

Brusellozun Tanısı

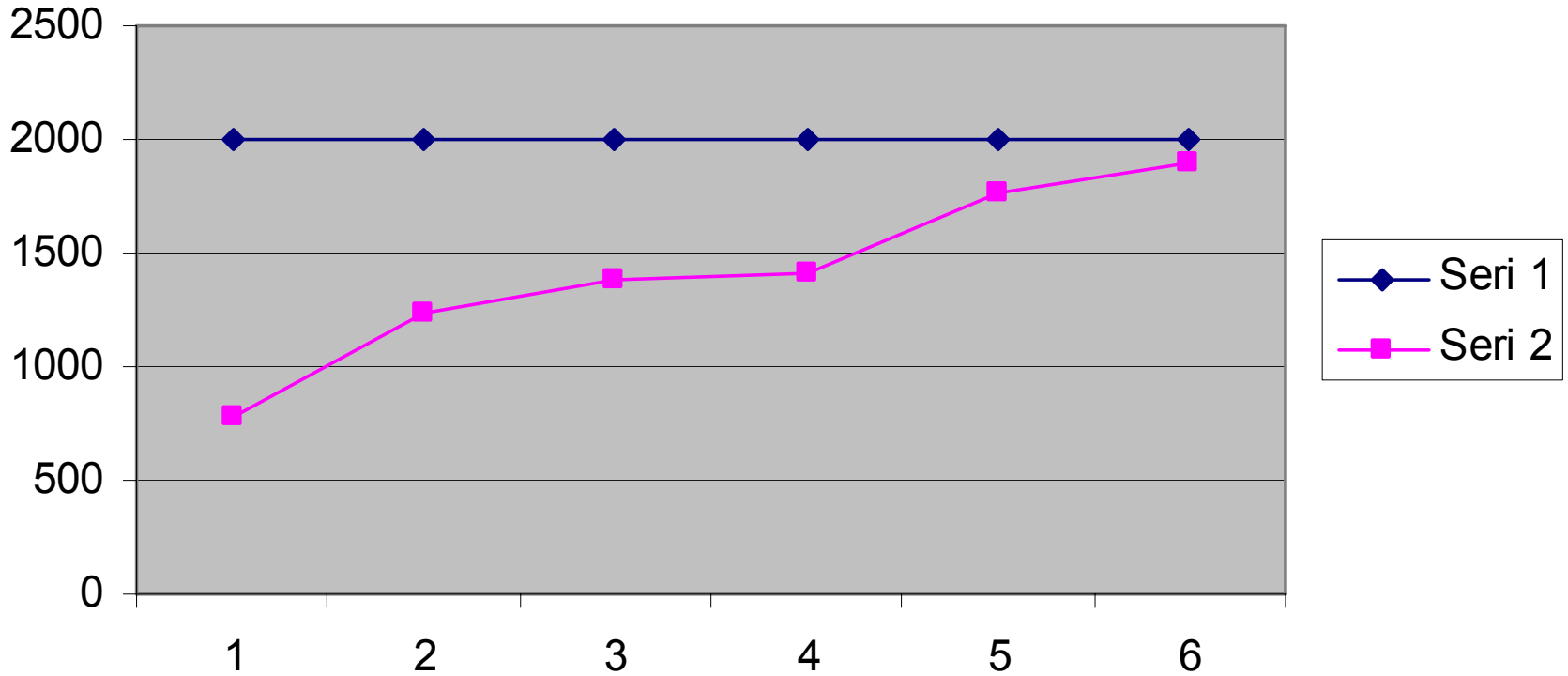
Prof. Dr. Fatma SIRMATEL

Şanlıurfa da görülen bruselloz olguları

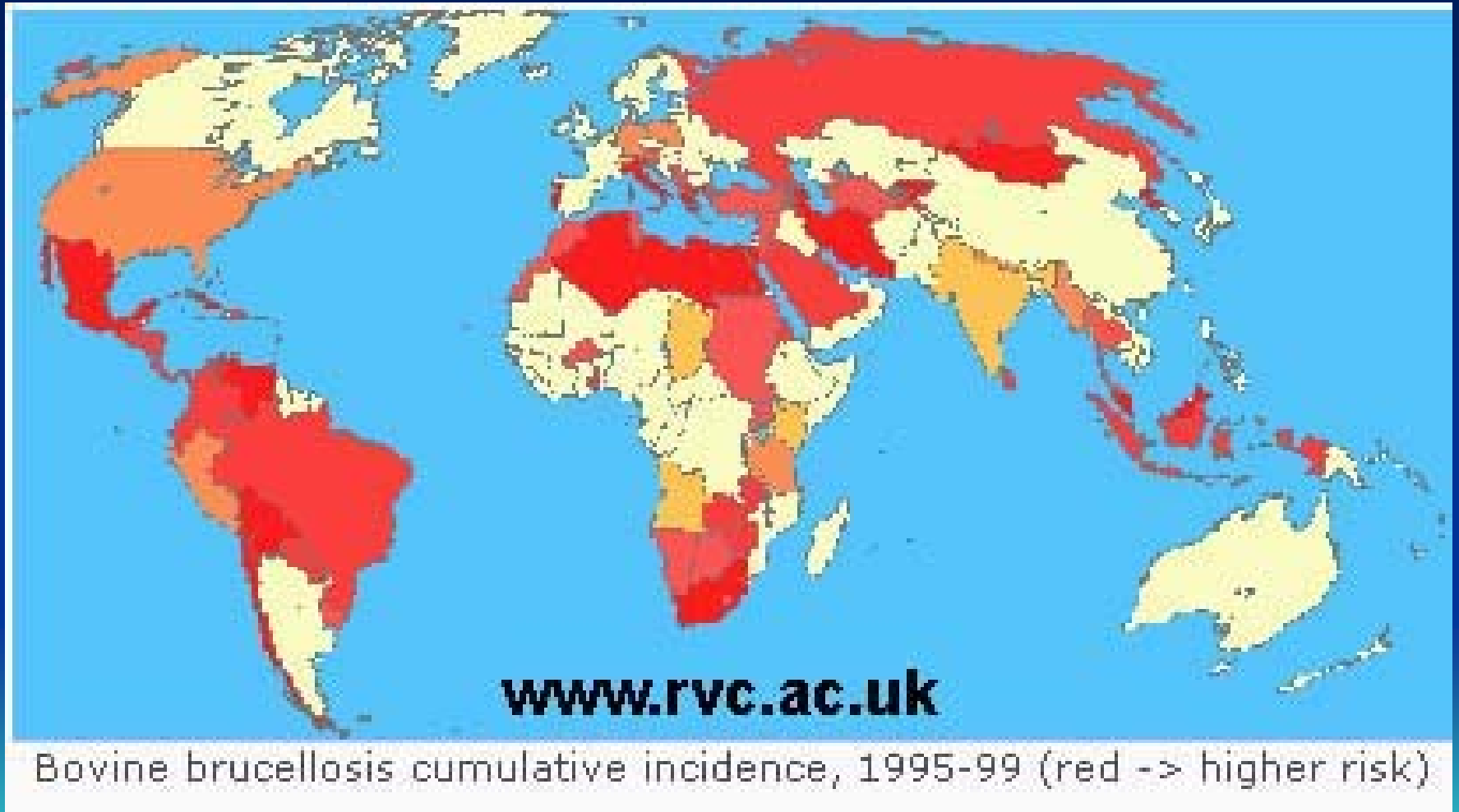
Olgu sayısı

sağlık müdürlüğü verileri

