandan insana bulaş nadirdir. Bununla birlikte kan transfüzyonu, kemik iliği nakli ve seksüel geçişe bağlı nadir vakalar bildirilmiştir (4, 33-36).

İnsan brusellozunun gerçek insidansı bilinmemektedir. Dünya Sağlık Örgütü, her yıl dünya çapında 500.000 bruselloz olgusu rapor edildiğini bildirmektedir. Hastalığın rapor edilen insidansı ve prevalansı ülkeden ülkeye oldukça değişkenlik göstermektedir. *Brucella melitensis* Latin Amerika, Akdeniz ülkeleri ve gelişmekte olan ülkelerde daha yaygın iken, *B. abortus* ABD ve Kuzey Avrupa’da daha baskındır. Peru, Kuveyt ve Suudi Arabistan gibi bazı bölgeler bruselloz için hiperendemiktir. Malta ve Umman’da brusellozun tekrar görüldüğü rapor edilmiştir (4, 16, 19, 24). Türkiye de brusellozun endemik olduğu ülkelerden biridir. Sağlık Bakanlığı’na 1999’da 11.462 vaka bildirilmiştir, insidans hızı 17.41/100000 olmuştur (37). İki bin altı yılında Türkiye’de 10.810 bruselloz vakası bildirim yapılmıştır. Bu vakaların morbidite hızı 16.43/100.000, mortalite hızı ise 0.05/1.000.000 olarak saptanmıştır (38). Türkiye’de yapılan çok merkezli bir seroprevalans çalışmasında sağlıklı popülasyonda seropozitiflik oranı %1.8 ve yüksek mesleki riskli (veterinerler, mezbahe çalışanları, kasaplar vs.) grupta %6 olarak bulunmuştur (4, 39). Suudi Arabistan’dan bir seroprevalans çalışmasında bruselloz için seropozitiflik oranı %15 olarak rapor edilmiştir (24). Gelişmiş bir ülke olan ABD’de bruselloz sporadiktir ve Meksika sınır bölgesinde ulusal oranlardan sekiz kat daha fazladır. Bu sınır bölgesinde epidemiyoloji de hayvan teması ile ilişkili mesleksel bir hastalıktan, pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketimi ile ilişkili besin kaynaklı bir hastalığa dönüşmüştür (4, 40).

2.1.4. Patogenez

Brucella spp. insanlar ve hayvanların patojenik bakterileridir ve konaklarına son derece iyi adapte olurlar. Bunlar retiküloendotelial sistem hücreleri içinde hayatta kalan ve çoğalan, dış ortamda uzun süre hayatta kalamayan, fakültatif intraselüler patojenlerdir. Bakteriler vücuda sindirim, inhalasyon, sağlam deriden penetrasyon, çizikler veya konjunktival mukoza yolu ile girebilir (11, 19-21, 23, 24). Gastrik sıvının düşük pH'sı oral enfeksiyona karşı biraz koruma sağlar. Antiasit veya H₂ reseptör blokerleri bruselloza duyarlılığı artırabilir (41). Normal insan serumunun orta derecede anti-*Brucella* aktivitesi vardır ve kompleman fagositoz için organizmaları opsonize eder. İnsan nötrofilleri bazı *Brucella* suşlarını yok eder fakat *B. melitensis*'e karşı aktiviteleri yoktur (10, 42).

Virülan *Brucella* türleri fagositik ve fagositik olmayan hücrelerin ikisini birden enfekte edebilir. Konak hücrelerin intraselüler ortamı yoğun üremeyi devam ettirir, bakteriyel büyümeye ve yeni konak hücrelerine sonraki geçiş için izin verir. Diğer patojenik bakterilerin aksine *Brucella* türlerinde hiç klasik virulans faktörleri tanımlanmamıştır. Bunların yerine *Brucella spp.* virulans elementleri olarak, bunların invazyonuna izin veren, hücre içi öldürmeye direnen ve olgunlaşmış ve olgunlaşmamış fagositler içinde bunların üremesini sağlayan, hücreye ulaştıran bazı moleküler determinantlar tanımlanmıştır (17).

Hastalık sırasında *Brucella* bakterileri ilk önce mukozaya invaze olur, submukoza altındaki olgun fagositler bakteriyi içine alır. Makrofajlar ve nötrofiller fermuar benzeri fagositoz yolu ile *Brucella*'yı içine alır. Opsonize *Brucella* türleri kompleman ve Fc reseptörleri aracılığı ile makrofaj ve monositler içine alınır; oysa opsonize olmayan *Brucella* türleri lipitle taşınma yolu ile girer (17, 43-45). Rho, Rac, Cdc42 gibi Rho alt ailesinin küçük GTPaz'larının aktivasyonu *Brucella*'nın olgunlaşmamış fagositlere girişi için gereklidir (17, 43).

"Rough" tipi *Brucella*'nın hücreleri invaze etmesi S tipi *Brucella*'dan daha az etkili olmasına rağmen, hücrelere daha yüksek oranda bağlanır. Bu fenomen O-polisakarit ve yapısal olarak ilişkili doğal haptenin hücrelerin *Brucella* tarafından invazyonunda ve virulansta bir rolü olduğunu akla getirmektedir. Son yıllarda konak hücre invazyonunda rol oynayan düzenleyici iki komponentli bir sistem (*Brucella* virulans ilişkili regülatör veya sensör proteinleri-BvrR/BvrS) tanımlanmıştır (17, 18).

Virulan *Brucella* bir kez hücre içine girince bakteri kendi çoğalma yerine ulaşana kadar özgün bir yolak vasıtası ile hücrenin intraselüler trafiğini yönlendirir. Fagositler genel olarak fagolizozomlar içindeki hücre içine alınmış *Brucella*'yı öldürme eğilimindedir. Sadece hücre içine alınmış birkaç bakteri lizozom füzyonundan kaçma ve çoğalmalarının son safhasına kadar hücrenin trafiğini yönlendirme yeteneğindedir (17, 43).

Brucella genom araştırmalarında bakterinin iki kromozomu vardır ve hiç plazmidi olmadığı gösterilmiştir. Genom üç rRNA operonu içerir. İki tanesi kromozom I üzerinde, üçüncüsü kromozom II üzerindedir. Tip IV sekresyon sistemi için kromozom II'de kodalanan 12 açık okuma bölgesi vardır. *Brucella*'nın hücre içindeki biyogenezinde, otofagozom benzeri kompartmanlardan endoplazmik retikuluma intraselüler trafiğin düzenlenmesi için *Brucella* tip IV sekresyon sistemini kodlayan VirB operonu gereklidir. Bakteriyel yüzeydeki LPS molekülünün bütünlüğü de, intraselüler yaşam ve sonrasında virulans için gerekli faktörlerden biridir (46, 47).

Brucella enfeksiyonu boyunca interferon-gama (IFN- γ), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökin (IL)-2, IL-10 ve IL-12 gibi birkaç sitokin makrofajlar içindeki *Brucella* suşlarının intraselüler büyümesini kontrol eder (17).

"Smooth" suşların LPS'si muhtemelen intraselüler yaşamada majör bir rol oynamaktadır. S-LPS'nin biyolojik aktivitesi *E. coli*'nin LPS'si ile karşılaştırıldığında S-LPS'nin endotoksin duyarlı fareler, tavşanlar ve tavuk embriyoları için düşük toksisitesi, makrofajlar için düşük toksisitesi, düşük pirojenitesi ve düşük demir eksikliği indükleyici aktivitesi vardır. Bu ayrıca IFN, TNF, nitrik oksit, siklooksijenaz-2 ve kemokin kemoatraktan protein-1'in de zayıf bir indükleyicisidir (19, 48-50).

İnsanlarda *Brucella spp.* enfeksiyonu epitelooid hücreler, polimorfonükleer lökositler, lenfositler ve bazı dev hücreleri içeren granülom formasyonu ile sonuçlanır. Granülatöz cevap *B. abortus* enfeksiyonları için karakteristiktir. *B. melitensis* enfeksiyonlarında granülomlar çok küçüktür fakat sıklıkla toksemi vardır. *B. suis* enfeksiyonunda sıklıkla eklemlerde ve dalakta kronik apse formasyonu eşlik eder (10, 20, 21, 42).

Brucella spp. ile enfeksiyon humoral ve hücresel immüitenin ikisini birden indükler. Humoral antikorlar *Brucella*'ya dirençte daha az rol oynuyor gibi görünmesine rağmen, hücre aracılı immünite esas iyileşme mekanizması gibi

görülmektedir. İnsanlarda *Brucella* enfeksiyonuna antikor cevabı başlangıçta IgM sınıfı antikorların artışı takiben birkaç hafta içinde IgG antikorların baskın hale gelmesiyle karakterizedir. Tedaviden sonra IgG antikorlarda IgM antikorlardan daha hızlı bir düşüşle titreler yavaş yavaş azalır. Bazı vakalarda aktif bir enfeksiyon yokluğunda IgM antikorların düşük titreleri aylar veya yıllar boyunca kalabilir. Relaps sırasında IgG tipi antikorlarda yeniden artış saptanır (10, 20, 42, 51).

2.1.5. Klinik Belirti ve Bulgular

Bruselloz herhangi bir organ veya vücut sistemini etkileyebilen sistemik bir hastalıktır. İnkübasyon periyodu 1-5 hafta arasında değişebilir. Bruselloz asemptomatik veya semptomatik olabilir. Semptomların başlangıcı akut veya sinsidir. Hastalık semptomların uzunluğuna ve ciddiyetine göre akut (8 haftadan kısa), subakut (8-52 hafta arası) veya kronik (1 yıldan uzun) olarak sınıflandırılır. Herhangi bir organ tutulumu lokalize hastalık olarak adlandırılır. Bu, akut brusellozun bir komplikasyonu olarak görülebilir veya kronik brusellozun tek manifestasyonu olabilir (4).

2.1.5.1 Subklinik veya Asemptomatik Enfeksiyon: Bu klinik form pozitif seroloji ile tanı alır. Hastalarda hiçbir öykü, akut veya kronik hastalığın fiziksel bulguları yoktur. Daha sıklıkla çiftçiler, mezbaşa çalışanları ve veterinerlerde görülür (29, 52).

2.1.5.2 Akut Form: Bu form hastalık süresinin 8 haftadan kısa olduğu brusellozun tipik formudur (29, 52). Hemen bütün hastalarda zayıflık, halsizlik, baş ağrısı, sırt ağrısı, iştahsızlık, kilo kaybı, kas ağrısı ve eklem ağrısına eşlik eden bir ateş hikayesi vardır. Hastaların %85'den fazlasında ateş 38.5°C üzerinde ölçülür. Splenomegali ve hepatomegali vakaların %6-35'inde bulunur (10, 16, 20, 29, 53-61). Herhangi bir organ tutulumu görülebilir fakat artrit daha siktir (16, 53-59).

2.1.5.3 Subakut Form: Hastalık süresinin 8 - 52 hafta arasında olduğu klinik formdur (29, 52). Tamamlanmamış veya kısmi antibiyotik tedavisinden dolayı relaps olan hastalar ve yanlış tanıdan dolayı yetersiz antibiyotik alan

hastalar bu grupta yer alır. Klinik tablo daha değişkendir ve nedeni bilinmeyen ateşin önemli bir nedeni olabilir. Semptomlar genellikle daha hafiftir ve lokalize enfeksiyon görülebilir (20, 29).

2.1.5.4 Kronik Form: Semptomların süresi 1 yıldan uzun süren klinik formdur (29, 52). Kronik bruselloz kronik yorgunluk sendromuna benzerdir. Çocuklarda son derece nadirdir fakat yaşlılarda sıktır. Bu hastalar genellikle psikonevroz, terleme ve kilo kaybından yakınırırlar. Ateş nadirdir. Lokalize enfeksiyon görülebilir, bununla birlikte episklerit ve üveit gibi göz tutulumları sıktır (20, 60).

2.1.6. Komplikasyonlar

Bazı kaynaklar komplikasyonları lokalize enfeksiyonlar başlığı altında 5. klinik form olarak kabul eder. Organizmaların kandan izole edilmediği fakat kemik, eklemler, BOS, karaciğer, böbrekler, dalak veya cilt gibi spesifik dokularda lokalize olan vakalar olarak adlandırılır (4). Lokalizasyon sistemik enfeksiyonun esas manifestasyonu olabilir veya kronik bir enfeksiyonun tek manifestasyonu olabilir. Herhangi bir organ tutulumunun tanımlanması antibiyotik rejiminin seçimi, süresi ve prognoz için çok önemlidir.

2.1.6.1 İskelet Sistemi: Osteoartiküler komplikasyonlar brusellozda yaygındır. Bu komplikasyonlar artrit, spondilit, sakroileit, osteomyelit, tenosinovit ve bursit şeklinde olabilir. Eklem ağrısı brusellozlu hastaların %85'inde görülebilir (20, 26, 54-56). Birçok çalışmada osteoartiküler tutulum %17-37 hastada görüldüğü rapor edilmiştir. *Brucella melitensis* hemen hemen bütün vakalardaki osteoartiküler tutulumdan sorumludur (20, 29, 54-58). En sık etkilenen bölgeler sakroiliak eklemlerdir (29, 53-55).

Spondilit brusellozun en ciddi komplikasyonlarından biridir. Brusellozlu hastalarda %2-58 oranında rapor edilmiştir. Bu komplikasyon genellikle yaşlı hastalarda görülür ve lomber vertebraları etkiler. Sırt veya boyun ağrısı, ateş ve konstitüsyonel semptomlar en yaygın semptomlardır. Enfeksiyonun genişlemesi ile paravertebral apseler, spinal epidural apseler ve nörolojik komplikasyonlar görülebilir (53, 57-59, 61).

2.1.6.2 Sinir Sistemi: Sinir sistemi tutulumu bruselloz vakalarının yaklaşık %2-6.5'inde görülür. Nörolojik komplikasyonlar hastalığın herhangi bir döneminde gelişebilir. Klinik sendromlar menenjit, ensefalit, meningoensefalit, radikülit, miyelit ve nörit şeklinde olabilir (10, 29, 42, 62-64). Menenjit en sık santral sinir sistemi komplikasyonudur. BOS incelemesinde lenfositik pleositoz, artmış protein, düşük glukoz seviyeleri görülür (62-64).

2.1.6.3 Kardiyovasküler Sistem: Endokardit en ciddi klinik formdur ve ölüme neden olabilir. Bununla birlikte vakaların %2'den azında gelişir. Klinik prezentasyon *Brucella*'nın kan kültürlerinden izolasyonundaki zorluklar haricinde diğer bakteriyel endokarditlere benzerdir. Genellikle aort kapağı veya mitral kapak tutulur (10, 42, 65-67). Miyokardit, perikardit ve enfekte aort anevrizması bildirilmiştir (10, 42). Endokarditle birlikte menenjit, pnömoni, hepatit, cilt lezyonları, nefrit ve peritoniti içeren multisistem tutulumlar rapor edilmiştir (67, 68).

2.1.6.4 Gastrointestinal Sistem: Anoreksi, bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı ve gastrointestinal kanama brusellozda görülebilir (10, 20, 29, 42, 69, 70). Karaciğer enzim düzeylerinin hafif yüksekliği ile birlikte karaciğer ve dalak büyümesi brusellozlu hastaların yaklaşık %50'sinde saptanabilir. Bununla birlikte diffüz hepatit veya granülomatöz hepatit de brusellozun seyri sırasında görülebilir (10, 42, 71-73). Karaciğer ve dalakta apseler ve sirotik hastalarda spontan peritonit de brusellozun nadir komplikasyonları olarak rapor edilmiştir (31, 32, 71, 72).

2.1.6.5 Hematopoetik Sistem: Anemi, lökopeni ve trombositopeni gibi hematolojik anormallikler bruselloz seyrinde siktir. Lenfositozla birlikte lökopeni brusellozun karakteristiğidir (10, 29, 54, 69, 70). Peteşiyal veya purpurik cilt ve mukoza lezyonları, epistaksis, hemoptizi ve gastrointestinal veya vajinal kanama görülebilir ve bu komplikasyonlar önemli oranda düşük trombosit sayısı, düşük fibrinojen düzeyi ve pıhtılaşma zamanının uzaması gibi pıhtılaşma anormallikleri ile ilişkilidir (10, 70, 74). Bazen trombositopeni kanama ve ölüme sonuçlanabilir. Dünya literatüründe %9.3 mortalite oranı ile birlikte trombositopenik purpura olarak komplike olan 43 bruselloz vakası rapor

edilmiştir. Trombositopeni muhtemel mekanizmaları hipersplenizm, reaktif hemofagitoz ve trombositlerin immün yıkımıdır (74).

2.1.6.6 Genitoüriner Sistem: Genitoüriner tutulum brusellozlu hastaların %1-20'sinde meydana gelir. Tek taraflı epididimoorşit klasik manifestasyondur. Piyelonefrit, interstisiyel nefrit, renal apse, sistit ve prostatit nadir komplikasyonlardır. Semptomların başlangıcı genellikle akut ve daha az sıklıkla subakut veya kroniktir. Klinik görünüm genitoüriner ve sistemik semptomları içerir (75-78).

Gebe hayvanlarda *Brucella* türleri gestasyonun orta ve geç dönemleri boyunca tercihen plasental trofoblastlarda ürer. Enfekte trofoblastlar normalde plasenta tarafından üretilmeyen kortizol üretirler. Eritriol gebe konak tarafından üretilen anahtar bir şekerdir. *Brucella* bunu değerlendirir. Eritriol insan plasentasında mevcut değildir (17, 46). *Brucella* türlerinin gebelik boyunca insanda koryoamniyonik dokuyu enfekte edebileceği; düşük, erken doğum ve fetal ölümle birlikte intrauterin enfeksiyona neden olabileceği öne sürülmektedir. Ancak çeşitli çalışmalarda insanlarda, gebelikte *Brucella* enfeksiyonunun etkisi diğer bakteriyel enfeksiyonlardan fazla olmadığı bildirilmiştir (10, 60). Bununla birlikte Suudi Arabistan'da yapılan retrospektif bir çalışmada, brusellozlu hastalarda birinci ve ikinci trimesterde spontan abortus insidansı %43 ve üçüncü trimesterde intrauterin fetal ölüm insidansı %2 olarak rapor edilmiştir (79).

2.1.6.7 Diğer Sistemler: Brusellozda çeşitli cilt lezyonları (makülopapüller lezyonlar, papüller, peteşiler, purpura, impetiginöz ve psöriiform lezyonlar), oküler lezyonlar (üveit, koroidit ve sklerit) solunum sistemi tutulumu (pnömoni, akut respiratuar distress sendromu, ampiyem, mediastinit) tanımlanmıştır (10, 42, 80-83).

2.1.7 Tanı

2.1.7.1 Kültür: Bruselloz tanısında kan kültürü altın standarttır. Klinik örneklerden *Brucella spp.*'nin izolasyonu için bifazik Ruiz-Castañeda sistemi geleneksel metod olmasına rağmen; artmış duyarlılık ve azalmış inkübasyon

süresi ile otomatize kültür sistemleri büyükölçüde bu yöntemin yerini almıştır (84-91).

Kan kültürünün duyarlılığı özellikle hastalığın evresi ve daha önceki antibiyotik kullanımı gibi birkaç faktöre bağlıdır (4, 52, 84). Örneğin; akut vakalarda Ruiz-Castañeda metodu ve lizis santrifugasyonun duyarlılıkları sırasıyla %80 ve %90, fakat kronik vakalarda sırasıyla %30 ve %70 bulunmuştur (52, 84, 92, 93). Kemik iliği kültürleri daha yüksek bir duyarlılık, daha kısa kültür süresi sağlayabilir ve önceden antibiyotik alan hastalar değerlendirilirken kan kültürlerine üstün olabilir (4, 52, 84, 88, 93, 94). *Brucella*'nın ayrıca pü, doku örnekleri ve serebrospinal, plevral, eklem ve assit sıvılarından da kültürü yapılabilir (84, 95, 96). Bruselloz en yaygın laboratuvar ilişkili enfeksiyonlardan biri olduğundan dolayı lizis santrifugasyon metodunu kullanırken kontamine aerosollerden korunmak için özel önlem alınmalıdır (97-100).

