

Bruselloz düşünüyorum ama doğrulayamıyorum: Seronegatif Bruselloz

I think of Brucellosis but can not verify: Seronegative Brucellosis

Ahmet SERTÇELİK¹, Turan BUZGAN²

ÖZET

Bruselloz, Ortadoğu ve Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere dünyada yaygın olarak görülen zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır. Ülkemiz de bruselloz açısından endemik bir bölgede yer almaktadır. Alınan tedbirlerle yıllar içinde insidanda azalma olmakla birlikte, hastalığın halk sağlığını ilgilendiren boyutu devam etmektedir. Hastalıklı hayvanlardan ışıl işlem uygulanmadan elde edilen süt ürünlerinin tüketimi en yaygın bulaşma kaynağıdır. Hastalığın klinik görünümü oldukça değişken olup, asemptomatik klinikten ölüme yol açabilecek ciddi komplikasyonlara varıncaya kadar çok geniş ve farklı bir klinik yelpazede karşımıza çıkabilmektedir. Tanı birçok enfeksiyon hastalığında olduğu gibi, klinik görünüm yanında laboratuvar tanıya dayanmaktadır. Serolojik laboratuvar testleri kültür ve moleküler testler yanında, tanı amacıyla hâlâ en yaygın kullanılan metotlardır. Tanı amaçlı olarak pratikte sık kullanılan serolojik testlerden brusella tüp aglütinasyon testi, bazı özel durumlarda hatalı şekilde negatif serolojik sonuç verebilmektedir. Seronegatifliğe neden olan *Brucella canis* enfeksiyonu, prozon hadisesi, blokan antikor varlığı, agamaglobulinemi, henüz antikor üretiminin yeterli olmadığı hastalığın akut başlangıç dönemi göz önüne alınarak kültür, moleküler yöntemler, özgül antijen kullanımı, Coombs' antiserumu kullanımı, dilüsyon

ABSTRACT

Brucellosis, which is common worldwide, especially the Middle East and the Mediterranean countries, is a zoonotic infectious disease. Our country also takes place a part of the endemic region. Although the incidence decreases with the measures taken over the years, the public health aspect of the disease continues. Consumption of dairy products that were obtained without heat treatment from ill animals is the most common transmission source. The clinical of the disease is highly variable and can be seen in a wide and different clinical spectrum from asymptomatic to serious complications that may lead to death. The diagnosis is based on the laboratory diagnosis as well as the clinical presentation, as in many infectious diseases. Serological tests still are the most common methods for diagnosis as well as culture and molecular tests. As a part of serological tests, Brucella tube agglutination tests are applied frequently for diagnosis. *Brucella canis* infection, prozone phenomenon, presence of blocking antibody, agammaglobulinemia, acute infection period in which antibody production is not sufficient yet are common diagnostic faults. Diagnosis with appropriate interventions such as culture, molecular methods, use of specific antigens, use of Coombs' antibody,

¹T.C. Sağlık Bakanlığı, Ankara Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

²Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Ahmet SERTÇELİK

Üniversiteler Mah. Bilkent Cad. No:1, Nöroloji-ortopedi Hast., Çankaya Ankara - Türkiye

Tel : +90 537 343 24 69 E-posta / E-mail : ahmetsertcelik@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 01.07.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 08.11.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.93609

Sertçelik A, Buzgan T. Bruselloz düşünüyorum ama doğrulayamıyorum: Seronegatif Bruselloz
Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 469-472

miktarının arttırılması gibi uygun müdahalelerle tanıya gidilmesi yanlış serolojik değerlendirmelerin önlenmesi için olması gereken yaklaşımlardır. Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığınca yürütülen çiftlik hayvanlarında brusellozun eradikasyonu çalışmaları ile vaka sayıları daha da azaldığında, hastalığın meslek hastalığı karakterinin ön plana geçmesi ve *Brucella canis* ağırlığının göreceli olarak artması da beklenen bir husustur. Bu sebeple klinik olarak brusellozdan şüphelenilen vakalarda tanı testlerinin uygun kullanımı ve ayrıntılara dikkat edilmesi, hatalı tanımlardan uzaklaşılması, zaman ve tetkik israfının önlenmesi ve erken tanı konması için dikkatli olunması oldukça önemlidir. Bu derlemede bruselloz hastalığında görülen seronegatiflik nedenleri ve bu nedenlere yönelik olarak, tanı açısından dikkate alınması ve yapılması gereken hususlar ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, Brusella, seronegatiflik, seronegativite, aglütinasyon