yıllara göre şanlıurfada bruselloz olgusu

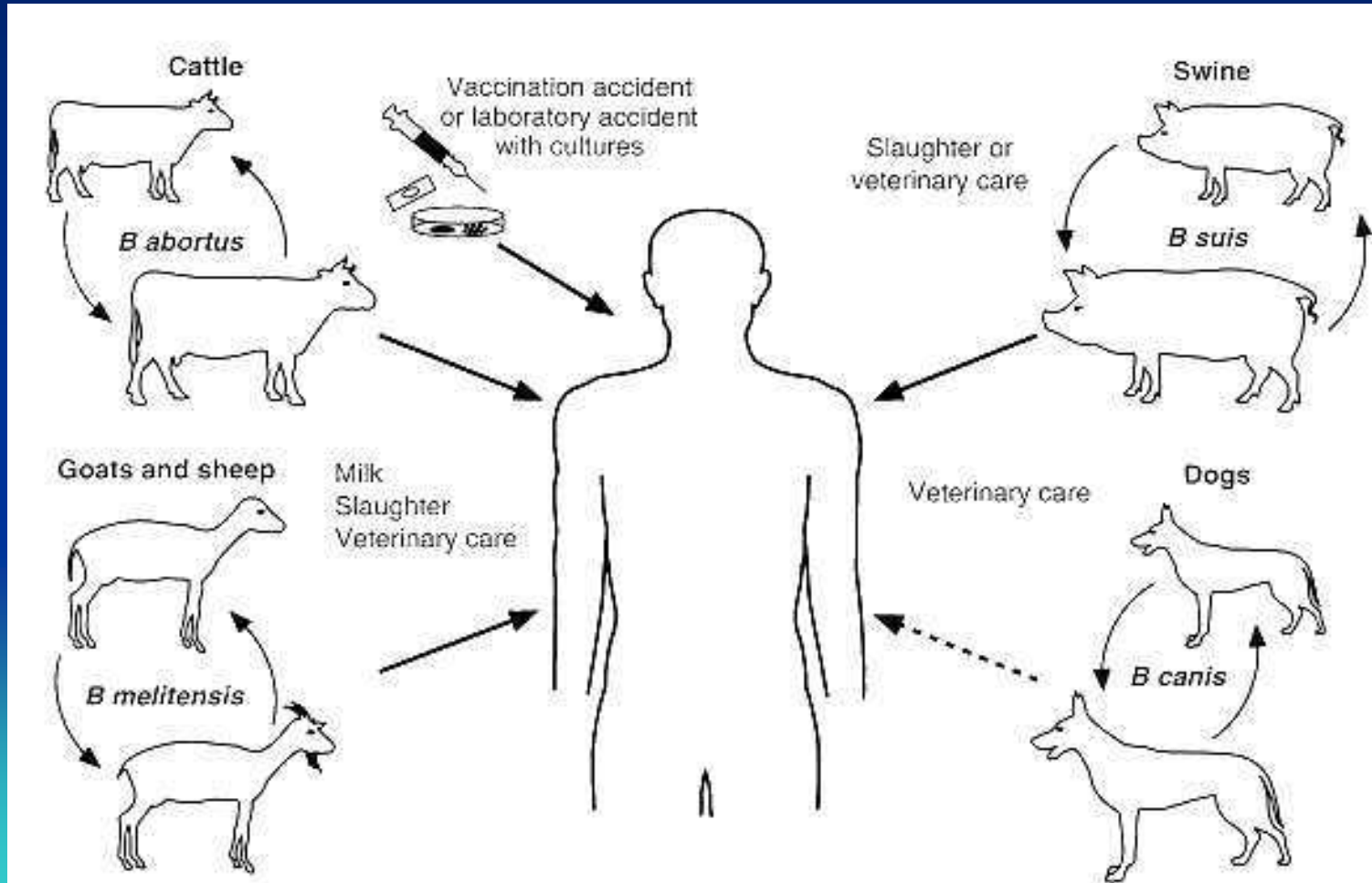


Dünyada bruselloz epidemiyolojisi: Her yıl 500 bin yeni olgu bildiriliyor.
1/26 bildirilmiyor.(Araj GF Clin Lab Sci 1999)