Şimdiye kadar ilaç direncinin tedavi başarısızlığı ve relapsta önemli bir parça olduğunu destekleyen hiç bir kanıt yoktur (101, 102). Arıza ve arkadaşları tarafından yapılan erken bir çalışma göstermiştir ki, relaps olan hastalardan üretilen *Brucella* suşları, başlangıç enfeksiyonda üretilen orijinal suşlarla aynı antibiyotik duyarlılık profillerine sahiptir. Dirençli *Brucella spp.* izolatları nadir olarak rapor edilmiştir. *Brucella* herhangi bir plazmid içermediğinden ve insanlar son konak olduklarından dolayı, bu faktörler antibiyotik direncinin yokluğuna katkıda bulunabilir (103).

2.1.7.2 Serolojik Tanı: Kültür imkânlarının yokluğu veya kültürde üreme olmadığı durumlarda bruselloz tanısı geleneksel olarak Rose-Bengal testi, serum aglutinasyon testi ve antiglobulin veya Coombs testi gibi aglutinasyon testleri olan serolojik testlere dayanır. Genel olarak Rose-Bengal testi bir tarama testi olarak kullanılır ve pozitif sonuçlar serum aglutinasyon testi yoluyla doğrulanır (104, 105). Bu aglutinasyon testleri S-LPS'ye karşı oluşan antikörlere olan tepkiye dayanır. Bu antikörlere iyileştikten sonra hastalarda uzun süre kalmaya eğilimlidir, bu nedenle endemik bölgelerde geçmişe yönelik yüksek değerler oluşabilir ki bu da testin tanısallık değerini etkileyebilir (51). Ek olarak *Brucella* S-LPS antijeni *Yersinia enterocolitica* 0:9, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O:157 ve *Francisella tularensis* gibi diğer gram negatif

bakterilerle oluşan enfeksiyonlarda, çapraz reaksiyonlar nedeniyle yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir (106). Bununla birlikte Rose-Bengal testinin duyarlılığı yüksektir ve yanlış negatif sonuçlar nadir olarak gözlenmiştir (104, 107). Testin özgüllüğü oldukça yüksektir ve etkilenmemiş popülasyonda yanlış pozitif sonuçlar nadirdir. Kullanılan antijen kalitesindeki ve sonuçların yorumlanmasındaki farklılıklar test sonuçlarını ekleyebilir. (108, 109).

Diğer serolojik testlerde olduğu gibi, bruselloz için doğrulayıcı aglutinasyon testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü kullanılan “cut-off” değerine ve popülasyondaki antikörlerin düzeyine bağlıdır. Belli bir titrenin üzerinde pozitif değerlendirilen sonuçlarla örneklerin seri bir dilüsyonuyla yapılan teste göre, brusellozun endemik olduğu bölgeler için pozitif bir testin özgüllük ve pozitif prediktif değeri daha yüksek “cut-off” değeri seçilerek artırılabilir. Bununla birlikte daha yüksek bir “cut-off” değeri seçilerek duyarlılık azalır. Akut brusellozlu hastalar ile persistan hastalığı ve relapsı olanlarda düşük antikör düzeyleri kalabildiği için, test sonuçlarının yorumlanması ve bu hastalarda serolojik testlerle tanı zorlaşabilir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada Mantecon ve arkadaşları kültürle doğrulanan akut brusellozlu hastalar için herhangi bir titrede serum aglutinasyon testi için duyarlılığı %84.6 hesaplamıştır. Bununla birlikte aynı çalışmada 1/320 “cut-off” değerinde duyarlılık sadece %47.1 iken serum dilüsyonunun genel olarak kabul edildiği “cut-off” değeri olan 1/160’da duyarlılığın %64.7 olduğu rapor edilmiştir (110).

ELISA bruselloz için iyi standardize bir teknik olarak giderek artan oranda kullanılabilir hale gelmiştir. Laboratuvarlarda hazırlanan ELISA’ların duyarlılığı özellikle spesifik IgM antikörlerin saptanması, spesifik IgG antikörlerin saptanmasıyla birbirini tamamladığında yüksek olabilir (110). Bununla birlikte ELISA’ların özgüllüğü aglutinasyon testlerinden daha az gibi görünmektedir. *Brucella* için ELISA S-LPS’ye karşı olan antikörlerin saptanmasına dayandığından, endemik bölgelerde kullanıldığında özgüllüğü optimize etmek için “cut-off” değerinin ayarlanması gerekir ve bu duyarlılığı da etkiler (51). İspanya’da endemik bir bölgede son zamanlarda geliştirilen Brucellacapt (Vircell SL, Granada, İspanya) tetkikini test eden çalışmalar “cut-off” değeri 1/80’de, kültürle konfirme edilen hastalar için %98’lik bir duyarlılık ve sağlıklı gönüllülerden alınan örneklerde %96’lık bir özgüllük göstermiştir. Bununla birlikte brusellozdan başka durumları olan hastalar test edildiğinde %63’lük bir

özgüllük bulunmuştur. Daha yüksek bir “cut-off” değerinde özgüllük artar fakat duyarlılık azalır (111).

Bruselloz için “floresan polarizasyon immunoassay” (FPA) ve ELISA’nın basitleştirilmiş bir versiyonu olan immünokromatografik brucella IgM/IgG “lateral flow assay” (LFA) gibi hızlı testler tanı testleri olarak büyük bir potansiyele sahiptir (112, 113). “Floresan polarizasyon immunoassay” testi bir floresan proba bağlı Brucella O-polisakkarit antijeni ile bir serum örneğinin inkübasyonu yoluyla yapılır (112). Bu testin duyarlılığı kültürle doğrulanmış bruselloz için seçilmiş “cut-off” değerinde %96’dır ve özgüllüğü sağlıklı kan vericilerinin örneklerinde %98 olarak saptanmıştır. Parmak ucundan alınan bir damla kanın kullanıldığı LFA özel eğitim gerektirmemekte olup, yorumlanması kolaydır ve yatak başı yapılabilir. Komponentler dengededir ve taşınma veya saklama için dondurmaya gerekmemektedir. “Lateral flow assay”in duyarlılık ve özgüllüğü yüksektir (%95’den fazla) ve test hastalığın bütün dönemlerinde kullanılabilir (114).

Günümüzde tedavi sonucunu ve relapsı tahmin eden testler mevcut değildir. Brusellozda 2-merkaptoetanol (2-ME) testi bazen tedaviye yanıtı izlemek için kullanılır (115). Tedaviden 12 ay sonra ölçülen düşük 2-ME titresinin iyileşme ile kalıcı olduğu gözlemlenmiştir, oysa yükselmiş 2-ME titreleri göstermeye devam eden hastaların önemli bir bölümü semptomatiktir. Bununla birlikte 2-ME’nin prediktif değeri tartışmalıdır. İnsan brusellozunda relaps ve tedavi başarısızlığından dolayı tedavi sonucunu tahmin etmek için daha kesin belirteçlere ihtiyaç vardır. IgG antikor düzeylerinde bir yükseliş gösteren relapslı hastalarda serolojik değişiklikler klasik aglutinasyon testlerine göre ELISA’da daha kolay gözlenmiştir (51). Persistan hastalık için ELISA ile ölçülen S-LPS’ye karşı olan serum antikorlarının prediktif değeri, tedaviden 12 ay sonra tedavi edilen hastaların %25’inde spesifik IgM antikorları ve yaklaşık %90’ında spesifik IgG antikorları olduğundan dolayı düşük görünmektedir. İki boyutlu jel elektroforezi ile birkaç immünojenik *Brucella* proteini tanımlanmıştır. Bu proteinlerin bazıları enfeksiyon sırasında ifade edilir. Bunun tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde tanısal önemi olabilir (116).

2.1.7.3 Moleküler Tanı: “Polymerase Chain Reaction” [Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)] kültürle kıyaslandığında duyarlılığı artırabilen, insan

brusellozunun tanısı için elverişli bir yöntemdir (117). Birkaç cins spesifik PCR sistemi primer eşleşmeleri kullanır ki, 16S RNA sekanslarını ve geliştirilen farklı dış membran proteinlerinin genlerini hedef alır (118-123). Bu PCR sistemlerinin her biri farklı bir DNA ürünü ortaya koyar ki bunun uzunluğu bütün *Brucella* türleri için aynıdır ve hepsine spesifiktir. Queipo-Ortuno ve arkadaşları bcsp31 geninin 223-bp fragmanını açan B4/B5 primer çiftini kullanarak, kan kültürü için %70 duyarlılıkla kıyaslandığında duyarlılığı %100 ve özgüllüğü %98.3 bulmuşlardır (124).

PCR ayrıca tür farkı ve izolatların tiplendirmesinde kullanışlı gibi görünmektedir. *Brucella* genomunda farklı lokuslarda kısa nükleotid tekrar sekanslarının varlığı tür ve izolatlar arasında tekrarların sayılarında geniş bir varyasyon göstermektedir (125, 126). Bu değişken tekrarların PCR amplifikasyonu tür ve biyovar tanımlaması için klasik tiplendirme metodlarından daha kullanışlı ve dış membran protein tiplendirmesi IS711 tiplendirmesi veya yükseltmiş fragman polimorfizm yoluyla tiplendirme gibi diğer moleküler araçlardan daha etkilidir (127-130). Bu tekrarları içeren bir dizi lokusun PCR amplifikasyonu aynı bölgenin içinden bile tek ve yegâne izolatların tanımlanmasına izin verir (131, 132). Bu uygulama özel gruplarda veya süt ürünü üreticilerinde enfeksiyonları izlemede epidemiyolojik olarak kullanılabilir ve aynı izolatlarla vakaların ortaya çıkması muhtemelen yoğunlaşmış bulaşın bir odağının varlığı için kanıt olarak tutulabilir. Ayrıca bu metod reenfeksiyon ile relaps ayırımında da faydalı olabilir (132).

2.1.8. Tedavi

Dünya Sağlık Örgütü komplikasyonsuz brusellozun tedavisinde oral rejim olarak 6 hafta boyunca 200 mg doksisisiklinle beraber günlük 600-900 mg rifampisin tedavisini önermektedir. Alternatif oral/parenteral tedavide rifampisinin yerini tedavinin ilk 2-3 haftası boyunca günlük 15 mg/kg streptomisin alır (3). Her ne kadar bu rejimler pek çok klinik ve *in vitro* çalışmaların sonuçlarına dayansa da ideal tedavi konusunda tartışma sürmektedir. Bir *in vitro* çalışma doksisisiklin ve rifampisinin yeterli aktivitesini pH 5'de sürdürdüğünü ve düşük pH'da rifampisinin aktivitesini artırdığını göstermiştir (102).

Bir meta-analiz streptomisin ve tetrasiklin tedavi rejiminin DSÖ oral rejiminden daha yüksek bir iyileşme hızı ve daha az relapsla sonuçlandığını göstermiştir (133). Oral monoterapi için yapılan araştırmalar şimdiye kadar tedavide başarısız bulunmuştur. Minosiklinin rifampisinle kombinasyonunu değerlendiren son zamanlardaki bir çalışma çok düşük relaps oranı göstermiştir (134). Tedavi başarısızlığı ve relaps ile ilgili endişeler ve tüberkülozun endemik olduğu bölgelerde gelişen rifampisin direnci korkusu bazı cesaret verici başlangıç sonuçlarla beraber üçlü ilaç kombinasyonu arayışıyla sonuçlanmıştır (135, 136). Solera ve arkadaşları standart oral rejime ilk yedi veya tercihen 10 gün için gentamisin eklenmesini önermiştir (137). Mantur ve arkadaşları gentamisin-doksisiklin-rifampisin üçlü tedavisiyle tedavi edilen 93 hasta arasında herhangi bir relaps gözlemlenmemişlerdir (138). Antibiyotik tedavisinin uzatılması da bütün tedavi rejimlerinde relaps ve başarısızlık oranlarında olumlu bir etki yapıyor gibi görünmektedir. İyileştirilmiş antibiyotik dağıtım metodları (örneğin antibiyotik yüklü mikrosferler vasıtası ile) süreyi kısaltabilir, toksisiteyi azaltabilir ve tedavi etkinliğini artırabilir. Bununla birlikte bu alanda hala daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (139).

Relapsları tahmin etmede bazı girişimler yapılmıştır. Ancak bunların gerçek klinik etkinliğini belirlemede geniş çaplı araştırmalar gerekmektedir. Ariza ve arkadaşları 530 erişkinin prospektif bir kohortundan relaps için bazı bağımsız risk faktörleri belirlemiştir: Bunlar daha az etkili antibiyotik tedavisi, başlangıç hastalıkta pozitif kan kültürleri, tedavinin başlanmasından önce hastalık süresinin 10 gün veya daha kısa olması, erkek cinsiyet, $150 \times 10^3 \mu\text{L}$ veya daha az trombosit sayısıdır (140). Solera ve arkadaşları bir hastanın relaps riskini düşük (%4.5), orta (%32) ve yüksek (%67) gruplarına ayıran çok değişkenli bir model önermiştir. Bu çalışmada relapsın bağımsız prediktörleri olarak 38.3°C veya üzeri vücut ısısı, başlangıçta pozitif kan kültürleri ve tedaviden önce 10 günden daha az olan semptom süresi olduğu bildirilmiştir (141).

Kinolonların, özellikle ofloksasin ve siprofloksasinin *Brucella* türlerine karşı *in vitro* iyi aktivitesi vardır. Relaps oranı %21 üzerinde olduğundan kinolonlarla monoterapi uygulanmamalıdır (4, 142). Karşılaştırmalı küçük bir klinik çalışmada ofloksasin-rifampisin kombinasyonu 6 haftalık bir periyotta verilen doksisiklin-rifampisin kombinasyonu kadar etkili bulunmuştur (27).

Brucella türleri trimetoprim-sulfametoksazole kısmen duyarlıdır. Özellikle çocuklarda ve gebe kadınlarda alternatif olarak kullanılabilir (4, 10, 42, 79). Azitromisin *Brucella*'ya karşı *in vitro* aktivitesi gösterilmiştir, fakat azitromisinentamisin kombinasyonu yapılan bir klinik denemede yüksek tedavi başarısızlığı ve relaps oranı gösterilmiştir (143).

Kronik brusellozun tedavisinde levamizollü geleneksel tedavi ile immünomodulasyonun değerlendirilmesi karışık sonuçlar göstermiştir (144-146). Her ne kadar anerjik hastalarda tedaviye interferon alfa-2a eklenmesinin ilk raporları bir dereceye kadar ümit verici görünse de klinikte rutin uygulamaya değer bulunmamıştır (147). Günümüzde standart ilaç kombinasyonları ile uzatılmış tedavi, rekürren hastalığın persistan belirti ve semptomları olan hastalara verilmelidir. Ek olarak fokal enfeksiyonları tedavi ederken ilgili dokuda ilacın penetrasyonu ve aktivitesine özel önem gösterilmelidir. Endokardit veya santral sinir sistemi tutulumu gibi spesifik komplikasyonlu hastalarda uzamış tedavi ile birlikte tedavi seçimi ve süresi bireyselleştirilmelidir. Daha etkili doksisisiklin-streptomisin kombinasyonu spinal tutulum gibi daha ciddi hastalığı olan hastalarda tercih edilir ve tedavi süresi uzatılabilir (148). Endokardit, serebral, epidural veya splenik apseler gibi fokal tutulumlarda cerrahi müdahale gerekebilir.

2.2. İnsan Lökosit Antijenleri [“Human Leukocyte Antigens” (HLA)]

Araştırmacılar 1944 yılında, tavşanlar üzerinde yaptıkları deneylerde, organ transplantasyonunda görülen reaksiyonların immünolojik bir temele dayalı olduğunu göstermişlerdir. Takip eden çalışmalarda, insan lökositlerinde doku uygunluk antijenlerini göstermeyi başarmışlardır. Bu antijenlere ilk kez lökositlerde gösterilmiş olmalarından dolayı insan lökosit antijenleri anlamına gelen “Human Leukocyte Antigens” (HLA) kısaltması kullanılmaya başlanmıştır (149, 150).

“Human Leukocyte Antigens” antijenlerinin oluşması organizmada “Major Histocompatibility Complex Gen Region” [Majör Doku Uygunluk Kompleksi (MHC)] adı verilen bir gen bölgesinin kontrolü altındadır. Bu gen bölgesi insanlarda 6 numaralı kromozomun kısa kolu üzerinde yer almakta ve kromozom haritasında p21 pozisyonunda gösterilmektedir (149, 151).

Dünya Sağlık Örgütü'nün terminoloji komitesine göre 3 ana gruba ayrılan bu bölgede MHC Sınıf-I (HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G), MHC Sınıf-II (HLA-DR, -DP, -DQ, -DO, -DN) ve MHC Sınıf-III (C2, C4A, C4B, PF, TNF- α , β) antijenleri yer almaktadır (149, 152). HLA-A, -B, -C klasik Sınıf-I antijenleridir, hemen her dokuda ifade edilirler. HLA-E, -F, -G klasik olmayan Sınıf-I antijenleridir, daha az dokuda ifade edilirler. Aynı şekilde MHC Sınıf-II antijenlerinden HLA-DR, -DP ve DQ klasik Sınıf-II antijenleridir (149, 153).

MHC Sınıf-I bölgesi antijenleri glikoprotein yapısında olup vücutta tüm çekirdekli hücrelerin zarında bulunurlar. Bunların her biri iki polipeptid zincirden oluşmuştur. Ağır zincir veya α zincir 6. kromozomdaki HLA kompleksinden meydana gelen polimorfik bir glikoproteindir. β 2 mikroglobulin ise α zincirine kovalent olmayan bağlarla bağlanmış, 15. kromozom tarafından düzenlenen küçük bir proteindir. Polimorfik değildir, α zincirinden ayrılırsa ya da doğumsal olarak yokluğu söz konusu olursa HLA Sınıf-I molekülü fonksiyonunu kaybeder (149, 154). MHC Sınıf-I molekülü hücre membranına α zinciri ile bağlanır. Bu zincir üç bölgeden meydana gelmiştir. Ekstraselüler bölge hidrofilik olup N terminali ile sonlanır. Transmembran hidrofobik bölge ve intraselüler hidrofilik bölge hücre içinde yer alır. Ekstraselüler bölge α 1, α 2 ve α 3 zincirleri olarak bilinen üç bölümden meydana gelmiştir. Molekülün N- ucundaki α 1 ve α 2 birimlerinin aminoasit sıralamalarındaki farklılıklar molekülün polimorfizmini oluşturur. Burası peptid bağlanma bölgesi olup, fonksiyonel olarak molekülün en önemli yeridir. T hücresinin CD8 molekülünün bağlandığı α 3 birimi ile transmembran ve intraselüler bölgeler ise polimorfik olmayıp bütün HLA Sınıf-I tiplerinde aynıdır (149, 152, 154).

MHC Sınıf-II antijenleri özellikle B lenfositler, makrofajlar, dendritik hücreler (DH), endotel hücreleri ve bazı aktif T hücrelerinde bulunurlar. Glikoprotein yapısında olup, heterodimerdirler. Birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlı α ve β zincirlerinden oluşmuşlardır. Polimorfizm gösteren her iki zincirin α 1 ve β 1 kısımlarındaki aminoasit diziliminde farklılıklar mevcuttur. Molekülün 2. bölgesi polimorfik olmayan α 2 ve β 2 kısmıdır. Üçüncü bölge hidrofobik transmembran, dördüncü bölge yine hidrofilik sitoplazmik bölgedir. Hücreler arası tanıma olaylarında CD4⁺ T lenfosit, immünojen peptidi HLA Sınıf-II antijenleri ile birlikte tanır (149).