increasing dilution is necessary approaches to prevent false serological evaluations. In our country, when the number of cases decreases with the eradication programs of brucellosis in farm animals carried out by the Ministry of Agriculture and Forestry, it is expected that the occupational disease character of the disease will be obvious, and *Brucella canis* related Brucellosis will increase relatively. For this reason, it is very crucial to use the diagnostic tests appropriately and to pay attention to the details, to keep away from the misdiagnoses, to avoid wasting time and examination, and to be careful in the early diagnosis in cases suspected of brucellosis clinically. In this review, the causes of seronegativity in brucellosis and issues that should be taken into consideration in terms of diagnosis for these causes.

Key Words: Brucellosis, Brucella, seronegativity, agglutination

GİRİŞ

Bruselloz, *Brucella* türlerinin oluşturduğu klinik tablodur. İnsanlara özellikle küçükbaş hayvanlardan bulaşan zoonoz bir hastalıktır. Sığır, köpek, domuz ve nadiren diğer hayvan türlerinden de geçişler olabilmektedir. Ülkemizin de yer aldığı Ortadoğu ve Doğu Akdeniz bölgesi başta olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde endemiktir. Ülkemizde de kırsal bölgelerde özellikle de hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı bölgelerde sık görülmektedir (1,2). Hastalık konusundaki duyarlılık artışı, çiftlik hayvanlarında yürütülen eradikasyon programı, pastörizasyon, ultra yüksek sıcaklık sterilizasyonu gibi gıda hijyeni tekniklerinin yaygınlaşmasıyla, ülkemizde özellikle de kentsel alanlarda görülme sıklığında azalma olmuştur (3). Son yıllarda insanlarda bruselloz görülme sıklığı yıllık 4000-7000 vaka şeklinde seyretmektedir(4).

Hastalık neredeyse semptom vermeyen tablodan birçok organ ve sistemi tutan tablolara kadar değişik kliniklerle gidebilmektedir (1). Ancak tipik klinik tablo durumlarında bile tanı konması ile ilgili

sorunlar görülebilmektedir. Altın standart olarak kabul edilen kültürde üretme için çoğunlukla inkübasyonun uzatılması gerekmekte, bazı nedenlerle mikroorganizma üretilenemeyebilmektedir. Bu nedenle pratikte tanı için serolojik tetkikler ve özellikle aglütinasyon testleri daha ön planda kullanılmaktadır (1,2,5). Aglütinasyon testleri ile tanı koymada da bazı sorunlar bulunmaktadır. Bu yazıda günlük pratikte bruselloz tanısında en sık kullanılan aglütinasyon testlerinin yanlış negatiflik (seronegatiflik) nedenleri ve bu nedenlere yönelik alınabilecek önlemler ele alınacaktır.

Seronegatiflik Nedenleri

Brucella canis enfeksiyonu:

Brusella tüp aglütinasyon ve mikropalak testlerinde, *Brucella abortus* S kolonilerinden elde edilen antijenler kullanılmaktadır. *Brucella abortus* antijenleri *Brucella canis* dışındaki *Brucella* türlerine de yeterli reaksiyon vermektedir. *Brucella canis*'e karşı duyarlılık ise

düşüktür. Bu durum *Brucella canis*'e bağlı gelişen enfeksiyonlarda tanı konulmasını zorlaştırmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada; bruselloz nedeniyle takip edilen hastalarda 2-merkaptetanollü lam aglütinasyon tekniği ile *Brucella canis* açısından %3,9 pozitiflik bulunmuştur (6). Bir başka çalışmada sağlıklı kan donörlerindeki seropozitiflik oranı %1,6 olarak saptanmıştır (7). Ülkemizde İstanbul ve İzmir'de köpeklerde yapılan bir seroprevalans çalışmasında uygulanan tekniklere göre değişiklik olmakla birlikte %7,45 ile %12,7 arasında seropozitiflik oranları görülmüştür (8). Bu seropozitiflik oranları da göz önüne alındığında şüpheli durumlarda serolojik tanı açısından *Brucella canis* spesifik antijeni ile brusella tüp aglütinasyon testi yapılması önem arz etmektedir (9). Spesifik antijen ile Brusella tüp aglütinasyonun yanı sıra lam aglütinasyon, özgüllüğün daha yüksek olduğu merkaptetanollü lam aglütinasyon, modifiye plak aglütinasyon, agar jel immünelektroforez, enzime bağlı immünassay (ELISA) gibi farklı serolojik yöntemlerle de spesifik tanı konabilmektedir. Ayrıca düşük bakteriyemi ile seyretmesi nedeniyle diğer türlere göre daha düşük üreme oranları görülmesine karşın kültür ile mikroorganizmanın üretilmesi ve moleküler yöntemlerin de kullanılması gerekebilmektedir (6,9).