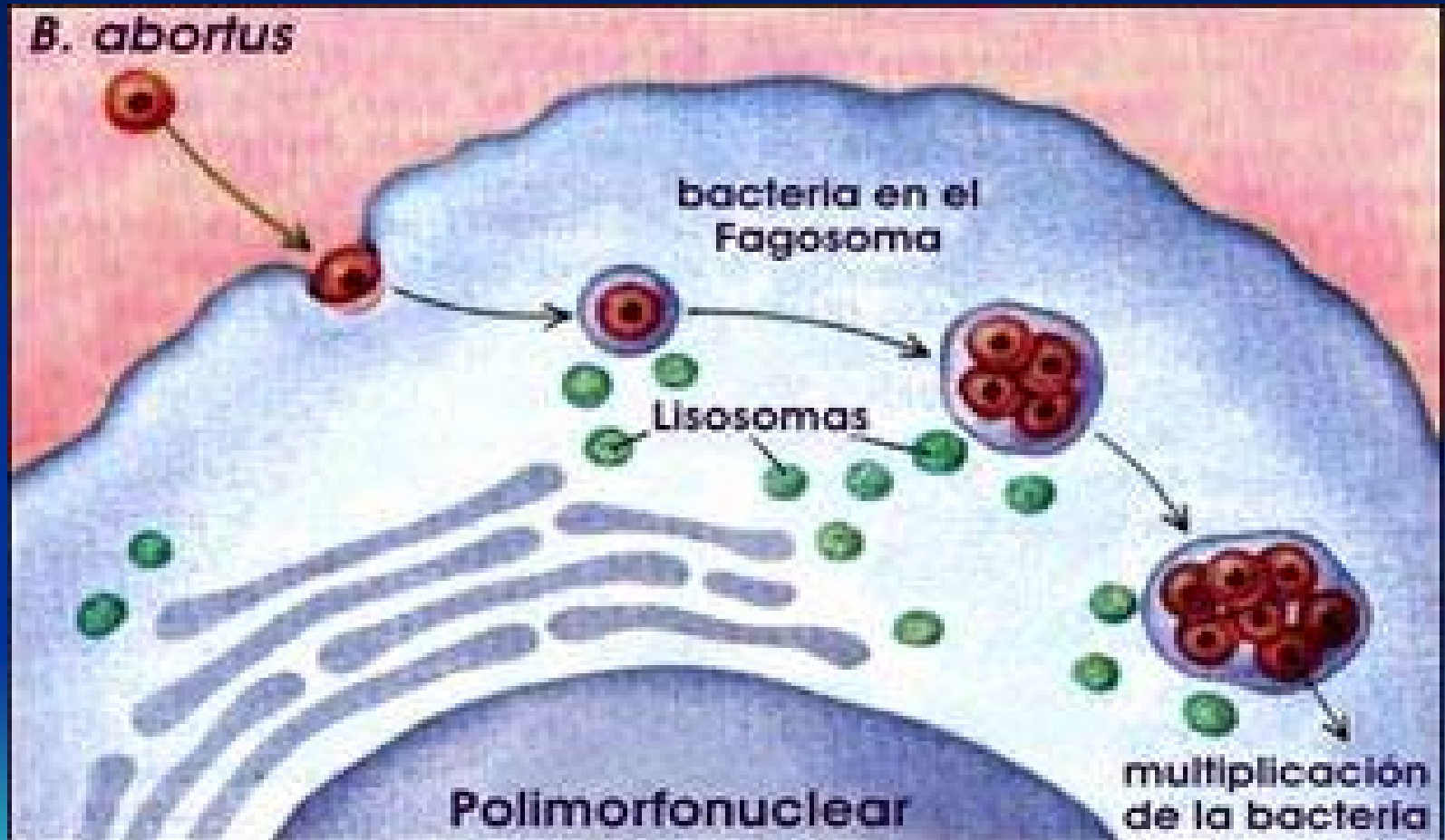


İnsana brusellanın bulaşması

1. Oral
2. İnhalasyon
3. Kutanöz
4. transplantasyon



Brusella mikroorganizması hücre içi bir parazittir.



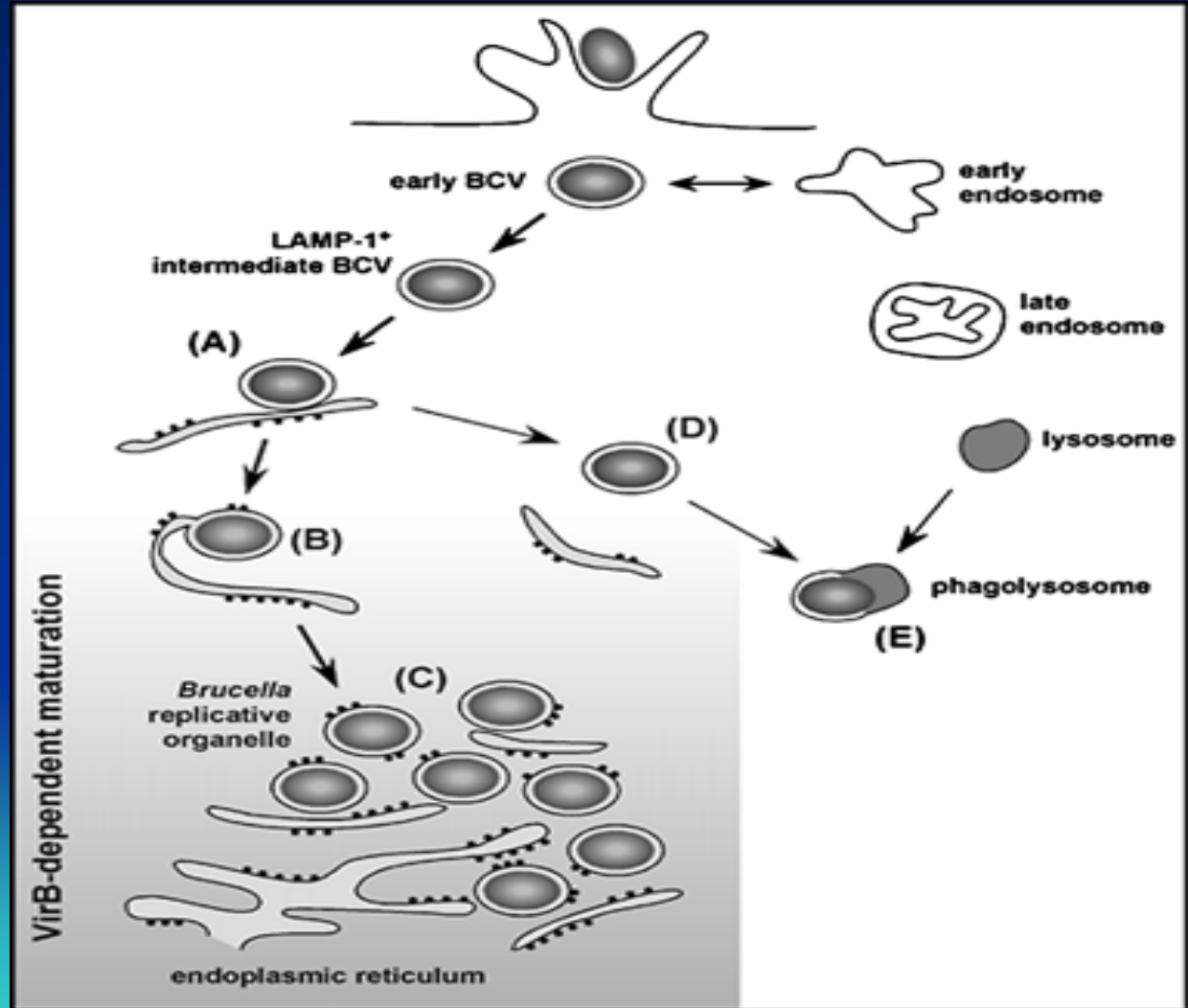
Brusella hücre içinde fagositozdan kendini korur

Tanı:

1.Klinik

2.Mikrobiyolojik

3. Radyolojik



Brusellada patogenez

Brucella suis Protein Network [version 2]: Flow Chart3

Model View Pathways Colors Curation Help

Color Index

Function Color Index (box color of Bio-Object)

- Pathway
- Chaperone
- Other

Location Color Index (border color of Bio-Object)

- Extracellular
- Cell membrane
- Cytoplasm
- Phagosome
- ER
- Other

Other

- Selected

Reset Colors

Brucella Pathogenesis

File

1. Brucella

2. Membrane of phagosome

3. H⁺

4. Stress → DnaK

5. a.a. deprivation

6. O₂ limitation

7. Lys.

Macrophage

Intracellular *B. suis*

Flowchart Details:

- Lipid rafts on macrophages
- Brucella
- Macrophage cell membrane
- Brucella associated with lipid rafts
- Proton
- Brucella-containing vacuole
- Early endosomes
- Early Phagosome
- Endoplasmic reticulum
- Less than 10% Brucella survived in early phagosome
- Stress (acidic pH, depleted nutrient, limited oxygen)
- Replicative phagosomes
- Activated DnaK and other chaperones
- Brucella virulent factors synthesized inside replicative phagosomes
- Replicating Brucella

'Activated DnaK and other chaperones' DETAILS

Type:

Function: Chaperone

Location: Phagosome

Description: In *Brucella suis*, the DnaK expression is induced under heat-shock conditions as well as by acidic pH.