MHC Sınıf-III antijenleri Sınıf-I ve Sınıf-II antijenleri arasında bulunurlar. Klasik kompleman yolunun C2, C4a ve C4b, alternatif yolun properdin faktörü ile 21-hidroksilaz gibi enzimler ve TNF gibi sitokinlerin sentezlendiği bölgedir. Bu antijenlerin immün sistemde önemli fonksiyonları olmasına rağmen transplantasyon için önemi gösterilememiştir (149).

HLA-G düşük polimorfizm gösteren, dokularda ifade edilme düzeyi sınırlandırılmış ve immün yanıt üzerine tolerojenik etkisi olan ve bu özellikleri ile klasik HLA'lardan farklılık gösteren HLA-Sınıf I molekülüdür (155-157). Yedi protein varyantı vardır ve fetal trofoblast hücrelerinde, yetişkinlerde timik medullada, korneada, pankreatik adacıklarda, eritroid ve endotelial öncüllerde ve mezokimal kök hücrelerinde ifade edilir (158-163).

HLA-G membrana bağlı HLA-G1, -G2, -G3, -G4 ve çözünebilir HLA-G5, -G6 ve -G7 alt gruplarından oluşur. HLA-G1 ve onun çözünebilir karşılığı HLA-G5'in klasik HLA sınıf I molekülüne yapısal olarak benzer özellikleri vardır (155).

Fonksiyonel olarak HLA-G'nin uterusun sitolitik fonksiyonu ve periferik kan "natural killer" [CD3⁻CD16⁺56⁺(NK)] hücreleri, sitotoksik T lenfositlerin antijen spesifik sitolitik fonksiyonu, CD4⁺ T hücrelerinin alloproliferatif cevapları, T hücrelerinin ve periferik kan NK hücrelerinin proliferasyonu ve DH'lerin maturasyonu ve fonksiyonu üzerine doğrudan inhibitör etkisi vardır (155, 164-171). Özellikle, sitotroblast hücrelerin ifade ettiği HLA-G'nin desidual NK hücrelerinin sitotoksik fonksiyonlarını inhibe etmesi bu molekülün maternal-fetal toleransta tolerojenik bir rolü olduğunu akla getirmektedir (5, 164, 165).

HLA-G birçok fizyopatolojik durumla bağlantılıdır. Her ne kadar HLA-G, klasik HLA Sınıf I molekülü ile yapısal benzerlikler gösterse de, düşük düzeyde polimorfizm göstermesi ve daha da önemlisi patolojik olmayan dokularda düşük düzeyde ifade edilmesi dikkat çekmektedir. Patolojik olmayan ifade edilmesi esas olarak fetal-maternal koordinasyondaki trofoblastlarda olur (5, 172).

Plasenta dışında çoğu sağlıklı dokuda HLA-G'nin ifade edilmesi saptanmamıştır. Bununla birlikte, transplantasyondan sonra allogreftte ve otoimmün hastalıklar ve viral enfeksiyonlar gibi çeşitli durumlarda ifade edildiği gösterilmiştir (173-183). HLA-G araştırmalarının en dikkate değer ve çarpıcı bulgularından biri de bazı tümörlerin bu molekülü yeniden ifade etme kapasitelerinin olmasıdır (184-186).

Bazı viruslar çeşitli mekanizmalarla immün yanıtta kaçabilirler ve bu mekanizmalardan biri de klasik HLA Sınıf-1 ifade edilmesinin “down” regülasyonu ve enfekte hücrelerde HLA-G ifade edilmesinin uyarılmasıdır. HLA-G’nin immün baskılayıcı fonksiyonları göz önüne alındığında HLA-G’nin ifade edilmesinin uyarılmasının virusla enfekte hücreleri immün efektörlere karşı koruduğu ve böylece viral ilerlemeyi kolaylaştıran bir immün kaçış stratejisi teşkil ettiği kolayca görülür. HLA-G’nin ifade edilmesinin nörotropik viruslar herpes virus ve rabies virus, influenza virus tip A ve HIV-1 gibi çeşitli virus tipleri ile uyarıldığı rapor edilmiştir (179, 181-183). Sitomegalovirüsün (CMV) US2 proteini “down” regülasyona neden olan HLA sınıf 1 moleküllerinin sitoplazmik kuyruğu ile etkileşime girer. Fakat HLA-G1’in daha kısa bir sitoplazmik kuyruğu vardır. Bu, “down” regülasyona direnç sağlayan US2 proteini ile etkileşim için esas artıklardan yoksundur (187). Klasik HLA sınıf 1 molekülleri bu “down” regülasyona dirençli iken CMV protein US10 sitoplazmik kuyruğu ile etkileşimi sayesinde HLA-G hücre yüzey ifade edilmesini “down” regüle eder (188).

Monositlerde MHC Sınıf II’nin ifade edilmesi enfeksiyona immün yanıtın en önemli komponenti olan CD4⁺ T-lenfositlere etkili antijen sunumu için ön koşuldur (189). Periferik kan monositlerinde HLA-DR’nin ifade edilmesi bir çok klinik durumda enfeksiyonla yüksek oranda doğru orantılı bulunmuştur (190). Çeşitli araştırmacılar enfeksiyonu olan ve sepsisli hastalarda HLA-DR’nin düşük düzeylerde ifade edilmesinin iyileşme ve ölüm hızları ile bağlantılı olduğunu göstermişlerdir (191-194).

Makrofajlar ve yardımcı T-lenfositler tarafından antijen sunumunda HLA-DR, merkezi bir rol oynar. Geçmişte yapılan çeşitli çalışmalar, sepsisli, travmalı ve ciddi yanıklı hastalarda monositlerde düşük HLA-DR ifade edilmesini göstermiştir (189, 191, 195, 196).

Lekkou ve arkadaşlarının yaptığı toplum kaynaklı ciddi enfeksiyonu olan hastalarda monosit HLA-DR ifade edilmesinin değerlendirildiği bir çalışmada hayatta kalan hastalarda HLA-DR’nin anlamlı olarak daha yüksek düzeylerde ifade edildiğini ve HLA-DR ifade edilmesinin ciddi enfeksiyonu olan hastalarda dinamik bir prognostik belirteç olarak kullanılabileceğini saptamışlardır (197).

2.3 Myeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör [“The triggering receptor expressed on myeloid cells”(TREM)]

Myeloid hücrelerde ifade edilen tetikleyici reseptör (TREM) proteinleri doğal ve kazanılmış bağışıklıkta önemli rol oynarlar. TREM-1 ve TREM-2 insanlarda 6p21 kromozomunda bulunmaktadır. Ek olarak TREM-1 benzeri ve TREM-2 benzeri adı verilen homolog genler vardır. Bunlar aynı TREM-1 ve TREM-2 gibi tek bir değişken tip immünglobulin boğumunu kodlarlar. Bunların yanında farelerde fonksiyonel olan fakat insanlarda yalancı gen olarak bulunan TREM-3 vardır (198, 199).

İlk bulgular TREM-1'in sepsis ile ilişkili sistemik inflamatuvar yanıt sendromunu artırıcı olduğunu göstermiştir. Enfeksiyon süresince, reseptör ifade edilmesi kolaylaşır ve çözünebilir TREM-1 salınımı olur. Ek olarak rekombinant TREM-1/Fc füzyon proteinlerinin veya antagonistik peptidlerin uygulanması fareleri endotoksemi veya polimikrobiyal sepsisten koruduğu gözlenmiştir (200-203). Araştırmacılar TREM-1siRNA'nın ortalama dozda kullanımının farelerde polimikrobiyal sepsis boyunca sağ kalımı artırdığını bulmuşlardır. Oysa yüksek doz siRNA kullanımı nötrofil respiratuar patlama ve artmış mortalite ile ilişkilidir. TREM-1 konağa zarar vermeden patojenin etkili olarak uzaklaştırılmasını kolaylaştırmak amacıyla septik yanıtı yoluna koyar (200, 204).

TREM-1'in bu inflamasyonu artırıcı etkisinin aksine TREM-2 otoimmüitenin önemli bir düzenleyicisidir. Başlangıçtaki çalışmalar TREM-2'nin makrofajlarda TNF ve IL-6 üretimini baskıladığını ve anti-inflamatuvar olarak görev yaptığını göstermiştir (205-207). Günümüzde yapılan çalışmalarda deneysel otoimmün ensefalomyelit fare modellerinde, TREM-2'nin hem spinal kord da hem de beyindeki mikroglia hücrelerinde ve makrofajlarda “upregüle” edildiği gösterilmiştir (208). İnsanlarda TREM-2, BOS'da ifade edilir, fakat kanda ifade edilmez. İnflamatuvar olmayan nörolojik hastalığı olan hastalarla MS veya diğer inflamatuvar nörolojik hastalığı olan hastalar karşılaştırıldığında ikinci gruptaki hastalarda BOS'da TREM-2 pozitif monositlerin yüzdesinde azalma görülmüştür. Bütün bu veriler TREM-2'nin önemli bir anti-inflamatuvar reseptör olarak rolü olduğunu göstermektedir ve TREM-2'nin ifade edilmesinin veya fonksiyonunun düzenlenmesinin BOS'daki inflamasyonun düzenlenmesinde önemli bir yol olabileceğini akla getirmektedir (209).

TREM-1, son yıllarda bulunan immünglobulin süperailisinin bir üyesidir (210, 211). Diğer benzer hücre yüzey reseptörleri gibi, TREM-1'in kısa bir hücre içi boğumu vardır ve henüz tanımlanmamış ligandına bağlandığında mikrobiyal ajanlara konak yanıtını artıran inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu tetikleyen bir sinyal-transdüksiyon molekülü, DAP12 ile birleşir (203, 210, 211). Çalışmalarda TREM-1'in ifade edilmesi *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerin veya *Aspergillus fumigatus* gibi mantarların varlığında bu mikroorganizmalarla enfekte hastalardan alınan hücre kültürü, peritoneal lavaj sıvısı ve doku kültürlerinde daha yüksek oranda salındığı gösterilmiştir (203, 211). Diğer taraftan, TREM-1 psöriazis, ülseratif kolit veya immün kompleks aracılı vaskülit gibi enfeksiyöz durumu olmayan hastalardan alınan örneklerde yüksek değildir (203, 210). Membrana bağlı TREM-1'in ifade edilmesinin "upregüle" edilmesiyle beraber çözünebilir formu da (sTREM-1) enfeksiyon boyunca salınabilir (203).

sTREM-1 insanlarda çeşitli enfeksiyon hastalıklarında ve hayvanların biyolojik sıvılarında saptanmıştır (198). Çoğunlukla hastalığın ciddiyeti ile doğru orantılı artış gösterir. sTREM-1 sepsis, bakteriyel ve fungal pnömoni için önemli bir prediktör ve tanısal belirteçtir (198, 212).

3. MATERYAL VE METOD

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 02.08.2011 tarih ve 2011/100 sayılı kararı ile çalışma protokolü uygun bulunduktan sonra; İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman ve Malatya Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniklerine Ekim 2011-Mart 2013 tarihleri arasında başvuran 25 akut brusellozlu hasta ile yaş ve cinsiyet açısından benzerlik gösteren, herhangi bir alt hastalığı olmayan 25 sağlıklı gönüllü kontrol grubu olarak çalışmaya alındı.

3.1 Akut bruselloz tanısı: Sekiz haftadan kısa süredir brusellozla uyumlu semptom ve bulguları olan hastada aşağıdakilerden birinin bulunması akut bruselloz olarak değerlendirildi:

- Serum brusella tüp aglütinasyon titresi $\geq 1/160$ bulunması,
- İlk serum örneğinden ≥ 15 gün sonra alınan serumda en az 4 kat titre artışı saptanması,
- Kan veya diğer klinik örneklerin herhangi birinde *Brucella spp.* izole edilmesi.

3.2 Hasta seçimi: Akut bruselloz tanısı konan ve çalışmaya katılmak için gönüllü olan, brusellozun komplikasyonu ve hamileliği olmayan, 18-65 yaş arası hastalar çalışmaya alındı.

3.3 Kontrol grubu: Herhangi bir şikayeti ve alt hastalığı bulunmayan, kadınlarda hamileliği olmayan, bu çalışmaya katılmak için gönüllü olanlardan serum *Brucella* aglütinasyonu çalışılarak negatif bulunanlar sağlıklı gönüllü olarak seçildi.

3.4 Brusella tüp aglütinasyonu ve kan kültürü çalışılması: Brusella tüp aglütinasyonu ilgili hastanelerin merkez laboratuvarlarında çalışıldı. Hastalardan alınan 5 ml kandan serum ayrıldıktan sonra *Brucella* antijen Sero-Tüp Brusella Tüp Aglütinasyon Test Antijeni (Seromed Laboratory Products) kan kültürleri otomatize kan kültür sistemi (BacT/Alert, BACTEC 9000, Vital, İspanya) kullanılarak çalışıldı.

3.5 Periferik kanda immüfenotipleme ve sHLA-G ve sTREM-1 düzeyinin saptanması: Akut bruselloz tanısı almış hastalar ve sağlıklı gönüllülerin periferik kanlarında immüfenotipleme akım sitometri yöntemi ile, sHLA-G ve sTREM-1 düzeyi ELISA yöntemi kullanılarak saptandı. Hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden alınan periferik kan immüfenotipleme için heparinli tüpte toplanırken; sHLA-G ve sTREM-1 ölçümü için 5 mL periferik kan biyokimya tüpüne alındı. Akım sitometride immüfenotipleme periferik kan aynı gün çalışıldı. sHLA-G ve sTREM-1 düzeyi hasta ve sağlıklı gönüllülerin hepsinde serumlar ayrıldıktan sonra çalışılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edildi.

3.5.1 Heparinize periferik kan örneklerinde, lenfosit izolasyonu sonrası ya da direkt periferik kandan akım sitometri yöntemi ile lenfosit-monosit-granülosit oranları; lenfosit alt grupları (T- ve B- lenfositler), monosit oranı ve bu hücrelerde HLA-DR ifade edilme yüzdesi tespit edildi. Periferik kanda immüfenotipleme amacıyla phycoerythrin (Pe) ve fluorescein isothiocyanate (FITC) işaretli anti-insan monoklonal antikoları kullanıldı. Lenfoid ve myeloid seri hücrelerini tanımlamak amacıyla FITC işaretli anti-insan CD45 ve Pe işaretli anti-insan CD14 antikoları; T- ve B-lenfosit hücre gruplarını tanımlamak amacıyla FITC işaretli anti-insan CD3 ve Pe işaretli anti-insan CD19 antikoları, yardımcı ve sitotoksik T-lenfosit alt gruplarını belirlemek amacıyla FITC işaretli anti-insan CD4 ve Pe işaretli anti-insan CD8, aktive T-lenfosit ve monosit populasyonlarını belirlemek amacıyla Pe işaretli anti-insan

HLA-DR, NK ve NK-T hücrelerini belirlemek amacıyla FITC işaretli anti-insan CD3 ve Pe işaretli anti-insan CD16⁺56⁺ monoklonal antikorları kullanıldı. İmmünfenotipleme için periferik kandan 100 µL uygun tüplere dağıtıldıktan sonra yukarıda belirtilen antikorlar uygun renk çiftleri olacak şekilde tüplere 10 µL hacimde dağıtıldı. Antikorların dağıtımını sonrası örnekler 1 saat +4°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben periferik kandaki eritrositler eritrosit lizis solüsyonu ile parçalandı. Eritrosit patlatma işlemi sonrası hücreler fosfat tampon solüsyonu (Phosphate Buffered Solution-PBS) ile iki defa yıkanarak +4°C'de 1400 rpm'de santrifüj edildi. Son yıkama sonrası hücreler 300 µL PBS ile süspanse edildikten sonra akım sitometri cihazında (FACSCanto™ II; BD BioSciences, USA) analizi gerçekleştirildi. Hücre gruplarının yüzdeleri FACS Diva (BD BioScience, USA) bilgisayar programı kullanılarak saptandı.

3.5.2 Serum örneklerinde sTREM-1 düzeyi ölçümü; kantitatif sandviç ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Ticari amaçla satılan sTREM-1 ELISA kitinde (ADIPO BIOSCIENCE, Santa Clara, CA, USA) belirtilen yöntem takip edilerek serum örneklerinde sTREM-1 ölçümü yapıldı. Ölçüm sonunda kit içerisinde bulunan konsantrasyonları bilinen sTREM-1 standartlarının vermiş olduğu optik dansite değerleri ile konsantrasyon değerleri kullanılarak standart sTREM-1 grafiği çizildi. Örneklerimizdeki sTREM-1 konsantrasyonu standart sTREM-1 grafik kullanılarak Excel programında analiz edildi. Kullanılan kit'in ölçüm duyarlılığı 47 pg/mL olarak belirtildi.

3.5.3 Serum örneklerinde sHLA-G düzeyi ölçümü; kantitatif sandviç ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Ticari amaçlı satılan sHLA-G ELISA kitinde (BIOVENDOR-Laboratori Medicina A.S., Karasek, Czech Republic) belirtilen yöntem takip edilerek serum örneklerinde sHLA-G ölçümü yapıldı. Ölçüm sonunda kit içerisinde bulunan konsantrasyonları bilinen sHLA-G standartlarının vermiş olduğu optik dansite değerleri ile konsantrasyon değerleri kullanılarak standart sHLA-G grafiği çizildi. Örneklerimizdeki sHLA-G konsantrasyonu standart sHLA-G grafiği kullanılarak Excel programında analiz edildi. Kullanılan kit'in ölçüm duyarlılığı 3 U/mL olarak belirtildi.

Kullanılan Çözelti ve Tamponlar: PBS: [(150 mM NaCl, 30 mM KCl, 15 mM Na₂HPO₄, 2 mM KH₂PO₄, pH 7.4)]

3.6 Verilerin değerlendirilmesi: Araştırmadan elde edilen veriler SPSS 13.0 istatistik programı kullanılarak analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama (ort)±Standart sapma (SS), kategorik değişkenler sayı ve % olarak verildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında; normal dağılım gösteren sürekli değişkenler (yaş, lenfosit, monosit, granülosit, CD45⁺, CD14⁺, CD3⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD4⁺, CD8⁺ T-lenfositler, CD19⁺ B-lenfositler, NK hücreleri [CD3⁻CD16⁺CD56⁺], CD14⁺HLA-DR⁺ T-hücreleri) için Student-T testi, göstermeyenler (NK-T hücreleri [CD3⁺CD16⁺CD56⁺], sTREM-1, sHLA-G5) için Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Hasta ve kontrol grupları arasında sTREM-1 ve sHLA-G5 arasında, sTREM-1 ile HLA-G5 ve CD3⁺, CD8⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD4⁺ T-lenfositler, CD14⁺ monositler, CD19⁺ B-lenfositler, NK ve NK-Thücreleri arasında ve CD4⁺ ve CD8⁺ T-lenfositleri arasında korelasyon olup olmadığı Pearson korelasyon analizi kullanılarak karşılaştırılmıştır. İstatistiksel testlerin sonucu elde edilen p değerleri <0.05 ise anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 25 akut brusellozlu ve 25 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Hastaların cinsiyetleri ve yaşları Tablo 1’de gösterildi.

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamasına göre dağılımı.