Prozon olayı:

Antikor fazlalığına bağlı aglütinasyon blokajı olup, brusella tüp aglütinasyon titresi genellikle düşük kalmakta ($\leq 1/80$) veya negatif saptanmaktadır. Genellikle bu durum immünglobulin (Ig) G vafında antikor fazlalığında görülmektedir. Serum dilüe edildiğinde blokaj olayı çözülmektedir. Bu sebeple serum en az 1/1280 titreye kadar dilüe edilmelidir. Sulandırmada %0,9 NaCl yerine, %5'lik NaCl çözeltisi kullanılması da prozon olayını engelleyebilmektedir (10). Akut, subakut ve kronik olguların hepsinde prozon olayı görülebilmektedir (%1,5-6). Coombs'lu tüp aglütinasyon testi prozon olayının çözümünde yararlı değildir (11,12). Yüksek dilüsyonlu tüp aglütinasyon testi dışında; kültür, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), ELISA, roket immündefüzyon gibi alternatif serolojik testler problemi çözmeye yardımcı olmaktadır (13,14).

Blokan antikorlar/Aglütinasyon Blokajı:

Bazı antikorlar inkomplet/blokan antikor özelliği gösterebildiğinden, yüksek konsantrasyonda olmadıklarında klasik aglütinasyon testlerinde aglütine olmazlar. Blokan antikorlar daha çok kronik brusellozlu (bazen subakut) olguların %0,5-%6'sında rastlanan IgG (IgG1 ve IgG2) ve IgA yapısındaki antikorlardır. Bruselloz kliniği olan, tüp aglütinasyon testi negatif veya düşük titreli pozitif serumlar aglütinasyon blokajı açısından araştırılmalıdır. Coombs'lu tüp aglütinasyon testi, aglütinasyon blokajını çözmektedir. Kan serumu santrifüjde çevrilir. Üç defa tuzlu su ile yıkayıp standart tüp aglütinasyon testi prosedürleri uygulandıktan sonra her tüpe bir damla insan globülini anti serumu (Coombs serumu) damlatılır. Blokaj varsa, bu durum ortadan kalkar ve aglütinasyon görülür hale gelir. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. Coombs'lu tüp aglütinasyon testi dışında; *Brucella* immüncapture test, *Brucella* jel Coombs test, akım testi (flow assay), ELISA gibi serolojik testler ile kültür ve PCR alternatif çözüm yöntemleridir (10,13,15,16).

Agamaglobulinemi-immün yetmezlikler:

Özellikle humoral immüneyi etkileyen immünyetmezlik durumlarında immünglobülin üretilmemesi veya yeterince üretilmemesi söz konusu olduğundan, brusellozda aglütinasyon testlerinde antikor tespiti mümkün olamamaktadır (10). Bu durumda tanı kültür ve moleküler yöntemlerle konmaya çalışılmalıdır.

Hastalığın erken dönemi:

Hastalık semptomlarının başlamasından genellikle 1 hafta sonra brusella spesifik antikorlar ölçülebilir duruma gelmektedir. İlk yükselen IgM olup 3 ayda en yüksek seviyesine ulaşır. Kronik dönemde gittikçe azalma eğilimi vardır. Akut brusellozda IgM'den sonra IgG1, IgG2 ve IgG3, sonra IgA ve IgE artmaktadır. IgG antikorları hastalığın başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra pozitifleşir, 6-8 haftada oldukça yüksek seviyede bulunur. Kronik enfeksiyon süresince anlamlı seviyede kanda bulunur. Rose Bengal testi ile tespit edilen antikorların büyük kısmı IgG yapısındadır. Wright testinde kullanılan süspansiyon ise nötral değere yakın bir pH'ye sahip olduğundan IgM antikorlarını daha

fazla tespit etmekle birlikte, IgG ve IgA antikorlarını da yeterince saptamaktadır. Henüz yeterli antikor oluşmamış başlangıç dönemindeki olgularda, kültür ve PCR ile tanı konmaya çalışılmalı ve klinik olarak kuvvetle Bruselloz düşünülen olgularda birkaç gün sonra serolojik testler tekrarlanmalıdır (10,15,16).