Brusella tüm organları tutar

Akut > 2 ay

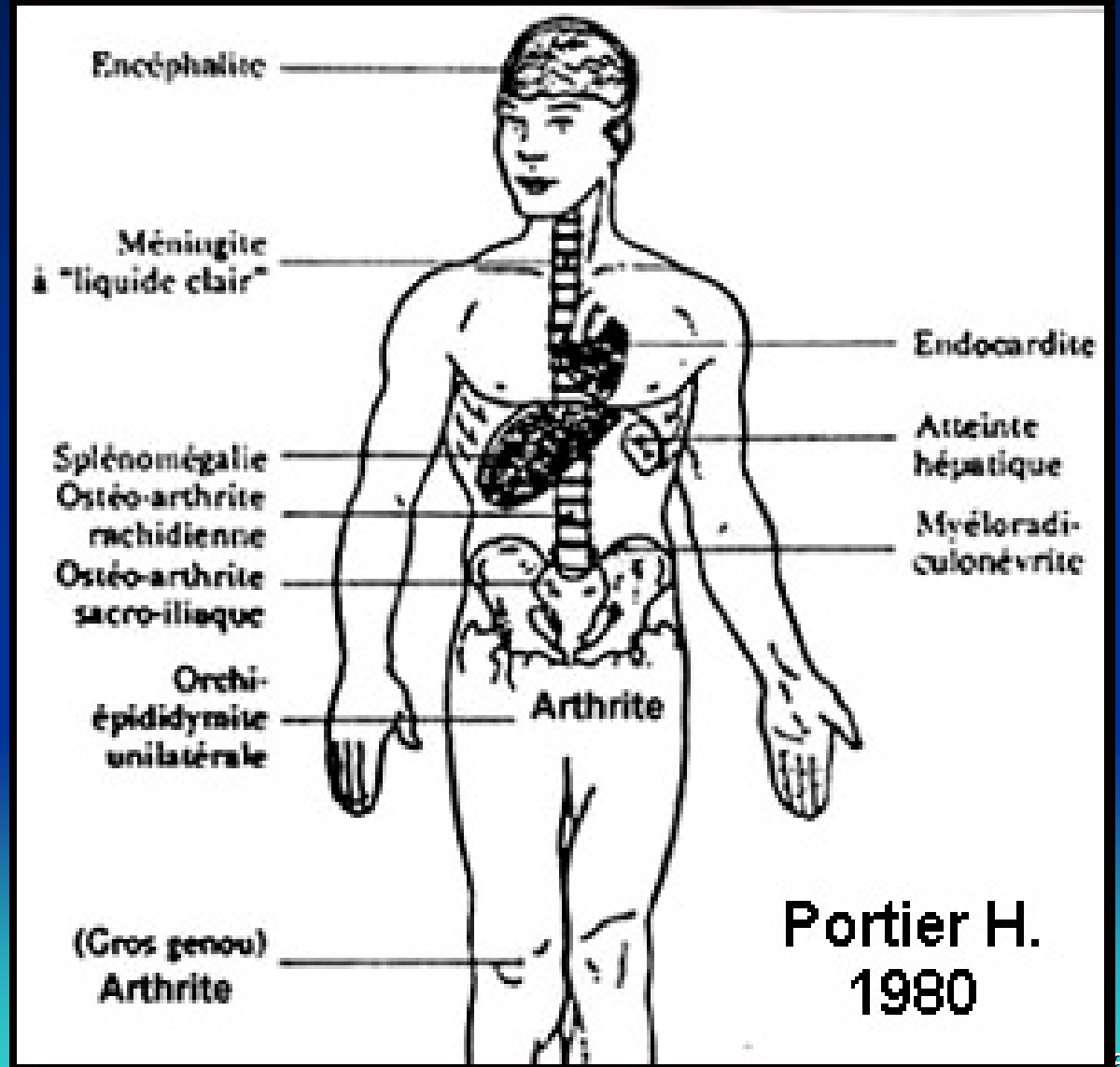
Subakut > 2-12 ay

Kronik > 12 ay

Relaps: tedaviye

Rağmen %5-13 nuks

Görülebilir



Aşağıda,incelenen 530 Bruselloz vakasında lokal tutulumların %'si verilmiştir.

- **Osteoartiküler** % 21
- **Genitoüriner** % 5
- **Hepatik** % 2.5
- **Nörolojik** % 2
- **Kardiyovasküler** % 1.5

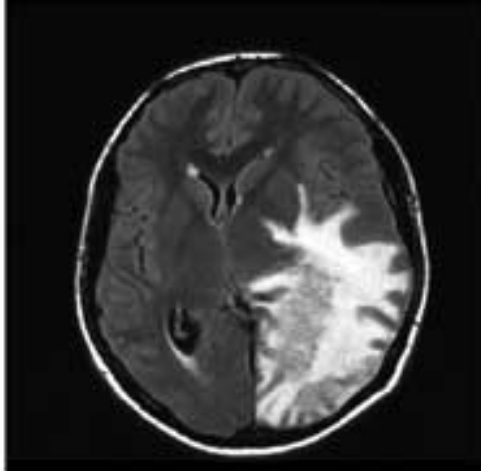
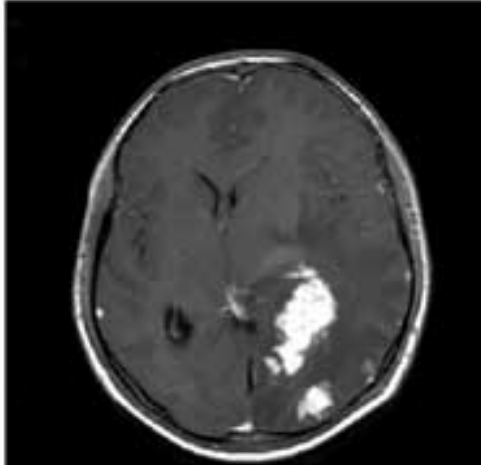
Erken kullanılan antibiyotik ve steroid tedavisi brusella antikor oluşumunu önler.

Brusellanın tanısı: Spesifik, no spesifik

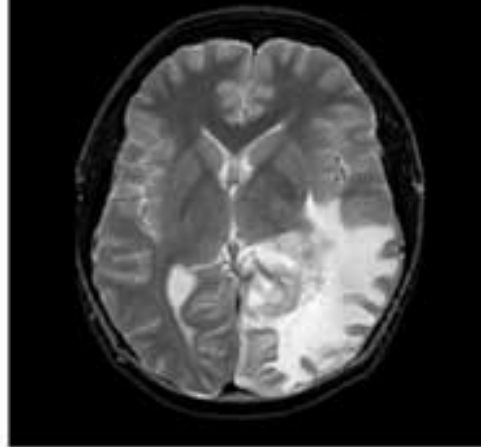
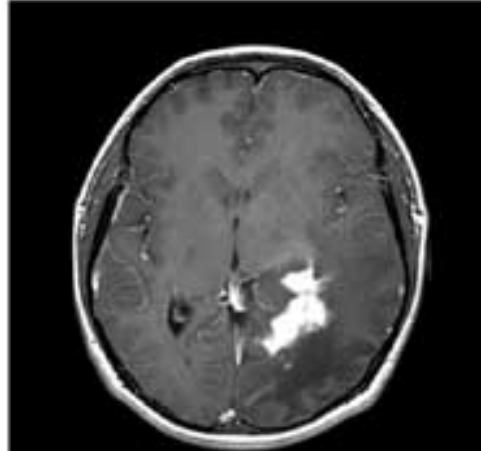
- No spesifik:
- Sedimantasyon 20-50 mm/saat
- Karaciğer fonksiyon testleri %15-60
- Lökopeni %19
- Lökositoz %9
- Polimorf lökositoz %8
- Anemi %35-70
- Trombositopeni %15-35