	Sayı		p
	Hasta grubu	Kontrol grubu	
Erkek n (%)	12 (48)	15 (60)	
Kadın n (%)	13 (52)	10 (40)	0,395
Yaş ortalaması±SS (min.-maks.)	39,3±15,3 (19-65)	39±14,8 (19-65)	0,948

Çalışmaya alınan 25 hastanın 15 (%60)’inden kan kültürü alınabildi. On beş hastanın dokuz (%60)’unda kan kültüründe *Brucella spp.* üredi. Hastaların serum brusella tüp aglütinasyon titreleri ve kan kültüründe üreme durumları Tablo 2’de verildi.

Tablo 2. Hastaların brusella tüp aglütinasyon titrelerinin ve kültür pozitifliğinin dağılımı.

Serum brusella tüp aglütinasyonu titreleri	Hasta sayısı (%)	Kan kültüründe <i>Brucella spp.</i> üreyen hasta sayısı (%)
1/40	1 (4)	1 (100)
1/160	5 (20)	0
1/320	6 (24)	2 (33.3)
1/640	7 (28)	5 (71.4)
1/1280	5 (20)	0
1/2560	1 (4)	1 (100)

Çalışmaya dahil edilen 25 hastanın semptomlarının dağılımı Tablo 3’de gösterildi.

Tablo 3. Akut brusellozlu hastalarda görülen semptomların dağılımı.

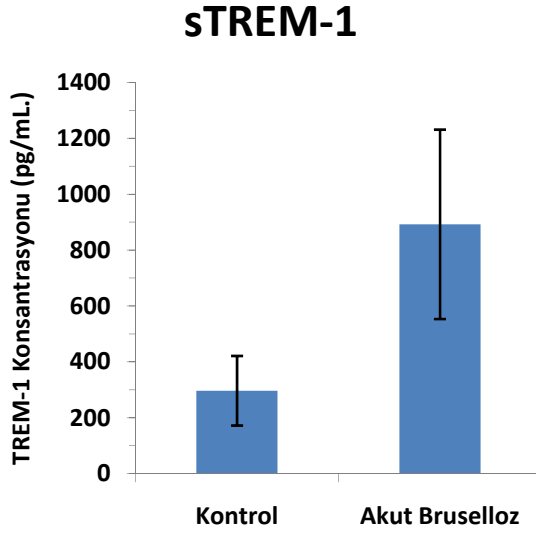
Semptom	Hasta sayısı(%)
Halsizlik	25 (100)
Gece terlemesi	22 (88)
Kas ağrısı	20 (80)
Ateş	19 (76)
İştahsızlık	19 (76)
Eklem ağrısı	17 (68)
Bel ağrısı	7 (28)
Kilo kaybı	1 (4)
Bulantı	1 (4)
Baş ağrısı	1 (4)

Çalışmaya alınan 25 hasta fizik muayenesi açısından değerlendirildiğinde; 4 (% 16)'ünde $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ateş, 2 (% 8)'sinde LAP, 1 (% 4)'inde splenomegali saptandı.

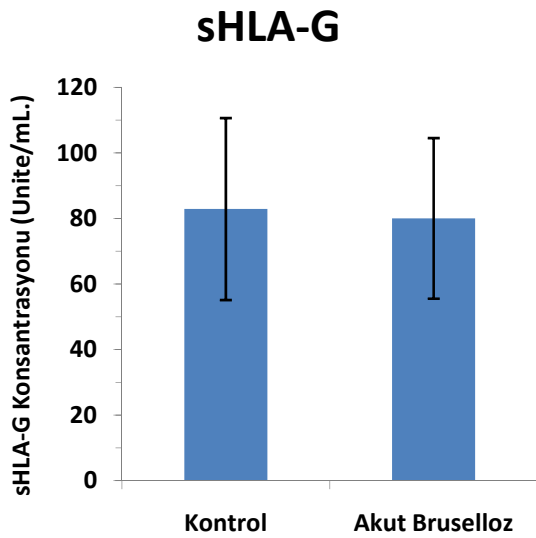
Hasta grubu ile kontrol grubunun serumlarında; sTREM-1, sHLA-G düzeyleri Tablo 4'de ve karşılaştırmalı grafikleri Grafik 1 ve Grafik 2'de gösterildi.

Tablo 4. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 ve sHLA-G düzeyleri.

Parametreler	Hasta	Kontrol	p
sTREM-1 \pm SS (pg/ml)	918 \pm 338.8	296,86 \pm 124,4	0,174
(min.-maks)	(0-6694)	(0-2063,4)	
sHLA-G \pm SS (U/ml)	82.3 \pm 24,5	82,88 \pm 27.7	0,463
(min.-maks.)	(0-386,2)	(0-462)	



Grafik 1. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 düzeyleri.

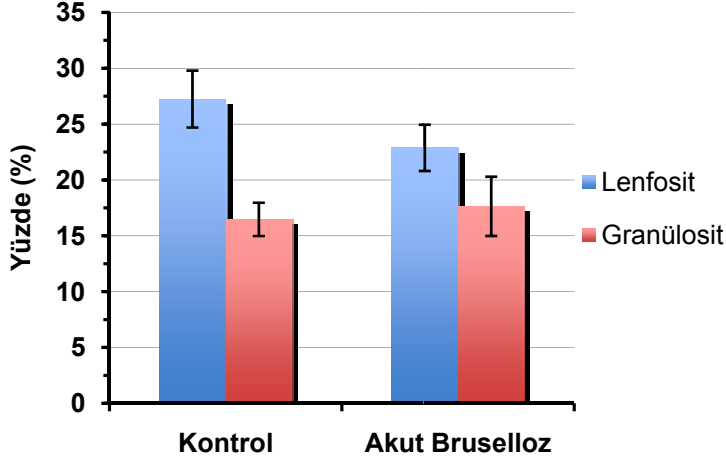


Grafik 2. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun sHLA-G düzeyleri.

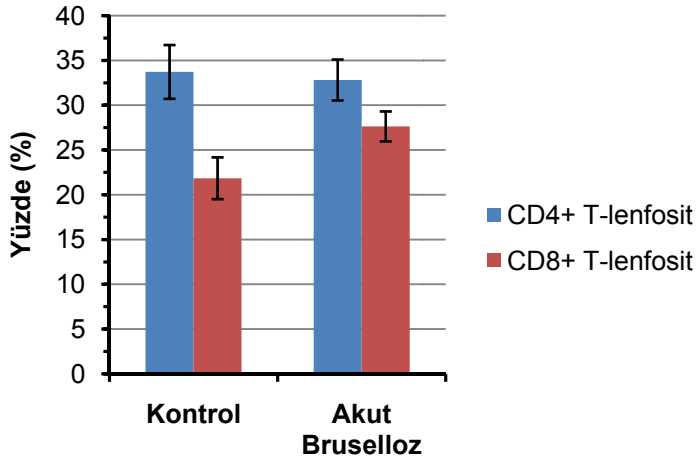
Hasta grubu ile kontrol grubunun periferik kandan çalışılan lenfosit, monosit, granülosit, CD14⁺ ve CD14⁺HLA-DR⁺ monosit, CD45⁺, ve CD3⁺ T-lenfosit, CD19⁺ B-lenfosit, CD3⁺HLA-DR⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T-lenfosit, NK hücreleri, sTREM-1 ve sHLA-G5 sonuçları Tablo 5'te ve Grafik 3, Grafik 4, Grafik 5, Grafik 6 ve Grafik 7'de gösterildi.

Tablo 5. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun kan lökosit gruplarının dağılımı.

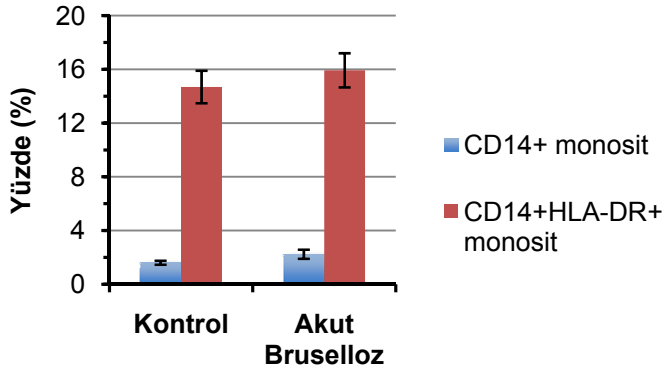
Lökosit grup ve alt grupları	Hasta grubu [Ortalama±SS (min-maks); (%)]	Kontrol grubu [Ortalama±SS (min-maks); (%)]	p
Lenfosit	22,9±10,4(4,6-44,6)	27,2±11,4 (9,1-52,9)	0,164
Monosit	2,2±1,3 (0,2-4,8)	1,8±0,8 (0,6-3,3)	0,226
Granülosit	17,6±13,3 (1,2-47)	16,5±6,6 (6,4-33,8)	0,697
CD45 ⁺ T-lenfosit	49±21,6 (7,2-83,3)	42,3±17,1 (19,8-83,6)	0,230
CD14 ⁺ monosit	2,2±1,7 (0,3-7)	1,6±0,7 (0,5-2,8)	0,090
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ monosit	97,7±2,9 (89,5-100)	97,1±2,5 (89,4-100)	0,143
CD3 ⁺ T-lenfosit	67,6±16,5 (21,3-88,1)	53,2±14,6 (21,4-71,9)	0,002
CD19 ⁺ B-lenfosit	7,6±3,7 (2,5-16,6)	9±4 (3,1-15,1)	0,241
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ T-lenfosit	39,7±10,6 (20,4-64,6)	10,6±4,4(4,4-21,1)	0,0001
CD4 ⁺ T-lenfosit	32,8±11,5 (8-56,2)	33,7±13,4 (7,8-58,4)	0,794
CD8 ⁺ T-lenfosit	27,6±8,4 (10,1-43,1)	21,8±11 (5,4-49,9)	0,041
NK hücreleri	8,5±3,1 (4-16,1)	9,7±5,5 (2-21,7)	0,364
NK-T hücreleri	6,3±6,7 (0,8-32,4)	4,7±3,9 (0,8-20,1)	0,497



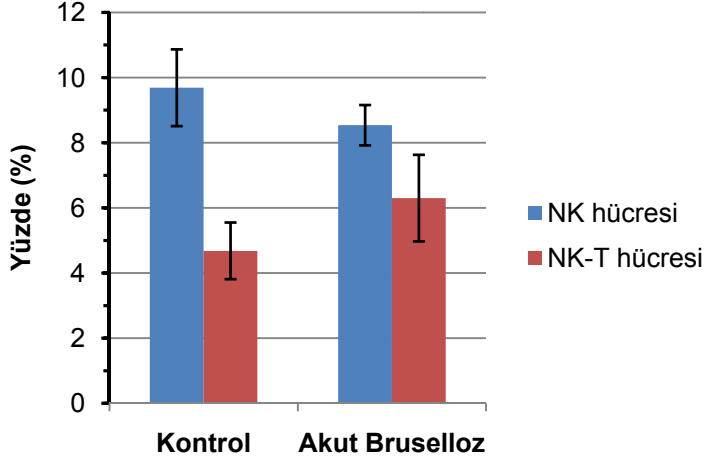
Grafik 3. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama lenfosit ve granülosit düzeyleri.



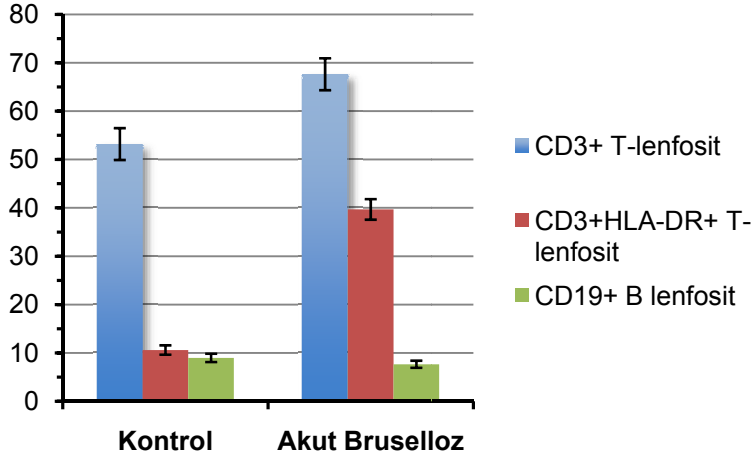
Grafik4. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama CD4⁺ ve CD8⁺ T-lenfosit düzeyleri.



Grafik 5. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama CD14⁺ ve CD14⁺HLA-DR⁺ monosit düzeyleri.

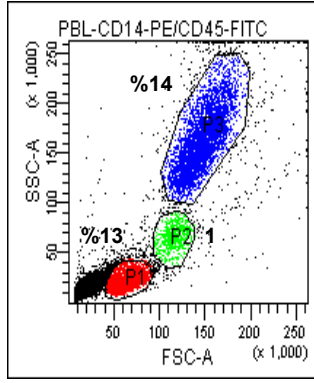


Grafik 6. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama NK ve NK-T hücreleri düzeyleri.

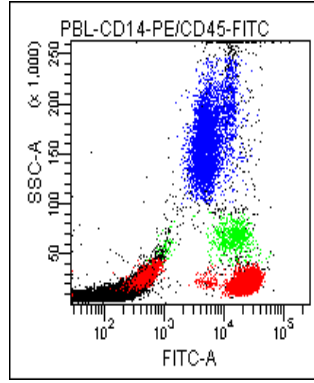


Grafik 7. Akut brusellozlu hastaların ve kontrol grubunun ortalama CD3⁺, CD3⁺HLA-DR⁺ T-lenfosit ve CD19⁺ B-lenfosit düzeyleri.

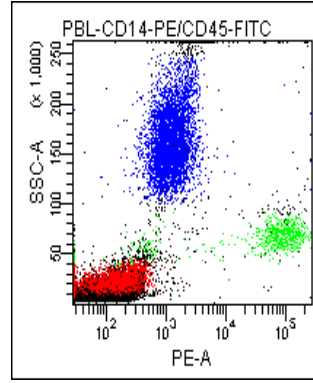
Sağlıklı kontrol grubu ve akut bruselloz hastalarından birine ait CD45⁺ ve CD14⁺T-lenfosit akım sitometri grafikleri Grafik 8’de, CD14⁺ ve CD14⁺HLA-DR⁺ monosit akım sitometri grafikleri Grafik 9’da, CD3⁺CD19⁺ ve CD3⁺CD19⁻T-lenfosit akım sitometri grafikleri Grafik 10’da, CD3⁺HLA-DR⁺ ve CD3⁺T-lenfosit akım sitometri grafikleri Grafik 11’de, CD3⁺CD4⁺ ve CD3⁺CD8⁺T-lenfosit akım sitometri grafikleri Grafik 12’de ve NK ve NK-T (CD3⁺CD16⁺56⁺) hücre grupları akım sitometri grafikleri Grafik 13’de gösterildi.



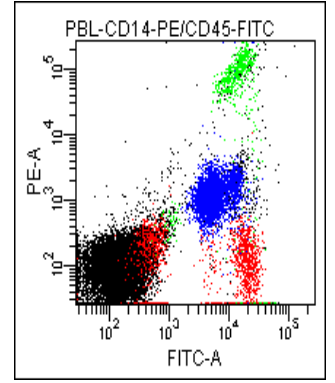
Grafik 8a



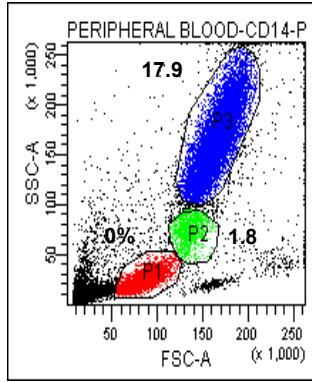
Grafik 8b



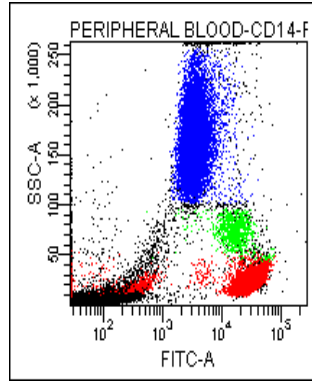
Grafik 8c



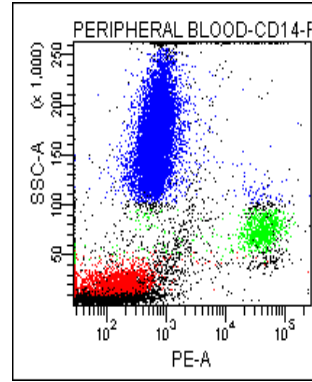
Grafik 8d



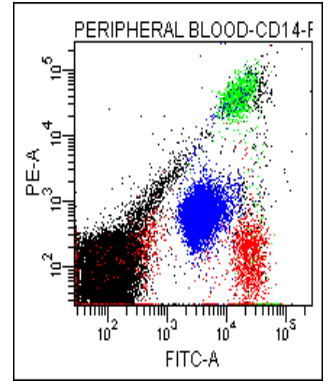
Grafik 8e



Grafik 8f

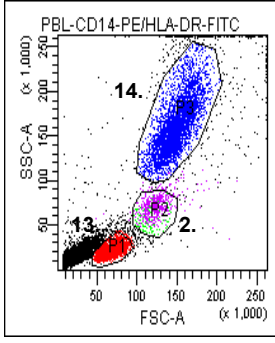


Grafik 8g

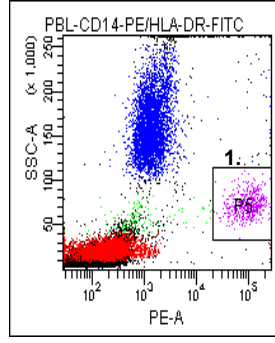


Grafik 8h

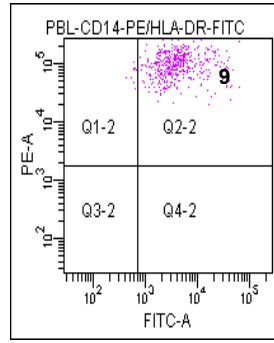
Grafik 8. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün (Grafik 8a, 8b, 8c, 8d) ve akut brusellozlu bir hastanın (Grafik 8e, 8f, 8g, 8h) periferik kan mononükleer hücrelerinin dağılımını gösteren temsili akım sitometri görüntüsü. (Hücrelerde ortak lökosit belirteci CD45⁺ T-lenfositte özgül FITC boyalı monoklonal antikor ve monosit belirteci CD14⁺ monosite özgül Phycoerythrin boyalı monoklonal antikor ile işaretlenmiştir. P1 kapısı lenfositlerin, P2 kapısı monositlerin, P3 kapısı granülositlerin yüzdesini ifade etmektedir).