SONUÇ

Ülkemizde vaka sayılarında azalma olmakla birlikte bruselloz hala endemiktir. Çiftlik hayvanlarında yürütülen eradikasyon çalışmalarında henüz yeterli başarıya ulaşılmış değildir. Brusellozda halk sağlığı

natürünün azalması meslek hastalığı natürünün daha baskın hale gelmesine yol açmaktadır. Ayrıca çiftlik hayvanlarında yürütülen eradikasyon çalışmalarının B. canis enfeksiyonlarına etkisinin sınırlı olması beklendiğinden, bu etkenin toplam bruselloz yükü içindeki ağırlığının artması beklenebilir. Serolojide Brucella canis için spesifik test de çalışılması, prozon fenomenini önleyecek tedbirlerin alınması, Coombs'lu brusella tüp aglütinasyonu testi çalışılması, kültür ve moleküler testlerin daha çok kullanılması sıklıkla kullanılmakta olan brusella tüp aglütinasyon testlerine bağlı yalancı negatif sonuçları önemli ölçüde azaltacaktır.

KAYNAKLAR

1. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. WHO. 2006;89.
2. Öncel S. Brucella Enfeksiyonları: Değerlendirme ve Yönetim. KOU Sag Bil Derg, 2016; 2 (3): 25-30.
3. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Yayın No: 1130, Ankara, 2019.
4. Başara Bora B, Soyutun Çağlar İ, Aygün A, Özdemir TA. Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2017. Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü, T.C. Sağlık Bakanlığı. Ankara, 2018.
5. Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. Indian J Med Microbiol [Internet]. 2007 Jul [cited 2019 Jun 30];25(3):188-202. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17901634>.
6. Sangül F, Erdenliğ-Gürbilek S, Sayan M, Tekin S, Güdücüoğlu H, Keskin O. Brucella canis coinfections in patients with brucellosis. Klimik Derg, 2018; 31 (3): 214-7.
7. Sayan M, Erdenliğ S, Etiler N. Sağlıklı Kan Donörlerinde Brucella canis Seropozitifliğinin Laboratuvar Yapımı Lam Aglütinasyon Test Antijeni ile Araştırılması. Mikrobiyol Bul, 2011; 45 (4): 655-63.
8. Öncel T, Akan M, Sareyyüpoğlu B, Tel OY, Çiftçi A. Seroprevalence of Brucella canis infection of dogs in two provinces in Turkey. Turkish J Vet Anim Sci, 2005; 29 (3): 779-83.
9. Castillo Y, Tachibana M, Kimura Y, Kim S, Ichikawa Y, Endo Y, et al. Microplate Agglutination Test for Canine Brucellosis Using Recombinant Antigen-Coated Beads. Int Sch Res Not [Internet]. 2014 Oct 29 [cited 2019 Jul 1]; 2014: 1-4. Available from: <https://www.hindawi.com/archive/2014/348529/>.
10. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. İzmir: Barış Yayınları; 1996; 181-94.
11. Buzğan T, Karsen H, Karahocagil MK, Akdeniz H, Sünnetçioğlu M. Standart tüp aglütinasyon testinde yüksek titrede negatiflik saptanan bir bruselloz olgusu. Mikrobiyol Bul, 2007; 41: 151-4.
12. Badur S. Brusellozda serolojik tanı ve seroepidemioloji. Klimik Derg, 1990; 3(1): 17-20.
13. Çeken S. Akut bruselloz tanısında polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanımı. Turk Hij ve Den Biyol Derg, 2015; 72 (2): 91-8.
14. Mehrabani D, Gholami Z, Kohanteb J, Sephehrmanesh M, Hosseini SMH. Rocket and Two Dimensional Immunoelectrophoresis in Diagnosis of Caprine Brucellosis. Iran J Public Health [Internet]. 2015 Aug [cited 2019 Oct 8]; 44 (8): 1114-20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26587475>.
15. Aliskan H. The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis. Mikrobiyol Bul, 2008; 42: 185-95.
16. İvrem A, Yücel F, Aksaray S, Bor E. Comparison of a new and rapid method, Brucella Coombs gel test with the other methods in the serological diagnosis of brucellosis. Mikrobiyol Bul, 2015; 49: 181-7.