Brucella marinatum SSS tutulumu

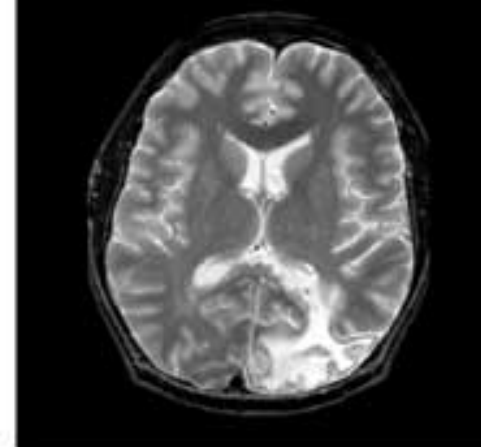
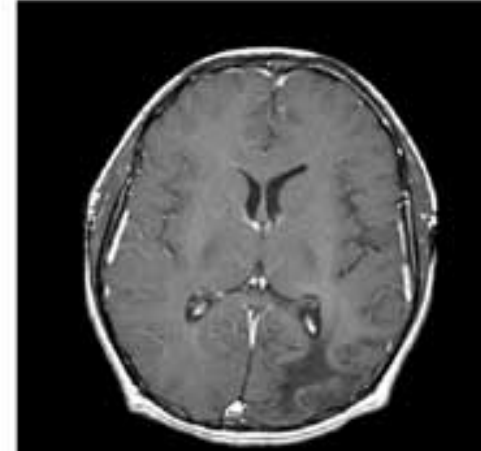
04/21/2001



09/21/2001



06/07/2002



Radyoloji:
CT,MR,USG

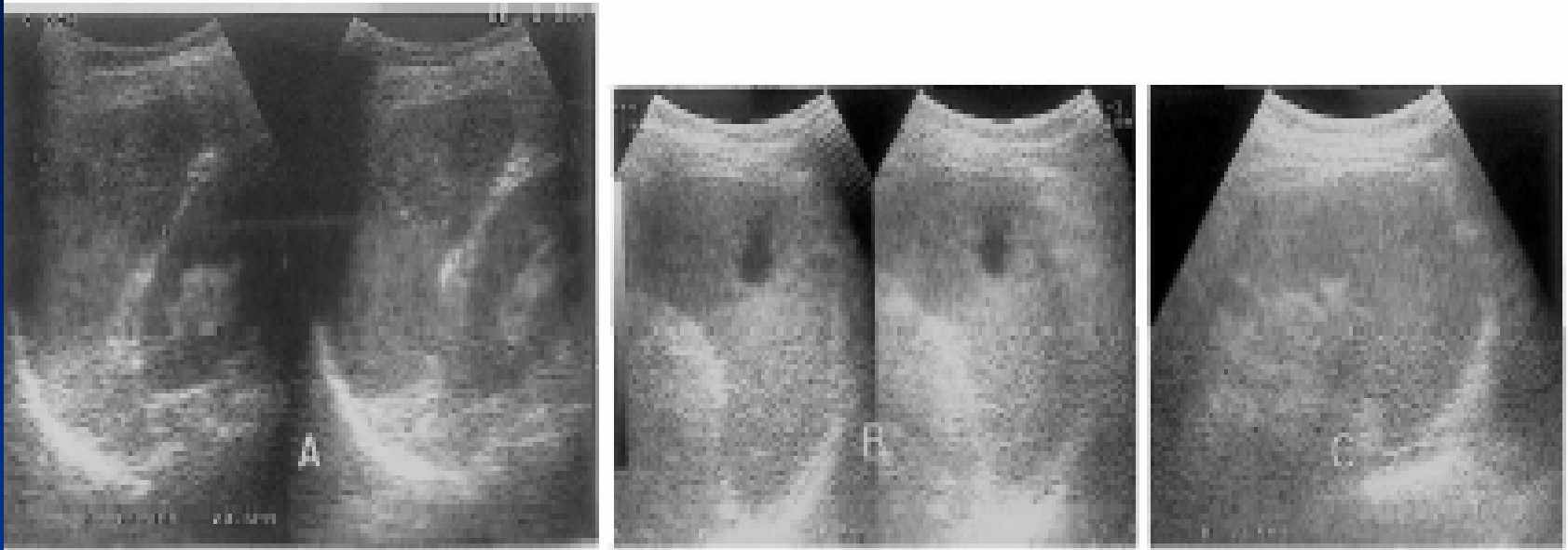


Fig. 1. Hypoechoic intrasplenic mass: (A) before treatment; (B) after 1 week of treatment; (C) complete resolution of the lesion at the end of treatment.

Dalak apsesi ve USG
G.Yayli ve ark. Scand Inf Dis 2001

Kc de apse MR



Spondilodiskitis



11.11.2005

Mikrobiyolojik tanı

- Bakterinin kendisini gösterme-kültür
- Bakteri ürünlerini gösterme-antikor veya antijen
- Akut brusellozda IgM, IgG1-IgG3, IgA, IgE
- Kronik: IgG1, IgG4
- Relaps IgG, IgA

Sitoplazmik, periplazmik protein antikorları-ELISA

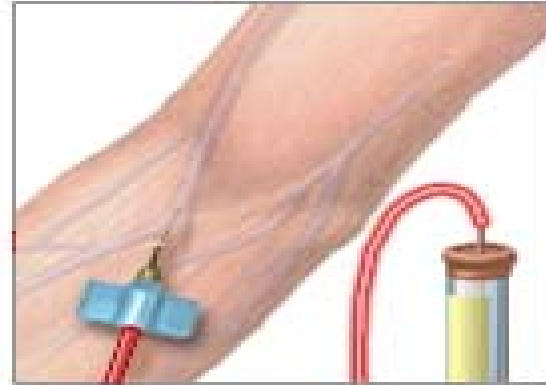
Araj GF Clin Lab Sci 1999

Serolojik olarak bazı bakterilerle çapraz reaksiyon verebilir

- *Francisella tularensis*
- *Vibrio cholerae*
- *E.coli* 0157:07
- *Salmonella* 0:30
- *Yersinia enterocolytica* 0:9
- Bazı *pseudomonas* enfeksiyonları
- *Xsantomonas maltophilia*

Kan kültüründe cilt temizliği önemlidir

Tourniquet is applied and area is disinfected



Needle is introduced into vein, blood is drawn into vial and analyzed



ADAM.