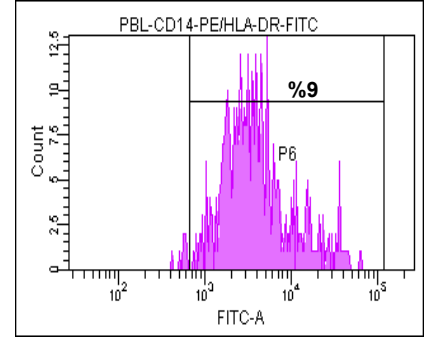
Grafik 9a



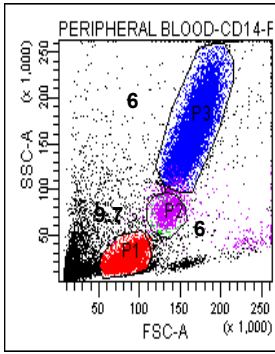
Grafik 9b



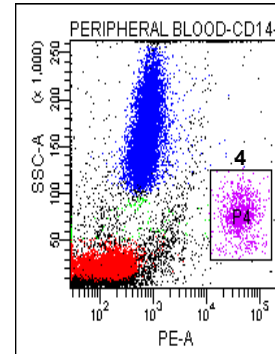
Grafik 9c



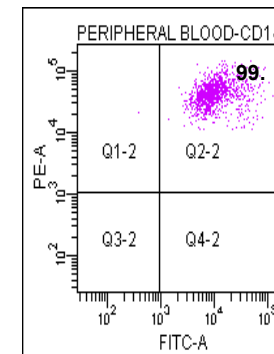
Grafik 9d



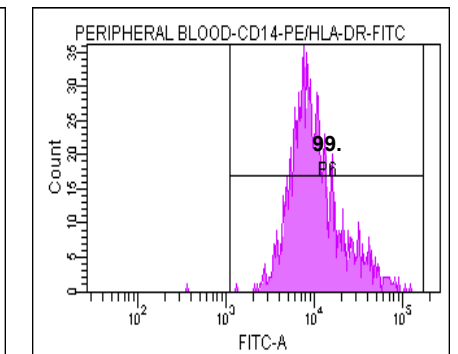
Grafik 9e



Grafik 9f

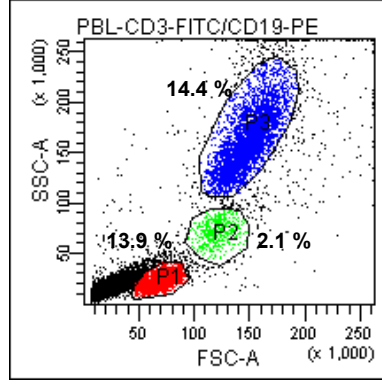


Grafik 9g

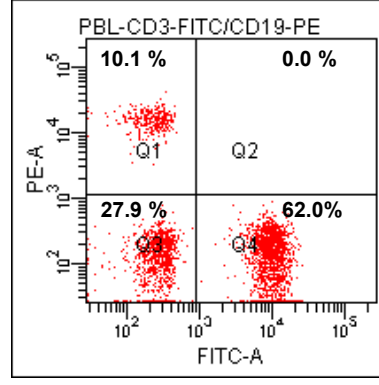


Grafik 9h

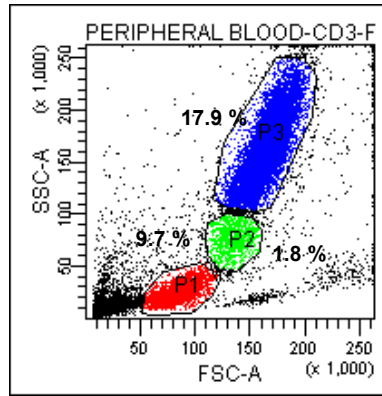
Grafik 9. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün (Grafik 9a, 9b, 9c, 9d) ve akut brusellozlu bir hastanın (Grafik 9e, 9f, 9g, 9h) periferik kan mononükleer hücrelerinde CD14⁺ monosit oranını ve CD14⁺HLA-DR⁺ hücre dağılımını gösteren temsili akım sitometri görüntüsü. (P1 kapısı lenfositlerin, P2 kapısı monositlerin, P3 kapısı granüositlerin, P4 ve P5 kapısı CD14⁺ monositlerin, P6 kapısı CD14⁺HLA-DR⁺ hücre gruplarının yüzdesini ifade etmektedir).



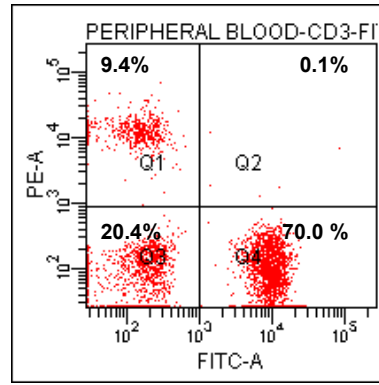
Grafik 10a



Grafik 10b

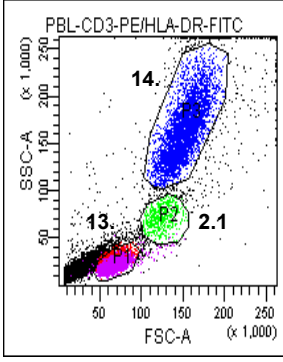


Grafik 10c

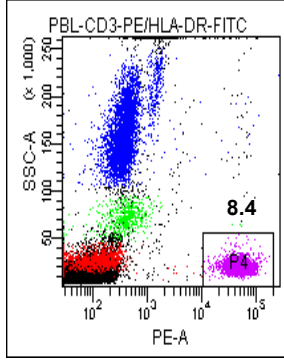


Grafik 10d

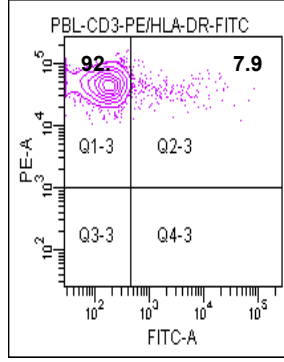
Grafik 10. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün (Grafik 10a, 10b) ve akut brusellozlu bir hastanın (Grafik 10c, 10d) periferik kan hücrelerinde CD3⁺ T-lenfosit ve CD19⁺ B-lenfosit hücre dağılımını gösteren temsili akım sitometri görüntüsü. (P1 kapısı lenfositlerin, P2 kapısı monositlerin, P3 kapısı granülositlerin yüzdesini ifade etmektedir. Q1, CD3⁺CD19⁺ B-lenfositleri; Q4, CD3⁺CD19⁻ T-lenfositlerin yüzdesini ifade etmektedir).



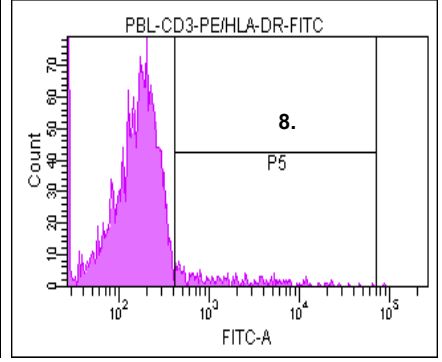
Grafik 11a



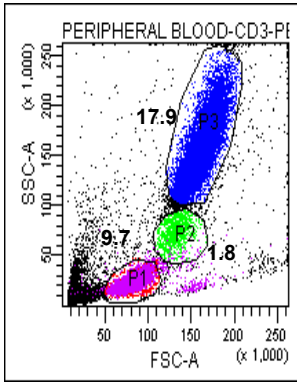
Grafik 11b



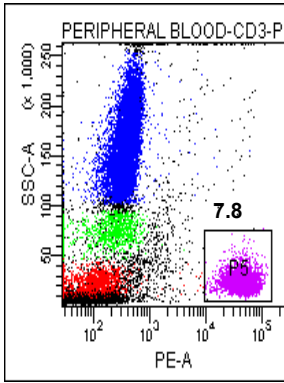
Grafik 11c



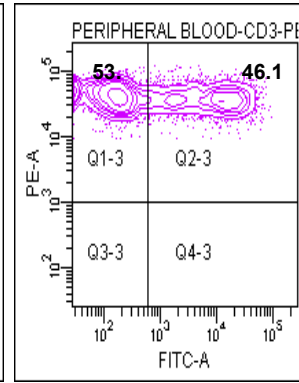
Grafik 11d



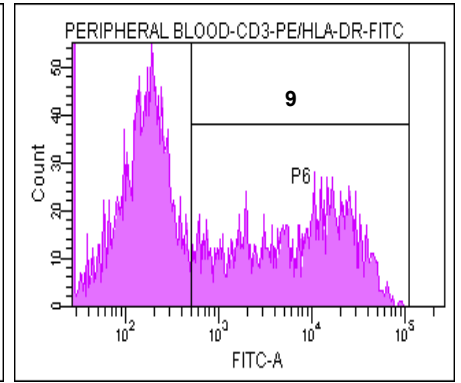
Grafik 11e



Grafik 11f

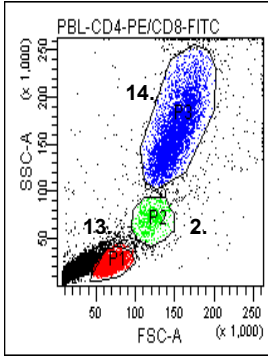


Grafik 11g

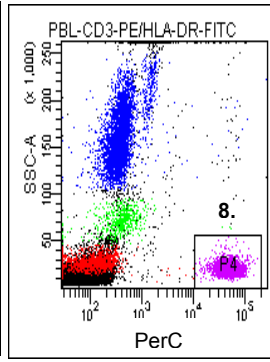


Grafik 11h

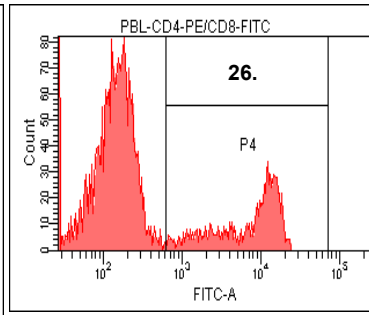
Grafik 11. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün (Grafik 11a, 11b, 11c, 11d) ve akut brusellozlu bir hastanın (Grafik 11e, 11f, 11g, 11h) periferik kan hücrelerinde aktive olmuş T-lenfositlerin ($CD3^+HLA-DR^+$) dağılımını gösteren temsili akım sitometri görüntüsü. (Aktive T-lenfosit grubu $CD3^+$ hücre grubunu belirleyen kapı üzerinden analiz edilmiştir. P1 kapısı lenfositlerin, P2 kapısı monositlerin, P3 kapısı granüositlerin, P4 ve P5 kapıları $CD3^+$ T-lenfositlerin, P5 ve P6 kapıları aktive T-lenfositlerin ($CD3^+HLA-DR^+$) yüzdesini ifade etmektedir. P1 kapısı lenfositlerin, P2 kapısı monositlerin, P3 kapısı granüositlerin yüzdesini ifade etmektedir. Grafik 11b ve 11f de, P4 ve P5 kapısı $CD3^+$ T-lenfositleri yüzdesini ifade etmektedir. Grafik 11d ve 11h de P5 ve P6 kapıları Aktive T-lenfosit yüzdesini ifade etmektedir).



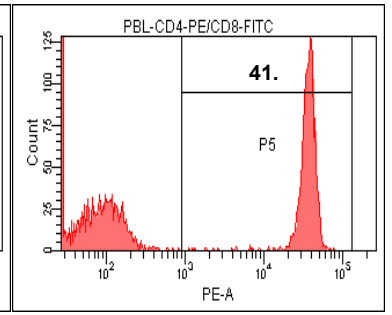
Grafik 12a



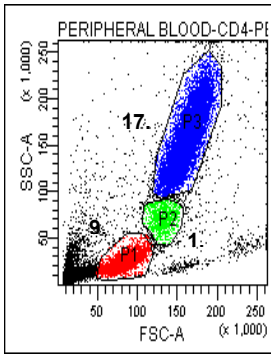
Grafik 12b



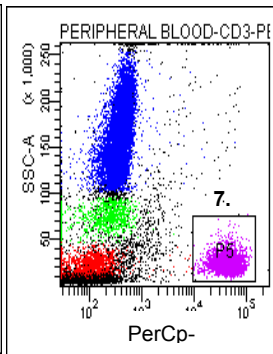
Grafik 12c



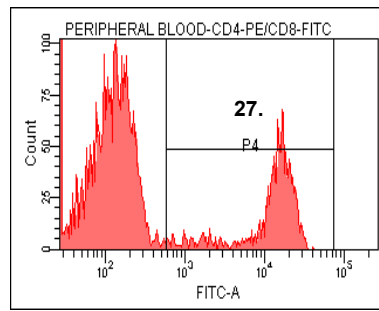
Grafik 12d



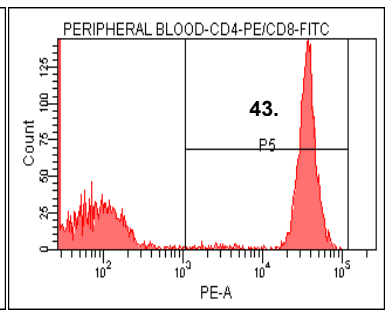
Grafik 12e



Grafik 12f

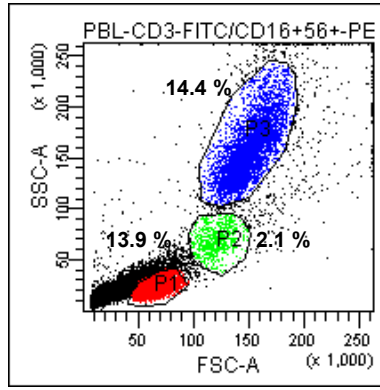


Grafik 12g

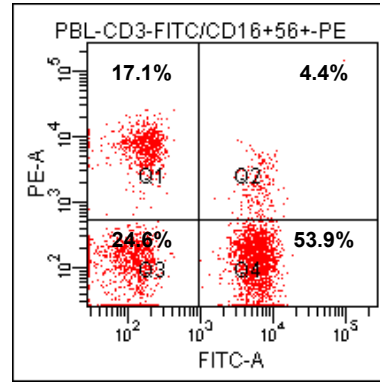


Grafik 12h

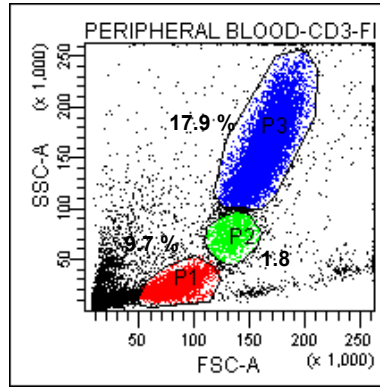
Grafik 12. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün (Grafik 12a, 12b, 12c, 12d) ve akut brusellozlu bir hastanın (Grafik 12e, 12f, 12g, 12h) periferik kan mononükleer hücrelerinde yardımcı T-lenfosit ($CD3^+CD4^+$) ve sitotoksik T-lenfosit ($CD3^+CD8^+$) hücre gruplarının dağılımını gösteren temsili akım sitometri görüntüsü. (Yardımcı ve sitotoksik T-lenfosit gruplarının dağılımı $CD3^+$ T-lenfosit kapısı üzerinden analiz edilmiştir. Grafik 12c ve 12g $CD3^+CD8^+$ T-lenfosit grubunu, Grafik 12d ve 12h $CD3^+CD4^+$ T-lenfosit grubunu göstermektedir. P1 kapısı lenfositlerin, P2 kapısı monositlerin, P3 kapısı granülositlerin yüzdesini ifade etmektedir).



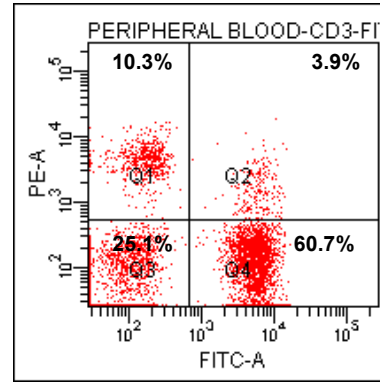
Grafik 13a



Grafik 13b



Grafik 13c



Grafik 13d

Grafik 13. Sağlıklı kontrol grubundan bir gönüllünün (Grafik 13a ve 13b) ve akut brusellozlu bir hastanın (Grafik 13c ve 13d) periferik kan mononükleer hücrelerinde NK ve NK-T hücre gruplarının dağılımını gösteren temsili akım sitometri görüntüsü. (P1 kapısı lenfositlerin, P2 kapısı monositlerin, P3 kapısı granülositlerin yüzdesini ifade etmektedir. Grafik13b ve 13d de Q1, NK; Q2 ise NK-T temsil etmektedir).

Hasta ve kontrol grupları arasında lenfosit, monosit, CD45⁺ T-lenfositleri, CD19⁺ B-lenfositleri, CD4⁺ T-lenfositleri, NK hücreleri, CD14⁺HLA-DR⁺ hücreleri düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken; hasta grubunun CD3⁺HLA-DR⁺ ve CD8⁺ T-lenfosit düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek bulundu (sırası ile p=0.0001 ve p=0.041).

Her iki grup arasında granülosit, CD14⁺monosit ve CD14⁺HLA-DR⁺ hücreleri, sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Hasta grubundaki CD3⁺ T-lenfosit düzeylerinin kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p=0.001).

Hasta ve kontrol grubu arasında sTREM-1 ile sHLA-G5 arasında, sTREM-1 ve sHLA-G5 ile CD3⁺, CD8⁺, CD3⁺HLA-DR⁺ ve CD4⁺ T-lenfositleri, CD14⁺ monosit, CD19⁺ B-lenfositleri, NK ve NK-T hücreleri arasında ve CD4⁺ ile CD8⁺T-lenfositleri arasında korelasyon olup olmadığı araştırıldı. sTREM-1 ve sHLA-G5 arasındaki korelasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p=0.001). sTREM-1 ve sHLA-G5 ile CD3⁺, CD8⁺, CD3⁺HLA-DR⁺ve CD4⁺ T-lenfositler,CD14⁺ monosit, CD19⁺ B-lenfositler, NK ve NK-T hücreleri ve CD4⁺ ile CD8⁺ T-lenfositlerarasında bir korelasyon olmadığı görüldü (Tablo 6).

Tablo 6. Hastaların bazı immünolojik parametrelerinin korelasyonu.

Korelasyonu Yapılan Parametreler		p
sTREM-1	sHLA-G5	0,001
sTREM-1	CD3 ⁺ T-lenfosit	0,739
sTREM-1	CD8 ⁺ T-lenfosit	0,833
sTREM-1	CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ T-lenfosit	0,469
sTREM-1	CD14 ⁺ monosit	0,537
sTREM-1	CD4 ⁺ T-lenfosit	0,373
sTREM-1	CD19 ⁺ B-lenfosit	0,848
sTREM-1	NK hücreleri	0,569
sTREM-1	NK-T hücreleri	0,603
sHLA-G5	CD3 ⁺ T-lenfosit	0,677
sHLA-G5	CD8 ⁺ T-lenfosit	0,650
sHLA-G5	CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ T-lenfosit	0,281
sHLA-G5	CD14 ⁺ monosit	0,187
sHLA-G5	CD4 ⁺ T-lenfosit	0,888
sHLA-G5	CD19 ⁺ B-lenfosit	0,719
sHLA-G5	NK hücreleri	0,847
sHLA-G5	NK-T hücreleri	0,335
CD4 ⁺ T-lenfosit	CD8 ⁺ T-lenfosit	0,466

5. TARTIŞMA

Bruselloz dünyada yaygın bir zoonozdur. Tanı klinik bulguları olan hastalarda brusella tüp aglütinasyon titresinin 1/160 veya üzerinde olması, ya da etkenin kültürde izolasyonu ile konur. Çalışmamıza dahil edilen olguların birinde brusella tüp aglütinasyonu tanı koydurucu titrede olmamasına karşın kan kültüründeki üreme ile tanı kondu. Hastalarımızın kan kültürü alınabilenlerin %60'ında kan kültüründe üreme saptandı. Aygen ve arkadaşlarının 480 hastada brusellozun klinik özellikleri, komplikasyonları ve tedavisini değerlendirdikleri retrospektif bir çalışmada kan kültüründe *Brucella spp.* üreme oranı % 45, brusella tüp aglütinasyon titresini 1/160 ve üzeri olan hasta oranı %91.7 olarak bulunmuştur (29). Doganay ve arkadaşlarının bruselloz ile ilgili yazdığı derlemede, kan kültüründe üreme oranının literatürde %15-80 olduğu bildirilmiştir (4).

Brucella türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara karşı gelişen konak immün yanıtta antijen spesifik T hücre aktivasyonu, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositleri ve humoral immün cevap rol oynamaktadır. Bununla birlikte asıl koruyucu immün yanıt hücresel immünitedir. Hücresel bağışıklıkta temelde iki tip reaksiyon rol oynar. T lenfosit kökenli sitokinler, mikroorganizmaların öldürülmesine yol açarken, diğer taraftan CD8⁺ sitolitik T lenfositleri yolu ile enfekte hücrelerin lizisi gerçekleşir (213). Hücre içi mikroorganizmaların öldürülmesinde rol alan edinsel bağışıklık sisteminde T lenfositler rol oynamaktadır. Hücre içi bakterilerin protein yapısındaki antijenleri ile naif T lenfositleri periferik lenfoid organlarda karşılaşır. Bu organlarda antijenler işlenerek antijen sunan hücreler üzerindeki MHC molekülleri tarafından sunulur. Aktive olan T lenfositleri mikrobiyal antijenleri tanıyabilen ve elimine edebilen

farklılaşma sürecine girer. Naif CD4⁺ T hücresi, efektör ve bellek CD4⁺ T hücresine dönüşürken, naif CD8⁺ T hücresi aynı şekilde efektör ve bellek CD8⁺ T hücresine dönüşür. CD4⁺ T hücreleri makrofaj, B hücreleri ve diğer hücrelerin aktivasyonuna yol açarken, CD8⁺ T hücresi enfekte hedef hücrelerin ölümüne ve makrofaj aktivasyonuna yol açar (214).

CD4⁺ yardımcı T hücreleri, değişik sitokinleri üreterek farklı fonksiyonlara neden olan efektör hücre alt gruplarına farklılaşabilirler. Bu alt grupların en iyi tanımlananı “T helper” (Th)1 hücreleri ve Th2 hücreleri olarak adlandırılmıştır (214). *Brucella*'ya karşı Th1 immün yanıt antijen spesifik CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositlerinden IFN- γ ve IL-2 salınımı ile sonuçlanır. IFN- γ makrofajların bakterisidal fonksiyonunu güçlü bir biçimde aktive eder, CD8⁺ T lenfosit aracılı sitotoksititeyi uyarır ve enfekte makrofajların apoptotik ölümünü artırır (215-217).

Rodriguez-Zapata ve arkadaşlarının yoğun Th1 yanıtının defektif monosit fonksiyonu ile ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında tedavi edilmemiş hastalarda CD3⁺CD4⁺ ve CD3⁺CD8⁺ T lenfositlerin yüzdesinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olmadığını bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada CD3⁺HLA-DR⁺ T-lenfosit düzeylerinin akut brusellozlu hastalarda tedavi öncesinde sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (218). Bununla birlikte Akbulut ve arkadaşlarının brusellozlu hastalarda akım sitometri yöntemi kullanılarak Th1 ve Th2 hücreleri tarafından üretilen hücre içi sitokinlerin saptanmasına yönelik yaptığı başka bir çalışmada ise; CD3⁺CD4⁺ T lenfositlerin sayısının kontrol grubuna göre dikkat çekecek şekilde azaldığını fakat CD3⁺CD8⁺ T lenfositlerin sayısının ise kontrol grubuna göre arttığını bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada CD3⁺ T-lenfosit sayısında hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır (219). Bizim çalışmamızda ise akut brusellozlu hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubu arasında lenfosit, monosit, granülosit, CD14⁺ monosit, CD14⁺HLA-DR⁺ hücreleri, CD3⁺, CD45⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T-lenfosit, CD19⁺ B-lenfosit, NK ve NK-T hücreleri düzeyleri karşılaştırılmış olup CD3⁺ve CD3⁺HLA-DR⁺T-lenfosit düzeylerinin hasta grubunda daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda T-lenfositler yüzeyinde HLA-DR reseptör düzeyine bakılmasının nedeni sadece insanlarda CD3⁺T-lenfositleri ile beraber HLA-DR reseptöründeki artış T-lenfositlerin aktivasyonunu gösteren bir işarettir (220).

Farklı grupların yaptığı çalışmalar ile uyumlu olarak araştırmamızda akut bruselloz hastalarının periferik kan örneklerinde CD3⁺ T-lenfositlerin yüksek düzeyde HLA-DR bulundurduğu saptanmıştır. Bu da hastalığın akut döneminde T-lenfositlerin aktivasyonuna işaretler ve bruselloz patogenezinde hücrel bağışıklığın rol oynadığını göstermektedir.

Çelik ve arkadaşlarının akut brusellozlu hastalarda lenfosit alt gruplarını değerlendirdiği bir çalışmada NK hücrelerinin ve toplam lenfosit sayısının hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca CD8⁺ T-lenfosit sayısının da hasta grubunda kontrol grubuna oranla yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte yine aynı çalışmada CD3⁺T-lenfosit sayısı hasta grubunda, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı çalışmada CD19⁺B-lenfosit ve CD4⁺/CD8⁺T-lenfosit oranının sağlıklı gönüllülerde hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (221). Bizim çalışmamızda ise hasta grubu ile kontrol grubu arasında, CD4⁺ ve CD8⁺ T-lenfosit, CD19⁺ B-lenfosit ve NK hücreleri sayısı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu parametrelerde, bizim verilerimiz ile Çelik ve arkadaşlarının verileri arasında gözlenen farklılığın nedeni, bizim çalışmamızda komplikasyonu olan akut brusellozlu hastaların dahil edilmemesi olabilir.

TREM-1 son yıllarda keşfedilen immünglobülin süper ailesinin bir üyesidir. Polimorfonükleer granüositlerde ve monositlerde ifade edilir (211). Çalışmalar TREM-1'in ifade edilmesinin bakterilerin (*P. aeruginosa* ve *S. aureus* gibi) veya mantarların (*A. fumigatus*) hücre kültüründe, peritoneal lavaj sıvısında ve bu mikroorganizmalarla enfekte doku örneklerinde sıklıkla "upregüle" edildiğini göstermiştir (211, 222, 223). TREM-1 enfeksiyöz olmayan inflamatuvar durumları olan hastalardan alınan örneklerde ise "upregüle" edilmez (203). TREM-1'in ifade edilmesi çözünebilir TREM-1'in salınımı ile ilişkilidir. Sharif ve arkadaşlarının TREM-1'in doğal bağışıklık ve bakteriyel enfeksiyonlardaki rolü ile ilgili yaptığı bir çalışmada sepsis ve septik şok tanısı olan hastalarda TREM-1 ifade edilmesinin arttığı gösterilmiştir (198). Yine Li ve arkadaşları sepsisten şüphelenilen postoperatif hastalarda sTREM-1'in tanısal değeri ile ilgili yaptıkları çalışmada sTREM-1 düzeylerinin sepsisli hastalarda sepsis olmayan hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (224). Bizim çalışmamızda ise hasta grubunda sTREM-1 düzeylerinin sağlıklı kontrol

grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi. Literatürde akut bruselloz hastalarında TREM-1 düzeyleri ile ilgili benzer bir çalışma bulunamadı.

HLA-G klasik olmayan sınıf I doku uygunluk kompleks molekülleridir. HLA-G molekülleri doku sınırlı ifade edilme özelliği göstermektedir: Maternal-fetal toleransta majör bir rol oynayan ekstravillöz sitotrofoblastlarda ifade edilmektedir. HLA-G maternal uterin membran lenfositleri ile etkileşimi yoluyla immünotolerans sağlar bu da HLA-G'nin fetusu maternal immün yanıtı koruduğunu düşündürmektedir. Hem membrana bağlı hem de çözünebilir HLA-G molekülleri NK hücre aracılı sitolizi ve allojeneik T hücre proliferasyonunu baskılar (225-227). Donaghy ve arkadaşlarının visseral layşmanyazisi olan veya olmayan HIV ile enfekte hastalarda sHLA-G düzeylerini değerlendirdiği bir çalışmada, dolaşımdaki sHLA-G düzeylerinin HIV ile enfekte bireylerde sağlıklı kontrol grubuna göre dikkat çekici bir biçimde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (228). Bizim çalışmamızda ise akut brusellozlu hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında sHLA-G düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Literatürde akut brusellozlu hastalarda sHLA-G düzeyleri ile ilgili benzer bir çalışma bulunamadı. Ancak sHLA-G'nin inflamatuvar immün yanıtın düzenlenmesinden sorumlu olan molekül olduğu düşünülürse akut bruselloz esnasında dolaşımda artış göstermemesi, inflamatuvar immün yanıtın sürekliliğini engellediği ve bakterinin sHLA-G'yi immün yanıtı kaçış mekanizması olarak kullanmadığının bir göstergesi olabilir. sHLA-G'nin diğer periferik kan fenotipik belirteçleri ile korelasyon göstermemesi akut brusellozda gelişen immün yanıtta sHLA-G'nin rol almadığının göstergesi olabilir.

TREM-1 inflamatuvar yanıt esnasında açığa çıkan bir moleküldür. TREM-1, inflamatuvar yanıtı uyaran bir molekül olmasına karşın, bizim çalışmamızda akut brusellozlu hastalarda artmaması ve daha da önemlisi sHLA-G düzeyi ile korelasyon göstermesi, bruselloz immünopatogenezini anlamada bir adım oluşturabilir. Akut bruselloz esnasında sistemik dolaşımdaki TREM-1 düzeyinde artış olmaması, *Brucella*'nın inflamatuvar immün yanıtı düzenlemeye yönelik bir kaçış mekanizması olabileceği gibi, akut bruselloz esnasında dolaşımdaki TREM-1 düzeyini artıracak eşikte bir inflamatuvar yanıtın gelişemediği de düşünülebilir.

Akut brusellozlu hastalarda, brusellozun insandaki immünopatogenezini daha iyi anlayabilmek için; sTREM-1 ve sHLA-G düzeyleri ile birlikte diğer immünolojik/immünogenetik parametreleri de içeren çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu sayede bruselloz için belki de yeni tedavi ve immünoproflaksi alternatifleri geliştirilebilecektir.

6. SONUÇLAR

- Akut brusellozlu hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında sHLA-G düzeyleri arasında istatistiksel farklılık yoktu.
- Akut brusellozlu hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında sTREM-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.
- Akut brusellozlu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında CD3⁺ T-lenfosit düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı.
- Akut brusellozlu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında CD4⁺ T-lenfosit düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı.
- Akut brusellozlu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında CD8⁺ T-lenfosit düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı.
- Akut brusellozlu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında lenfosit, monosit, granülosit, CD45⁺ T-lenfosit, CD14⁺ monosit, CD14⁺HLA-DR⁺, CD19⁺ B-lenfosit, NK ve NK-T hücreleri düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı.
- Akut brusellozlu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında CD3⁺HLA-DR⁺ düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı.
- Akut brusellozlu hasta grubunda sTREM-1 ve sHLA-G arasında korelasyon saptandı.
- Akut brusellozlu hasta grubunda sTREM-1 ile lenfosit alt grupları arasında korelasyon yoktu.

- Akut brusellozlu hasta grubunda sHLA-G ile lenfosit alt grupları arasında korelasyon saptanmadı.
- Akut brusellozlu hasta grubunda CD4⁺ ve CD8⁺ arasında korelasyon saptanmadı.

7. ÖZET

İmmün yanıtı yönlendiren sTREM-1, sHLA-G5 ve HLA-DR faktörlerinin akut brusellozlu hastalardaki düzeylerinin araştırılması.

Bruselloz çeşitli yollarla insana bulaşabilen, etkeni *Brucella spp.* olup, dünyada ve ülkemizde yaygın görülen zoonotik bir hastalıktır. Yöremizde endemik olarak bulunmaktadır. Fakültatif hücre içi bakteridir. Bu nedenle tedavisi uzun sürmekte ve hastalık relaps ve reenfeksiyonlarla karşımıza çıkabilmektedir. Tüm sistemleri etkileyebilen hastalık nadir de olsa kalıcı sekellere ve hatta ölümlere yol açabilmektedir. Bu çalışmanın amacı komplikasyonsuz akut bruselloz hastalarında lenfosit alt tiplerinin ve sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeylerinin tespiti ile bruselloz patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktır.

Bu çalışmada 25 sağlıklı kontrol grubu ile komplikasyonsuz akut bruselloz tanısı almış 25 olgunun tedavi öncesi serumlarında ELISA yöntemi ile sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeyleri; akım sitometri yöntemi ile lenfosit, monosit, granülosit, CD14⁺ monosit, CD14⁺HLA-DR⁺ hücreleri, CD45⁺, CD3⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T-lenfosit, CD19⁺ B-lenfosit, NK ve NK-T hücre düzeyleri çalışılmıştır.

Çalışma sonucunda hasta grubunda CD3⁺, CD8⁺ ve CD3⁺HLA-DR⁺T-lenfosit düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu saptanırken ($p < 0,05$), diğer lenfosit alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeyleri arasında hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Fakat hasta

grubunda sTREM-1 ve sHLA-G5 arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuç olarak bruselloz tip 1 hücresel immünitinin daha ön planda olduğu bir hastalıktır.

Bruselloz immünopatogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi için sTREM-1 ve sHLA-G5 ile ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

8. SUMMARY

Investigation of sTREM-1 and sHLA-G5 levels which directs immune response in acute brucellosis patients.

Brucellosis that occurred by *Brucella spp.* is an important zoonotic disease which can be transmitted to people with several ways and seen widespread in Turkey and in the world. It exists as an endemic in our region. It is a facultative intracellular bacteria. So the treatment of the disease takes a long time and disease may occur with relapse and reinfections. Disease which can affect all systems, rarely can cause permanent sequelae and moreover deaths.

In this study, the levels of sTREM-1 and sHLA-G5 have been determined by ELISA method, the levels of lymphocyte, monocyte, granulocyte, CD14⁺ monocyte, CD14⁺HLA-DR⁺ cells, CD45⁺, CD3⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocyte, CD19⁺ B-lymphocyte, NK and NK-T cells have been determined by flow cytometry method in non-complicated brucellosis cases pre-treatment serums and compared with a control group. The aim of this study is to determine the levels of lymphocyte subsets and sTREM-1 and sHLA-G5 with uncomplicated acute brucellosis patients and provide a better understanding of the pathogenesis of brucellosis.

This study includes 25 brucellosis patients and 25 healthy volunteers. According to the findings of the study, it is found that levels of CD3⁺, CD8⁺ and CD3⁺HLA-DR⁺T-lymphocyte are significantly higher in the patient group ($p < 0,05$). Other lymphocyte subpopulations are not found significant as different ($p > 0,05$). The levels of sTREM-1 and sHLA-G5 are not found significantly between the patients group and the volunteers group ($p > 0,05$). But correlation between sTREM-

1 and sHLA-G5 is found significant as statistically ($p < 0,05$). As a result, brucellosis is a disease which type 1 cellular immunity stands in the forefront.

Further studies are needed about sTREM-1 and sHLA-G, for a better understanding of immunopathogenesis of brucellosis.

9. KAYNAKLAR

1. Aktug Demir N. Brusellozda Hücresel İmmün Yanıtın Araştırılması [Uzmanlık Tezi]: T.C. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi 2009.
2. Hayat L. Doksisisiklin-rifampisin ve levamizol kombinasyonunun kronik brusellozlu hastaların lenfosit alt grupları ve fagositik hücre fonksiyonları üzerine etkisi [Uzmanlık Tezi]: T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi 2000.
3. World Health Organisation. Brucellosis in humans and animals. 2006
4. Doganay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. *Int J Infect Dis* 2003; 7:173-82.
5. Gonzalez A, Rebmann V, LeMaout J, Horn PA, Carosella ED, Alegre E. The immunosuppressive molecule HLA-G and its clinical implications. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2012;49:63-84.
6. Arts RJ, Joosten LA, van der Meer JW, Netea MG. TREM-1: intracellular signaling pathways and interaction with pattern recognition receptors. *J Leukoc Biol* 2013;93:209-15
7. Sözen T.H. Bruselloz. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri 2002; 1:636-42.
8. Madkour MM. Bruselloz: Genel Bakış. In Madkour. MM. Edt. *Brucellosis*. Ankara: Nobel Kitabevi 2008:1-20.
9. Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human Brucellosis. *Indian J Med Microbiol* 2007;25:188-202.
10. Young EJ. *Brucella* species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill-Livingstone, 2000:2386-93.
11. Shapiro DS, Wong JD. *Brucella*. In: Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1999;625-31.
12. Bilgehan H. Aerob gram olumsuz küçük basiller, *Brucella*. Bilgehan H, editör. *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları*. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2000:199-204.

13. Smith LD, Ficht TA. Pathogenesis of Brucella. Crit Rev Microbiol 1990; 17:209-30.
14. Baysal B. Brusella. Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö, editörler. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999:571-7.
15. Onul B. Brusellozis. İnfeksiyon Hastalıkları. Ankara: Ankara Üniversitesi Yayınları. 1983:715.
16. Memish Z, Mah MW, Al Shaalan M, Khan Y. Brucella bacteraemia: Clinical and laboratory observation in 160 patients. J Infect 2000;40:59-63.
17. Gorvel JP, Moreno E. Brucella intracellular life: from invasion to intracellular replication. Vet Microbiol 2002;90:281-97.
18. Lopez-Goni I, Guzman-Verri C, Manterola L, Sola-Landa A, Moriyon I, Moreno E. Regulation of Brucella virulence by the two-component system BvrRiBvrS. Vet Microbiol 2002;90:329-39.
19. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis 1997;3:213-21.
20. Trujillo IZ, Zavala AN, Caceres JG, Miranda CQ. Brucellosis. Infect Dis Clin North Am 1994;8:225-41.
21. Hall WH. Brucellosis. In: Evans AS, Brachman PS, eds. Bacterial infections of humans, epidemiology and control, 2nd ed. New York: Plenum Medical Book Co., 1991:133-49.
22. Sohn AH, Probert WS, Glaser CA, Gupta N, Bollen AW, Wong JD, et al. Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by marine mammal Brucella spp. Emerg Infect Dis 2003;9:485-8.
23. Roux J. Public health importance of brucellosis. In: Tümbay E, Hilmi S, Anđ Ö, eds. Brucella and brucellosis in man and animals. İzmir: Ege University Press 1991:3-10.
24. Memish Z. Brucellosis control in Saudi Arabia: prospects and challenges. J Chemoter 2001; 13(suppl 1):11-7.
25. Fiori PL, Mastrandrea S, Rappelli R, Cappuccinelli P. Brucella abortus infection acquired in microbiology laboratories. J Clin Microbiol 2000; 38:2005-6.
26. Ariza J, Gudiol F, Pallares R, Viladrich PF, Rufi G, Corredoira J, et al. Treatment of human brucellosis with doxycycline plus rifampin or doxycycline plus streptomycin. Ann Intern Med 1992; 117:25-30.

27. Akova M, Uzun Ö, Akalin HE, Hayran M, Ünal S, Gür D. Quinolons in treatment of human brucellosis: comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1831-4.
28. Solera J, Rodriguez-Zapata M, Geijo P, Largo J, Paulino J, Sa ez L. Doxycycline-rifampin versus doxycycline-streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:2061-7.
29. Aygen B, Doganay M, Sumerkan B, Yildiz O, Kayabas U. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: an evaluation of 480 patients. *Med Mal Infect* 2002;32:485-93.
30. Moreno S, Ariza J, Espinosa FJ, Podzamczar D, Miro JM, Rivero A, et al. Brucellosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:319-26.
31. Doganay M, Aygen B, Inan M, Ozbakir O. *Brucella* peritonitis in a cirrhotic patients with ascites. *Eur J Med* 1993;2:441-2.
32. Demirkan F, Akalin HE, Simsek H, Ozyilkan E, Telatar H. Spontaneous peritonitis due to *Brucella melitensis* in a patient with cirrhosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12:66-7.
33. Ruben B, Band JD, Wong P, Colville J. Person-to-person transmission of *Brucella melitensis*. *Lancet* 1991;337:14-5.
34. Goossens H, Marcelis L, Dekeyser P, Butzler JP. *Brucella melitensis*: person to person transmission. *Lancet* 1983;1:773.
35. Naparstek E, Block CS, Slavin S. Transmission of brucellosis by bone marrow transplantation. *Lancet* 1982; 1:574.
36. Doganay M, Aygen B, Esel D. Brucellosis due to blood transfusion. *J Hosp Infect* 2001; 49:151-2.
37. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı 1996-1999. Ankara: Turkish Ministry of Health, 2001.
38. <http://www.saglik.gov.tr/TR/istatistik/2006/tablo31.htm>
39. Cetin ET, Coral B, Bilgic A, Bilgehan E, Sipahioglu U. Türkiye’de insanda bruselloz insidansının saptanması. *Turkish J Med Sci* 1990; 14:324-34.