Brusellada kan kültürü bifazik besiyerine yapılmalıdır

Calcium panthenate
ve mesoerythritol
üremeyi artırır
(Balow A. Manuel Clin Mic 1998)



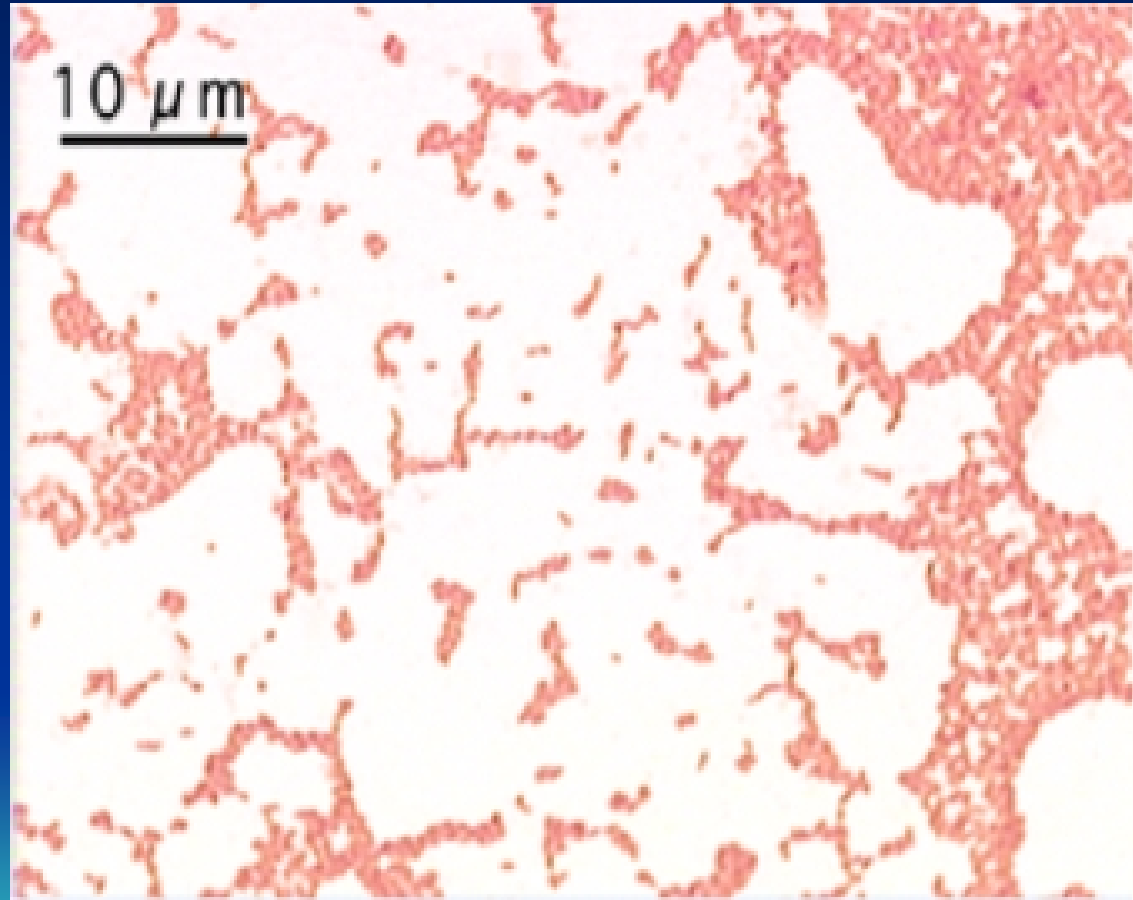
Brusella kolonileri



Kan kültüründen izolasyon %15-70 manuel, %50-90 otomatize sistem
N Ardiç Chin Med 2005; 118: 252

Brusellanın gram boyaması

Gr (-) kokobasil
Kapsülsüz
Sporsuz
hareketsiz



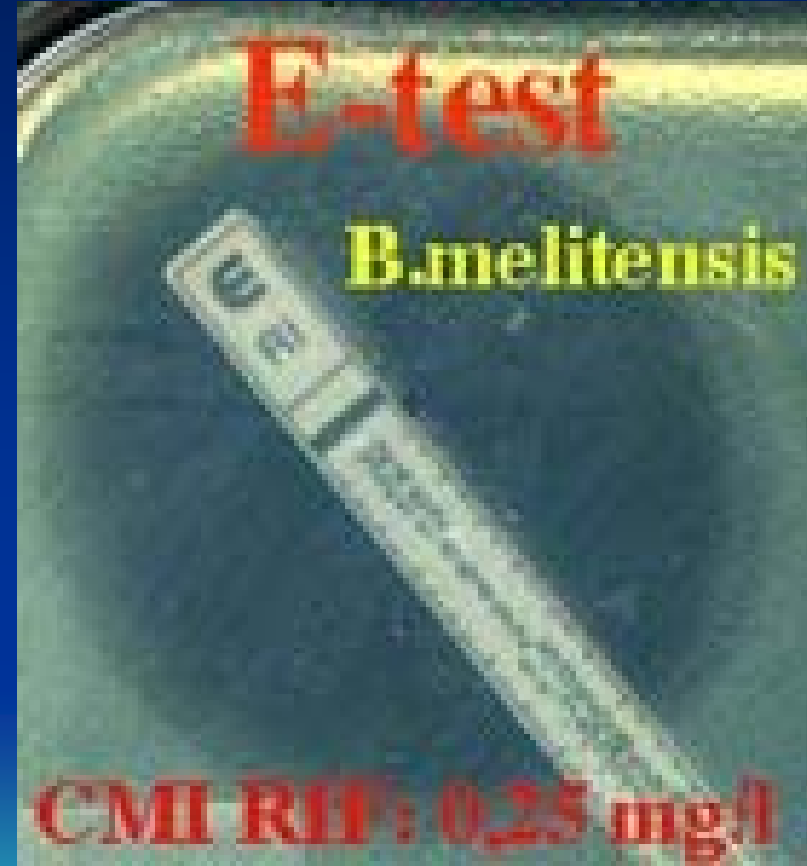
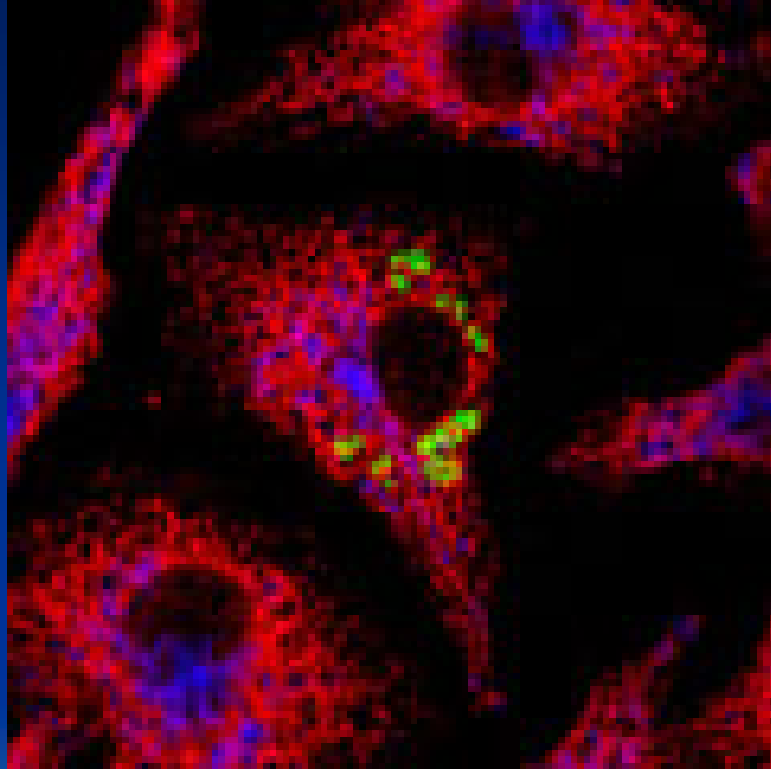
Brusella suşlarını tiplendirmede fuksin ve thionin testi