40. Doyle TJ, Bryan RT. Infectious disease morbidity in the US region bordering Mexico, 1990-1998. *J Infect Dis* 2000; 182:1503-10.
41. Steffen R. Antacids: a risk factor in travellers brucellosis. *Scand J Infect Dis* 1977; 9:311-2.
42. Young EJ. Brucellosis. In: Emmerson AM, Hawkey PM, Gillespie SH, eds. *Principals and practice of clinical bacteriology*. Chichester: Wiley, 1997:337-48.
43. Pizarro-Cerda J, Moreno E, Gorvel JP. Invasion and intracellular trafficking of *Brucella abortus* in nonphagocytic cells. *Microb Infect* 2000; 2:829-35.
44. Naroeni A, Porte F. Role of cholesterol and gangliosid GM (1) in entry and short term survival of *Brucella suis* in murine macrophages. *Infect Immun* 2002; 70:1640-4.
45. Watarai M, Makino S, Fujii Y, Okamoto K, Shirahata T. Modulation of *Brucella*-induced macropinocytosis by lipid rafts mediates intracellular replication. *Cell Microbiol* 2002; 4:341-55.
46. DeVecchio VG, Kapatral V, Elzer P, Patra G, Muger CS. The genome of *Brucella melitensis*. *Vet Microbiol* 2002; 90:587-92.
47. Boschirolu ML, Ouahrani-Bettache S, Foulongne V, Michaux-Charachon S, Bourg G, Allardet-Servent A, et al. Type IV secretion and *Brucella* virulence. *Vet Microbiol* 2002; 90:341-8.
48. Lopez-Urrutia L, Alonso A, Bayon Y, Orduna A, Crespo MS. *Brucella* lipopolysaccharides induce cyclooxygenase-2 expression in monocytic cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289:372-5.
49. Caron E, Peyrard T, Köhler S, Cabane S, Liautard J-P, Dornand J. Live *Brucella* spp. fail to induce tumor necrosis factor alpha excretion upon infection of U937-derived phagocytes. *Infect Immun* 1994; 62:5267-74
50. Lopez-Urrutia S, Alonso A, Nieto ML, Bayon Y, Orduna A, Crespo MS. Lipopolysaccharides of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* induce nitric oxide synthesis in rat peritoneal macrophages. *Infect Immun* 2000; 68:1740-5.
51. Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992; 14:131-40.

52. Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis-the value of bone marrow culture. *J Infect Dis* 1986; 153:122-5.
53. Colmenero JD, Reguera JM, Fernandez-Nebro A, Cabrero-Franquela F. Osteoarticular complications of brucellosis. *Ann Rheum Dis* 1991;50:23-6.
54. Mousa ARM, Muhtaseb SA, Almudallal DS, Khodeir SM, Marafie AA. Osteoarticular complications of brucellosis: a study of 169 cases. *Rev Infect Dis* 1987;9:531-43.
55. Tasova Y, Saltoglu N, Sahin G, Aksu HZS. Osteoarticular involvement of brucellosis in Turkey. *Clin Rheumatol* 1999;18:214-9.
56. Ariza J, Pujol M, Valverde J, Nolla JM, Rufi G, Viladrich PM, et al. Brucellar sacroiliitis: findings in 63 episodes and current relevance. *Clin Infect Dis* 1993;16:761-5.
57. Tekkok IH, Berker M, Ozcan OE, Ozgen T, Akalin E. Brucellosis of spine. *Neurosurgery* 1993;33:838-44.
58. Solera J, Lozano E, Martinez-Alfaro E, Espinosa A, Castillejos ML, Abad L. *Brucella* spondylitis: review of 35 cases and literature survey. *Clin Infect Dis* 1999;29:1440-9.
59. Mousa AM, Bahar RH, Araj GF, Koshy TS, Muhtaseb SA, Al-Mudallal DS, et al. Neurological complications of brucella spondylitis. *Acta Neurol Scand* 1990;81:16-23.
60. Young EJ. Human brucellosis. *Rev Infect Dis* 1983;5:821-42.
61. Aygen B, Esel D, Erdogan N, Yildiz O, Sumerkan B, Doganay M. Psoas abscess secondary to brucellar spondylitis. *Turkish J Med Sci* 2002;32:81-3.
62. Aygen B, Sumerkan B, Mirza M, Doganay M, Arman F. Treatment of neurobrucellosis with a combination of ceftriaxone, rifampicin and doxycycline. *Med Mal Infect* 1996;26:1199-201.
63. Bouza E, Torre MG, Parras F, Guerrero A, Rodriguez-Creixems M, Gobernado J. Brucellar meningitis. *Rev Infect Dis* 1987;9:810-22.
64. McLean DR, Russel N, Khan MY. Neurobrucellosis: clinical and therapeutic features. *Clin Infect Dis* 1992;15:582-90.

65. Hadjinikolau L, Triposkiadis S, Zairis M, Chlapoutakis E, Spyrau P. Successful management of *Brucella melitensis* endocarditis with combined medical and surgical approach. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19:806-10.
66. Al-Kasab S, Al-Fagih MR, Al-Yousef S, Ali-Khan MA, Ribeiro PA, Nazzal S, et al. *Brucella* infective endocarditis: successful combined medical surgical therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988;95:862-7.
67. Al-Mudallal DS, Mousa ARM, Marafie AA. Apyrexial *Brucella melitensis* aortic valve endocarditis. *Trop Geogr Med* 1989;41:372-6.
68. Aygen B, Sumerkan B, Yildiz O, Doganay M. An unusual manifestation of brucellosis: a case with multisystemic involvement and adult respiratory distress syndrome. *Probl Infect Parasitic Dis* 2001;29:10-1.
69. Aygen B, Sumerkan B, Kardas Y, Doganay M, Inan M. Bruselloz: 183 olgunun değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi* 1995;8:13-6.
70. Crosby E, Llosa L, Quesada MM, Carillo C, Gotuzzo E. Hematologic changes in brucellosis. *J Infect Dis* 1984;150:419-24.
71. Paton NI, Tee NWS, Vu CKF, Teo TP. Visceral abscesses due to *Brucella suis* infection in a retired pig farmer. *Clin Infect Dis* 2001;32:129-30.
72. Ariza J, Pigrau C, Canas C, Marron A, Martinez F, Almirante B, et al. *Clin Infect Dis* 2001;32:1024-33.
73. Young EJ. *Brucella melitensis* hepatitis: absence of granulomas. *Ann Intern Med* 1979;91:414-5.
74. Young EJ, Tarry A, Genta RM, Ayden N, Gotuzzo E. Thrombocytopenic purpura associated with brucellosis: report of 2 cases and literature review. *Clin Infect Dis* 2000;31:904-9.
75. Ibrahim AIA, Awad R, Shetty SD, Soad M, Bilal ME. Genito-urinary complications of brucellosis. *Br J Urol* 1988;61:294-8.
76. Memish ZA, Venkatesh S. *Brucella* epididymo-orchitis in Saudi Arabia: a retrospective study of 26 cases and review of the literature. *BJU Int* 2001;88:72-6.
77. Navarro-Martinez A, Solera J, Corredoira J, Beato JL, Martinez-Alfaro E, Atienzar M, et al. Epididymo-orchitis due to *Brucella melitensis*: a retrospective study of 59 patients. *Clin Infect Dis* 2001;33:2017-22.
78. Aygen B, Sumerkan B, Doganay M, Sehmen E. Prostatitis and hepatitis due to *Brucella melitensis*: a case report. *J Infect* 1997;36:111-27.

79. Khan MY, Mah MW, Memish ZA. Brucellosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 2001;32:1172-7.
80. Franco Vicario R, Balpardo J, Santamaria JM, Alvaro C, Arizaga C, de la Villa FM, et al. Cutaneous vasculitis in a patient with acute brucellosis. *Dermatologica* 1985;171:126-8.
81. Berger TG, Guill MA, Goette DK. Cutaneous lesions in brucellosis. *Arch Dermatol* 1981;117:40-2.
82. Mili M, Auckenthaler R, Micod LP. Chronic brucella empyema. *Chest* 1993;103:620-1.
83. Gelfand MS, Kaiser AB, Dale WA. Localized brucellosis: popliteal artery aneurysm, mediastinitis, dementia and pneumonia. *Rev Infect Dis* 1989;11:783-8.
84. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:775-86.
85. Yagupski P. Detection of Brucellae in blood cultures. *J Clin Microbiol* 1999;37:3437-42.
86. Ruiz-Castañeda M. A practical method for routine blood cultures in brucellosis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1954;86:154-5
87. Ganado W, Bannister W. Bacteraemia in human brucellosis. *BMJ* 1960;1:601-3.
88. Ozturk R, Mert A, Kocak F, Ozaras R, Koksall F, Tabak F, et al. The diagnosis of brucellosis by use of BACTEC 9240 blood culture system. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44:133-5.
89. Durmaz G, Us T, Aydinli A, Kiremitci A, Kiraz N, Akgun Y. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 aerobic blood culture system: evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital. *J Clin Microbiol* 2003;41:819-21.
90. Navas E, Guerrero A, Cobo J, Loza E. Faster isolation of Brucella spp from blood by isolator compared with BACTEC NR. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993;16:79-81.
91. Bannatyne RM, Jackson MC, Memish Z. Rapid diagnosis of brucella bacteremia by using the BACTEC 9240 system. *J Clin Microbiol* 1997;35:2673-4.

92. Mantur BG, Mangalgi SS. Evaluation of conventional castañeda and lysis centrifugation blood culture techniques for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2004;42:4327-8.
93. Gaviria-Ruiz MM, Cardona-Castro NM. Evaluation and comparison of different blood culture techniques for bacteriological isolation of *Salmonella typhi* and *Brucella abortus*. *J Clin Microbiol* 1995;33:868-71.
94. Deepak S, Bronson SG, Sibi, Joseph W, Thomas M. *Brucella* isolated from bone marrow. *J Assoc Physicians India* 2003;51:717-8.
95. Etemadi H, Raissadat A, Pickett MJ, Zafari Y, Vahedifar P. Isolation of *Brucella* spp from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1984;20:586.
96. Doern GV. Detection of selected fastidious bacteria. *Clin Infect Dis* 2000;30:166-73.
97. Robichaud S, Libman M, Behr M, Rubin E. Prevention of laboratory-acquired brucellosis. *Clin Infect Dis* 2004;38:e119-22
98. Noviello S, Gallo R, Kelly M, Limberger RJ, DeAngelis K, Cain L, et al. Laboratory-acquired brucellosis. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1848-50.
99. Yagupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1180-5.
100. Miller CD, Songer JR, Sullivan JF. A twenty-five year review of laboratory-acquired human infections at the National Animal Disease Center. *Am Ind Hyg Assoc* 1987;48:271-5.
101. Turkmani A, Ioannidis A, Christidou A, Psaroulaki A, Loukaides F, Tselentis Y. In vitro susceptibilities of *Brucella melitensis* isolates to eleven antibiotics. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006;5:24
102. Akova M, Gur D, Livermore DM, Kocagoz T, Akalin HE. In vitro activities of antibiotics alone and in combination against *Brucella melitensis* at neutral and acidic pHs. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1298-300.
103. Ariza J, Bosch J, Gudiol F, Linares J, Viladrich PF, Martin R. Relevance of in vitro antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* to relaps rate in human brucellosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;30:958-60.
104. Ruiz-Mesa JD, Sanchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martin L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the diagnosis of human brucellosis in emergency department in endemic areas. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:221-5.

105. Al Dahouk S, Tomaso H, Nockler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis: a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. *Clin Lab* 2003;49:577-89.
106. Nielsen K, Smith P, Widdison J, Gall D, Kelly L, Kelly W, et al. Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. *Vet Microbiol* 2004;100:25-30.
107. Serra J, Vinas M. Laboratory diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in northeastern Spain. *Int Microbiol* 2004;7:53-8.
108. Maichomo MW, McDermott JJ, Arimi SM, Gathura PB. Assessment of the Rose Bengal plate test for the diagnosis of human brucellosis in health facilities in Narok district, Kenya. *Easr Afr Med J* 1998;75:219-22.
109. Blasco JM, Garin-Bastuji B, Marin CM, Gerbier G, Fanlo J, Jimenez de Baguez MP, et al. Efficacy of different Rose Bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Vet Rec* 1994;134:415-20.
110. Mantecon MA, Gutierrez P, del Pilar Zarzosa M, Duenas AI, Solera J, Fernandez-Lago L, et al. Utility of an immunocapture-agglutination test and an enzyme-linked immunosorbent assay test against cytosolic proteins from *Brucella melitensis* B115 in the diagnosis and follow-up of human acute brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006;55:27-35.
111. Orduna A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Duenas A, et al. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2000;38:4000-5.
112. Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Silva Paulo P, Nielsen K. Fluorescence polarization assay for diagnosis of human brucellosis. *J Med Microbiol* 2003;52:883-7.
113. Irmak H, Buzgan T, Evirgen O. Use of a new, simple and rapid diagnostic test, the brucella-IgM and IgG flow assays in the serodiagnosis of human brucellosis in an endemic area in eastern Turkey. *Am J Trop Med Hyg* 2004;70:688-94.

114. Hasanjani-Roushan MR, Soleimani-Amin MJ, Abdoel TH, Smits HL. Application of a rapid and simple brucella-specific IgM and IgG antibody test for the serodiagnosis of brucellosis in a hospital in Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005;99:744-50.
115. Buchanan TM, Faber LC. 2-mercaptoethanol brucella agglutination test: usefulness for predicting recovery from brucellosis. *J Clin Microbiol* 1980;11:691-3.
116. Nockler K, Scholz HC, Tomaso H, Bogumil R, Neubauer H. Immunoproteomic characterization of *Brucella abortus* 1119-3 preparations used for the serodiagnosis of brucella infections. *J Immunol Methods* 2006;309:34-47.
117. Bricker BJ. PCR as a diagnostic tool for brucellosis. *Vet Microbiol* 2002;90:435-46.
118. Baily GG, Krahn JB, Drasar BS, Stoker NG. Detection of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* by DNA amplification. *J Trop Med Hyg* 1992;95:272-5.
119. Bardenstein S, Mandelboim M, Ficht TA, Baum M, Banai M. Identification of the *Brucella melitensis* vaccine strain Rev1 in animals and humans in Israel by PCR analysis of PstI site polymorphism of its omp2 gene. *J Clin Microbiol* 2002;40:1475-80.
120. Cloeckert A, Grayon M, Grepinet O. An IS711 element downstream of the bp26 gene is a specific marker of *Brucella* spp isolated from marine mammals. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:835-9.
121. Leal-Klevezas DS, Martinez-Vazquez IO, Lopez-Merino A, Martinez-Soriano JP. Single-step PCR for detection of *Brucella* spp from blood and milk of infected animals. *J Clin Microbiol* 1995;33:3087-90.
122. Herman L, De Ridder H. Identification of *Brucella* spp by using the polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* 1992;58:2099-101.
123. Fekete A, Bantle JA, Halling SM, Sanborn MR. Preliminary development of a diagnostic test for brucella using polymerase chain reaction. *J Appl Bacteriol* 1990;69:216-27.
124. Queipo-Ortuno MI, Morata P, Ocon P, Manchado P, Colmenero JD. Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral-blood PCR assay. *J Clin Microbiol* 1997;35:2927-30.

125. Bricker BJ, Ewalt DR, Halling SM. Brucella 'HOOF-Prints': strain typing by multi-locus analysis of variable number tandem repeats (VNTRs). *BMC Microbiol* 2003;3:15.
126. Whatmore AM, Shankster SJ, Perrett LL, Murphy TJ, Brew SD, Thirlwall RE, et al. Identification and characterization of variable-number tandem-repeat markers for typing of Brucella spp. *J Clin Microbiol* 2006;44:1982-93.
127. Vizcaino N, Caro-Hernandez P, Cloeckaert A, Fernandez-Lago L. DNA polymorphism in the omp25/omp31 family of Brucella spp: identification of a 1.7-kb inversion in Brucella cetaceae and of 15.1-kb genomic island, absent from Brucella ovisi related to the synthesis of smooth lipopolysaccharide. *Microbes Infect* 2004;6:821-34.
128. Cloeckaert A, Verger JM, Grayon M, Paquet JY, Garin-Bastuji B, Foster G, et al. Classification of Brucella spp isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. *Microbes Infect* 2001;3:729-38.
129. Cloeckaert A, Grayon M, Grepinet O. An IS711 element downstream of the bp26 gene is a specific marker of Brucella spp isolated from marine mammals. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:835-9.
130. Whatmore AM, Murphy TJ, Shankster S, Young E, Cutler SJ, Macmillan AP, et al. Use of amplified fragment length polymorphism to identify and type brucella isolates of medical and veterinary interest. *J Clin Microbiol* 2005;43:761-9.
131. Le Fleche P, Jacques I, Grayon M, Al Dahouk S, Bouchon P, Denoëud F, et al. Evaluation and selection of tandem repeat loci for a brucella MLVA typing assay. *BMC Microbiol* 2006;6:9.
132. Al Dahouk S, Fleche PL, Nockler K. Evaluation of brucella MLVA typing for human brucellosis. *J Microbiol Methods* 2007;69:137-45.
133. Solera J, Martinez-Alfaro E, Saez L. Meta-analysis of the efficacy of the combination of rifampicin and doxycycline in the treatment of human brucellosis. *Med Clin (Barc)* 1994;102:731-8.
134. Cascio A, Scarlata F, Giordano S, Antinori S, Colomba C, Titori L. Treatment of human brucellosis with rifampin plus minocycline. *J Chemother* 2003;15:248-52.

135. Haddai A, Mohraz M, Marefat M. Study of brucellosis treatment regimens in brucellosis patients in Imam Khomeini Hospital of Tehran. *Iranian J Infect Dis Trop Med* 2003;20:29-32.
136. Ranjbar M, Keramat F, Mamani M, Kia AR, Khalilian FO, Hashemi SH et al. Comparison between doxycycline-rifampin-amikacin and doxycycline-rifampin regimens in the treatment of brucellosis. *Int J Infect Dis* 2007;111:152-6.
137. Solera J, Espinosa A, Martinez-Alfaro E, Sanchez L, Geijo P, Navarro E et al. Treatment of human brucellosis with doxycycline and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:80-84.
138. Mantur BG, Akki AS, Mangalgi SS, Patil SV, Gobbul RH, Peerapur BV. Childhood brucellosis: a microbiological, epidemiological and clinical study. *J Trop Pediatr* 2004;50:153-7.
139. Lecaroz C, Blanco-Prieto MJ, Burrell MA, Gamazo C. Intracellular killing of *Brucella melitensis* in human macrophages with microsphere-encapsulated gentamicin. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:549-56.
140. Ariza J, Corredoira J, Pallares R, Viladrich PF, Rufi G, Pujol M, et al. Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. *Clin Infect Dis* 1995;20:1241-9.
141. Solera J, Martinez-Alfaro E, Espinosa A, Castillejos ML, Geijo P, Rodriguez-Zapata M. Multivariate model for predicting relapse in human brucellosis. *J Infect* 1998;36:85-92.
142. Doganay M, Aygen B. Use of ciprofloxacin in the treatment of brucellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:74-5.
143. Solera J, Beato JL, Martinez-Alfaro E, Segura JC, de Tomas E. Azithromycin and gentamycin therapy for the treatment of humans with brucellosis. *Clin Infect Dis* 2001;32:506-9.
144. Dizer U, Hayat L, Beker CM, Gorenek L, Ozguven V, Pahsa A. The effect of the doxycycline-rifampicin and levamisole combination on lymphocyte subgroups and functions of phagocytic cells in patients with chronic brucellosis. *Chemotherapy* 2005;51:27-31.
145. Irmak H, Buzgan T, Karahocagil MK, Evirgen O, Akdeniz H, Demiroz AP. The effect of levamisole combined with the classical treatment in chronic brucellosis. *Thohku J Exp Med* 2003;201:221-8.