Brusellada antibiyogram



Brusella bakterilerinin IF ile hücrede saptanması ve antibiyotik duyarlılığında E test yöntemi



Brusella bakterisinin identifikasyonunda API 20NE



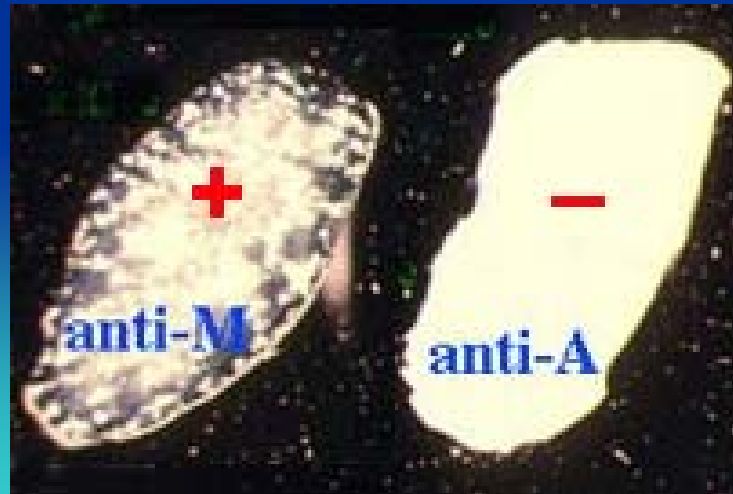
Brusellanın diğer bakterilerden ayırt edilmesi



B.Ovis ve B. Neotomoae
-insanda hastalık yapmayan-
Türlerinde negatif



Stafilokoklardan
ayırt etmede



Tüm türlerin
membranında
bulunan 31 kDA
Lipopolisakkarit
PCR ile en iyi gösterilir

Brusellada faj tiplendirimi



Brusella suşlarını ayırt etme

Brucella: espèces pathogènes pour l'homme en France

Espèce	Culture CO2	Production H2S	Croissance avec		Antigène	
			Thionine	Fuchsine	A	M
<i>B. melitensis</i>	-	-	+	+	-	+
<i>B. abortus</i>	+	+	-	+	+	-
<i>B. suis</i>	-	++	+	-	+	-

A = abortus M = melitensis.

Serolojik tanı

- Standart tüp aglütinasyonu
- Rose Bengal lam metodu
- ELISA
- PCR

- Blokan antikörleri kaldırıp test yapılmalıdır
- A. Serumun inaktivasyonu (56° Cde 30 dakika)
- B.Coombs serumu

Serolojik Tanı:

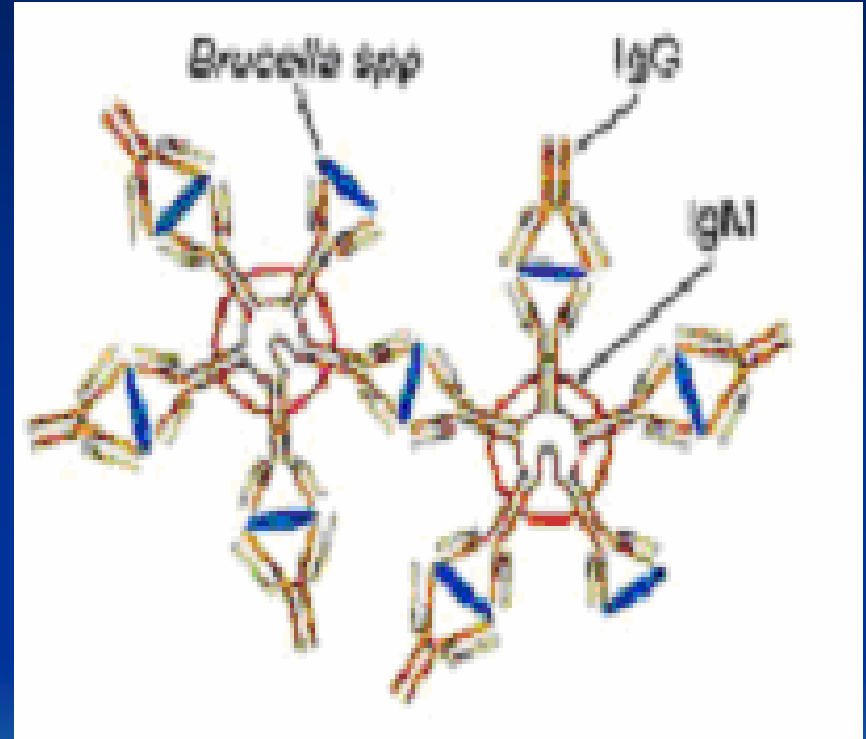
PCR>ELISA>IFA>Coombs>STA

Araj GF Infect Dis 1997

1. **Rose Bengal: endemik bölgelerde spesifitesi %75**

- 2. Tekrarlıyan enfeksiyonda %91
- 3. Brusella geçirenlerde % 76
- **Primer enfeksiyonda Rose Bengal ve tüp aglütinasyon testi gerekli yanıtı sağlar.**