146. Printzis S, Raptopoulou-Gigi M, Orphanou-Koumerkeridou H, Lagre F, Goulis G. Immunotherapy in chronic brucellosis. Effect of levamisole and interferon: mechanisms of action and clinical value. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1994;16:679-93.
147. Boura P, Tsapas G, Kountouras J, Zaharioudaki E. Interferon-A 2a administration in chronic anergic brucellosis. *Hepatogastroenterology* 1995;42:919-22.
148. Alp E, Koc RK, Durak AC, Yildiz O, Aygen B, Sumerkan B et al. Doxycycline plus streptomycin versus ciprofloxacin plus rifampicin in spinal brucellosis. *BMC Infect Dis* 2006;6:72-81.
149. Akcam FZ. HLA system: review. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005;25:829-34.
150. Schwartz BD. The human major histocompatibility HLA complex. In: Stites DP, Stopo JD, Wells JV, eds. *Basic and Clinical Immunology*. 6th Edition. California: Appleton and Lange, 1987:50-64.
151. Kubly J. Major Histocompatibility Complex. *Immunology*. 3rd edition. New York. Van Hoffman Press, 1997:223-48.
152. Oguz FS, Carin M. MHC genlerinin organizasyonu. *Sendrom* 1999;11:126-7.
153. Kilicurgay K. Majör histokompatibilite kompleksi. *İmmünolojiye giriş*. 3. Baskı. İstanbul: Güneş ve Nobel Tıp Yayınevi; 1994:33-40.
154. Gulmezoglu E, Erguven S. Doku uygunluk antijenleri. *İmmünoloji*. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 1994:29-40.
155. Carosella ED, Gregori S, Rouas-Freiss N, LeMaoult J, Menier C, Favier B. The role of HLA-G in immunity and hematopoiesis. *Cell Mol Life Sci* 2011;68:353-68.
156. Carosella ED, Favier B, Rouas-Freiss N, Moreau P, LeMaoult J. Beyond the increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule. *Blood* 2008;111:4862-70.
157. Carosella ED, Moreau P, LeMaoult J, Rouas-Freiss N. HLA-G: from biology to clinical benefits. *Trends Immunol* 2008;29:125-32.
158. Kovats S, Main EK, Librach C, Stubblebine M, Fisher SJ, DeMars R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science* 1990;248:20.

159. Mallet V, Blaschitz A, Crisa L, Schmitt C, Fournel S, King A, et al. HLA-G in the human thymus: a subpopulation of medullary epithelial but not CD83 (+) dendritic cells expressed HLA-G as a membrane-bound and soluble protein. *Int Immunol* 1999;11:889.
160. Le Discorde M, Moreau P, Sabatier P, Legeais JM, Carosella ED. Expression of HLA-G in human cornea, an immune-privileged tissue. *Hum Immunol* 2003;64:1039.
161. Cirulli V, Zalatan J, McMaster M, Prinsen R, Salomon DR, Ricordi C, et al. The class I HLA repertoire of pancreatic islets comprises the nonclassical class Ib antigen HLA-G. *Diabetes* 2006;55:1214.
162. Menier C, Rabreau M, Challier JC, Le Discorde M, Carosella ED, Rouas-Freiss N. Erythroblasts secrete the nonclassical HLA-G molecule from primitive to definitive hematopoiesis. *Blood* 2004;104:3153.
163. Selmani Z, Najj A, Zidi I, Favier B, Gaiffe E, Obert L, et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and induce CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺regulatory T cells. *Stem Cells* 2008;26:212.
164. Rouas-Freiss N, Goncalves RM, Menier C, Dausset J, Carosella ED. Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:11520.
165. Rouas-Freiss N, Marchal RE, Kirszenbaum M, Dausset J, Carosella ED. The alpha1 domain of HLA-G1 and HLA-G2 inhibits cytotoxicity induced by natural killer cells: is HLA-G the public ligand for natural killer cell inhibitory receptors? *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:5249.
166. Riteau B, Rouas-Freiss N, Menier C, Paul P, Dausset J, Carosella ED. HLA-G2, -G3 and -G4 isoforms expressed as nonmature cell surface glycoproteins inhibit NK and antigen-specific CTL cytotoxicity. *J Immunol* 2001;166:5018-26.
167. Riteau B, Menier C, Khalil-Daher I, Sedlik C, Dausset J, Rouas-Freiss N, et al. HLA-G inhibits the allogeneic proliferative response. *J Reprod Immunol* 1999;43:203-11.

168. Bahri R, Hirsch F, Josse A, Rouas-Freiss N, Bidere N, Vasquez A, et al. Soluble HLA-G inhibits cell cycle progression in human alloreactive T lymphocytes. *J Immunol* 2006;176:1331-9.
169. LeMaoult J, Caumartin J, Daouya M, Favier B, Le Rond S, Gonzalez A, et al. Immune regulation by pretenders: cell-to-cell transfers of HLA-G make effector T cells act as regulatory cells. *Blood* 2007;109:2040-8.
170. Caumartin J, Favier B, Daouya M, Guillard C, Moreau P, Carosella ED, et al. Trogocytosis-based generation of suppressive NK cells. *EMBOJ* 2007;26:1423-33.
171. Horuzsko A, Lenfant F, Munn DH, Mellor AL. Maturation of antigen-presenting cells is compromised in HLA-G transgenic mice. *In t Immunol* 2001;13:385-94.
172. Kovats S, Main EK, Librach C, Stubblebine M, Fisher SJ, DeMars R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science* 1990;248:220-3.
173. Deschaseaux F, Delgado D, Pistoia V, Giuliani M, Morandi F, Durrbach A. HLA-G in organ transplantation: towards clinical applications. *Cell Mol Life Sci* 2011;68:397-404.
174. Verbruggen LA, Rebmann V, Demanet C, De Cock S, Grosse-Wilde H. Soluble HLA-G in rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* 2006;67:561-7.
175. Rizzo R, Hviid TV, Govoni M, Padovan M, Rubini M, Melchiorri L, et al. HLA-G genotype and HLA-G expression in systemic lupus erythematosus: HLA-G as a putative susceptibility gene in systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 2008;29:520-9.
176. Wiendl H, Feger U, Mittelbronn M, Jack C, Schreiner B, Stadelmann C et al. Expression of the immune-tolerogenic major histocompatibility molecule HLA-G in multiple sclerosis: implications for CNS immunity. *Brain* 2005;128:2689-704.
177. Borghi A, Fogli E, Stignani M, Melchiorri L, Altieri E, Baricordi O et al. Soluble human leukocyte antigen-G and interleukin-10 levels in plasma of psoriatic patients: preliminary study on a possible correlation between generalized immune status, treatments and disease. *Arch Dermatol Res* 2008;300:551-9.

178. Aractingi S, Briand N, Le Danff C, Viguier M, Bachelez H, Michel L et al. HLA-G and NK receptor are expressed in psoriatic skin: a possible pathway for regulating infiltrating T cells? *Am J Pathol* 2001;159:71-7.
179. Lafon M, Prehaud C, Megret F, Lafage M, Mouillot G, Roa M et al. Modulation of HLA-G expression in human neural cells after neurotropic viral infections. *J Virol* 2005;79:15226-37.
180. Yan WH, Lin A, Chen BG, Chen SY. Induction of both membrane-bound and soluble HLA-G expression in active human cytomegalovirus infection. *J Infect Dis* 2009;200:820-6.
181. Lozano JM, Gonzalez R, Kindelan JM, Rouas-Freiss N, Caballos R, Dausset J et al. Monocytes and T lymphocytes in HIV-1 positive patients express HLA-G molecule. *AIDS* 2002;16:347-51.
182. LeBouder F, Khoufache K, Menier C, Mandouri Y, Keffous M, Lejal N et al. Immunosuppressive HLA-G molecule is upregulated in alveolar epithelial cells after influenza A virus infection. *Hum Immunol* 2009;70:1016-9.
183. Chen HX, Chen BG, Shi WW, Zhen R, Xu DP, Lin A et al. Induction of cell surface human leukocyte antigen-G expression in pandemic H1N1 2009 and seasonal H1N1 influenza virus-infected patients. *Hum Immunol* 2011;72:159-65.
184. Paul P, Rouas-Freiss N, Khalil-Daher I, Moreau P, Riteau B, LeGal FA et al. HLA-G expression in melanoma: a way for tumor cells to escape from immunosurveillance. *Proc, Natl Acad Sci USA* 1998;95:4510-5.
185. Ugurel S, Rebmann V, Ferrone S, Tilgen W, Grosse-Wilde H, Reinhold U. Soluble human leukocyte antigen-G serum level is elevated in melanoma patients and is further increased by interferon-alpha immunotherapy. *Cancer* 2001;92:369-76.
186. Urosevic M, Kurrer MO, Kamarashev J, Mueller B, Weder W, Burg G et al. Human leukocyte antigen G up-regulation in lung cancer associates with high-grade histology, human leukocyte antigen class I loss and interleukin-10 production. *Am J Pathol* 2001;159:817-24.

- 187.** Barel MT, Rensing M, Pizzato N, van Leeuwen D, Le Bouteiller P, Lenfant F et al. Human cytomegalovirus-encoded US2 differentially affects surface expression of MHC class I locus products and targets membrane-bound but not soluble HLA-G1 for degradation. *J Immunol* 2003;171:6757-65.
- 188.** Park B, Spooner E, Houser BL, Strominger JL, Ploegh HL. The HCMV membrane glycoprotein US10 selectively targets HLA-G for degradation. *J Exp Med* 2010;207:2033-41.
- 189.** Haveman JW, Kobold AC, Tervaert JW, van den Berg AP, Tulleken JE, Kallenberg CG et al. The central role of monocytes in the pathogenesis of sepsis: consequences for immunomonitoring and treatment. *1999;55:132-41*
- 190.** Cheadle WG. The human leukocyte antigens and their relationship to infection. *Am J Surg* 1993;165:75-81
- 191.** Ditschkowski M, Kreuzfelder E, Rebmann V, Ferencik S, Majetschak M, Schmid EN et al. HLA-DR expression and soluble HLA-DR levels in septic patients after trauma. *Ann Surg* 1999;229:246-54.
- 192.** Hershman MJ, Cheadle WG, Wellhausen SR, Davidson PF, Polk HC Jr. Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient. *Br J Surg* 1990;77:204-7.
- 193.** van den Berk JMM, Oldenburger RH, van den Berg AP, Klompaker IJ, Mesander G, van Son WJ et al. Low HLA-DR expression on monocytes as a prognostic marker for bacterial sepsis and after liver transplantation. *Transplantation* 1997;63:1846-8.
- 194.** Wakefield CH, Carey PD, Foulds S, Monson JR, Guillou PJ. Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery. *Br J Surg* 1993;80:205-9.
- 195.** Manjuck J, Saha DC, Astiz M, Eales LJ, Rackow EC. Decreased response to recall antigens is associated with depressed costimulatory receptor expression in septic critically ill patients. *J Lab Clin Med* 2000;135:153-60.

196. Sachse C, Prigge M, Cramer G, Pallua N, Henkel E. Association between reduced human leukocyte antigen (HLA)-DR expression on blood monocytes and increased plasma level of interleukin-10 in patients with severe burns. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:193-8.
197. Lekkou A, Karakantza M, Mouzaki A, Kalfarentzos F, Gogos CA. Cytokine production and monocyte HLA-DR expression as predictors of outcome for patients with community-acquired severe infections. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:161-7.
198. Sharif O, Knapp S. From expression to signaling: roles of TREM-1 and TREM-2 in innate immunity and bacterial infection. *Immunobiology* 2008;213:701-13
199. Allcock RJ, Barrow AD, Forbes S, Beck S, Trowsdale J. The human TREM gene cluster at 6p21.1 encodes both activating and inhibitory single IgV domain receptors and includes NKp44. *Eur J Immunol* 2003;33:567-77.
200. Ford JW, McVicar DW. TREM and TREM-like receptors in inflammation and disease. *Curr Opin Immunol* 2009;21:38-46.
201. Gibot S, Le Renard PE, Bollaert PE, Kolopp-Sarda MN, Bene MC, Faure GC, et al. Surface triggering receptor expressed on myeloid cells-1 expression patterns in septic shock. *Intensive Care Med* 2005;31:594-7.
202. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Bene MC, Bollaert PE, Lozniewski A, Mory F, et al. A soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 modulates the inflammatory response in murine sepsis. *J Exp Med* 2004;200:1419-26.
203. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 2001;410:1103-7.
204. Gibot S, Massin F, Marcou M, Taylor V, Stidwill R, Wilson P, et al. TREM-1 promotes survival during septic shock in mice. *Eur J Immunol* 2007;37:456-66.
205. Tumbull IR, Gilfillan S, Cella M, Aoshi T, Miller M, Piccio L, et al. Cutting edge: TREM-2 attenuates macrophage activation. *J Immunol* 2006;177:3520-4.

- 206.** Hamerman JA, Jarjoura JR, Humphrey MB, Nakamura MC, Seaman WE, Lanier LL. Cutting edge: inhibition of TLR and FcR responses in macrophages by triggering receptor expressed on myeloid cells-2 (TREM-2) and DAP12. *J Immunol* 2006;177:2051-5.
- 207.** Takahashi K, Rochford CD, Neumann H. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *J Exp Med* 2005;201:647-57.
- 208.** Piccio L, Buonsanti C, Mariani M, Cella M, Gilfillan S, Cross AH, et al. Blockade of TREM-2 exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol* 2007;37:1290-301.
- 209.** Piccio L, Buonsanti C, Cella M, Tassi I, Schmidt RE, Fenoglio C, et al. Identification of soluble TREM-2 in the cerebrospinal fluid and its association with multiple sclerosis and CNS inflammation. *Brain* 2008;131:3081-91.
- 210.** Gibot S, Cravoisy A. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection. *Clin Med Res* 2004;2:181-7.
- 211.** Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J Immunol* 2000;161:4991-5.
- 212.** Gibot S, Cravoisy A. Soluble form of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection. *Clin Med Res* 2004;2:181-7.
- 213.** Yücel A. Bakteri, parazit ve funguslara karşı immün yanıt. Ustaçelebi Ş (editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı Ankara. Öncü basımevi. 1999:267-89.
- 214.** Abbas KA, Lichtman AH. Hücre aracılı immün yanıtlar. Camcioğlu Y, Deniz G (editörler). *Temel İmmünoloji*. 1. Baskı. İstanbul. Elma basım. 2007:83-103.
- 215.** Baldwin CL, Goenka R. Host immune responses to the intracellular bacterium *Brucella*: Does the bacterium instruct the host to facilitate chronic infection?. *Crit. Rev. Immunol.* 2006;26:407-42.
- 216.** Skendros P, Pappas G, Boura P. Cell-mediated immunity in human brucellosis. *Microbes Infect.* 2011;13:134-42.

217. Yingst S, Hoover DL. T cell immunity to brucellosis. *Crit. Rev. Microbiol.* 2003;29:313-31.
218. Rodriguez-Zapata M, Matias MJ, Prieto A, Jonde MA, Monserrat J, Sanchez L et al. Human brucellosis is characterized by an intense Th1 profile associated with a defective monocyte function. *Infect and Immun.* 2010;78:3272-9.
219. Akbulut HH, Kilic SS, Bulut V, Ozden M. Determination of intracellular cytokines produced by Th1 and Th2 cells using flow cytometry in patients with brucellosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005;45:253-8.
220. Abbas AK. Cellular and molecular immunology 7th edition. In: Abbas AK, Lichtman A, Pillai S, eds. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012;225-41
221. Celik I, Akbulut HH. Lymphocyte subpopulations in patients with acute brucellosis. *Turk J Med Sci* 2005;35:235-9.
222. Cohen J. TREM-1 in sepsis. *Lancet* 2001;358:776-8.
223. Colonna M, Facchetti F. TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells) a new player in acute inflammatory responses. *J Infect Dis* 2003;187:397-401.
224. Li L, Zhu Z, Chen J, OuYang B, Chen M, Guan X. Diagnostic value of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in critically ill postoperative patients with suspected sepsis. *Am J Med Sci* 2013;345:178-84.
225. Lopez-Botet M, Llano M, Navarro F, Bellon T. NK cell recognition of non-classical HLA class I molecules. *Semin Immunol* 2000;12:109-19.
226. Le Friec G, Laupeze B, Fardel O, Sebti Y, Pangault C, Guilloux V et al. Soluble HLA-G inhibits human dendritic cell-triggered allogeneic T-cell proliferation without altering dendritic differentiation and maturation processes. *Hum Immunol* 2003;64:752-61.
227. Lila N, Rouas-Freiss N, Dausset J, Carpentier A, Carosella ED. Soluble HLA-G protein secreted by allo-specific CD4⁺ T cells suppresses the allo-proliferative response: a CD4⁺ T cell regulatory mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;95:12150-5.

- 228.** Donaghy L, Gros F, Amiot L, Mary C, Maillard A, Guiguen C et al. Elevated levels of soluble non-classical major histocompatibility class I molecule human leucocyte antigen (HLA)-G in the blood of HIV-infected patients with or without visceral leishmaniasis. *Clin Exp Immunol* 2006;147:236-40.

10. EKLER

10.1. Ek-1 Hasta Formu

İ.Ü.T.F. ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

İmmun Yanıtı Yönlendiren sTREM-1, sHLA-G5 ve HLA-DR Faktörlerinin Akut Brusellozlu Hastalardaki Düzeylerinin Araştırılması

Adı -Soyadı:	Dosya No:
Form No:	Yaş -Cins :
Telefon :	Tarih:
Adres:	Meslek :

Semptomların Süresi:

Ateş:	İştahsızlık:	Baş ağrısı :	Myalji :
Terleme :	Bulantı :	Depresyon :	Eklem ağrısı:
Halsizlik :	Kusma :	Konsantras. boz :	Bel ağrısı :
Kilo kaybı :	Karın ağrısı :	Öksürük:	Disüri: Diğer :

BULGULAR:

Ateş :	Artrit :	Döküntü :	“Faber”:
Hepatomegali :	Splenomegali :	LAP :	“Laseque”:
SSS bulguları :	Orşit:	Diğer:	

Özgeçmiş: Hastalık: Kadın ise abortus: Ailede bruselloz:

Bruselloz yönünden risk faktörleri:

- Taze peynir yeme Hayvancılık Tereyağı tüketme Dondurma yeme
H₂ resp. Kullanımı Veterinerlik Laboratuvar çalışanı
Kronik hastalık varlığı

LABORATUVAR

Testler	0. gün
Brusella agl	
Coombs	
Kan kültürü	
Hb	
BK	
Trombosit	
ESH	
CRP	
AST	
ALT	
T.pro./alb	
BUN/Krea	
Periferik Yayma	
sTREM-1	
sHLA-G5	
HLA-DR	