Ruiz Mesa CMI 2005

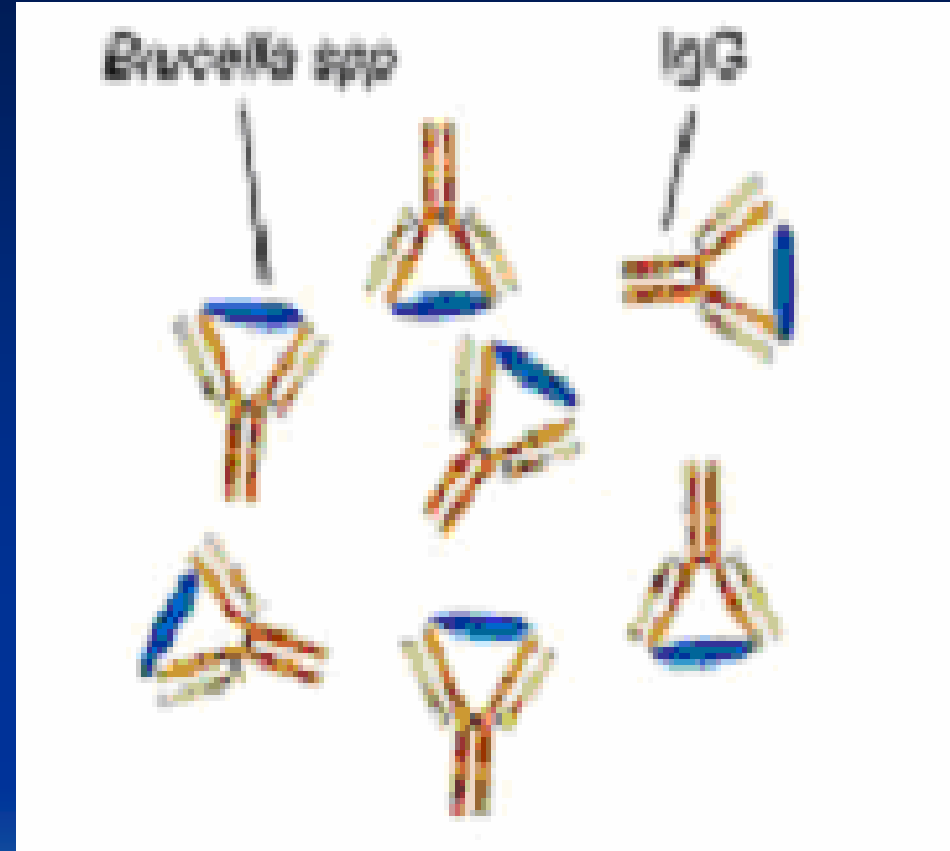


**AGLUTİNANT ANTİKORLAR
(IgG+IgA+IgM)
Akut Hastalarda**

Brusellaya özgü IgG2 yaşla paralel artış gösterir

(Saegerman C.Veterinary Microbiol 2004; 100:91)

- Kronik infeksiyonlarda, tekrarlamalarda ve endemik bölgelerde, brusellaya karşı oluşan antikor seviyesi artar. Bu vakalarda, artan antikorların çoğu aglütinasyon göstermeyen IgG antikorlarıdır (**blokan antikorlar,inkomplet antikorlar**)



NON AGLUTINANT ANTİKORLAR

(IgG+IgA)

Kronik Hastalarda

Hastalığın semptomları 1-16 hafta içersinde tanımlanabilir

(Nimri FL. BMC Infectious Diseases 2003; 3:5)

- 711 bruselloz olgusunda 270 kontrolde
- RB brc geçirmemişlerde iyi sonuç verdi
- Sakroileitis, orşit, epididimit, subakut lenfositik meningitis, spinal brc de hematolojik ve biyokimyasal testler normale yakın sonuç vermiştir.
- (Young EJ, Clin Infect Dis 1995; 21: 283)

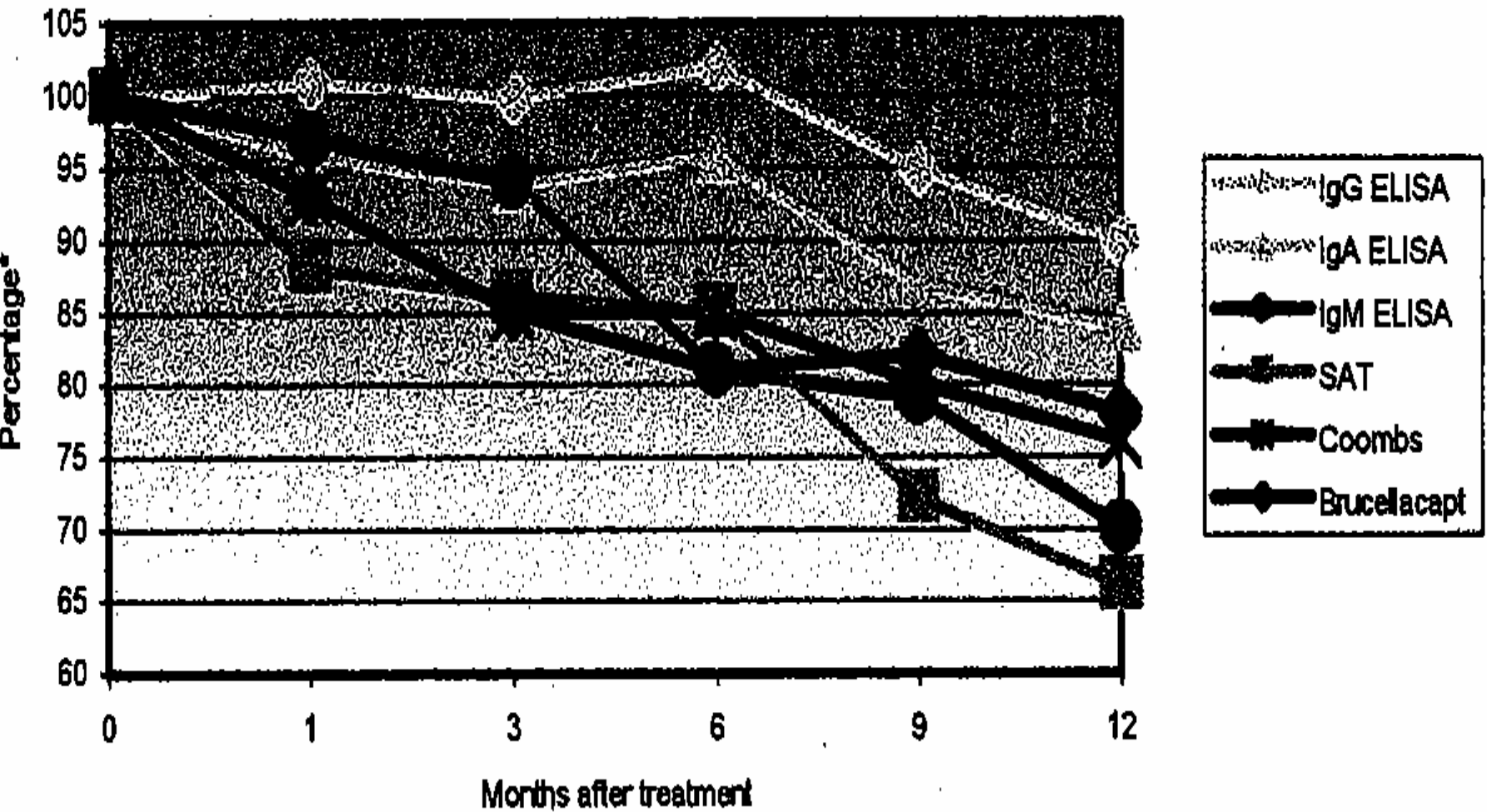
Zamana göre antikorlar farklılık gösterir.

	Brc capt	STA	Coombs	EIA IgG	EIA IgA	EIA IgM
sensitivite	%95.1	%65.8	%91.5	%92.6	%89	%85.3
spesifite	%99	%100	%99.8	%97.8	%100	%100

A.Prado (Clin Microbiol Infect 2001; 7(1):

Brusellozda antikorların zaman sürecinde kanda bulunması

Figure 1: Titre evolution of specific antibodies against *Brucella melitensis*



Standart tüp aglütinasyonu (Wright testi): >1/160 anlamlı

Séroagglutination en tube

Dilution finale

1/640

1/80

1/10

+

+

+

+

Lam aglutinasyonu: Rose Bengal, Spot testi, Dipstick testi

Rose Bengal : Spesifitesi: %76.9-94.3

Endemik bölgede %75 spesifik
Tekrarlıyan enfeksiyonda %91
Brc geçirmişlerde %76.9
Ruiz Mesa CMI 2005



Akut brusellozun tanısında dipstick testi
IgM göstermede %90 sensitif
Altuğlu Diagn Mic&Infect Dis 2002; 44:241
Smits S J Clin Mic 1999;37:4179

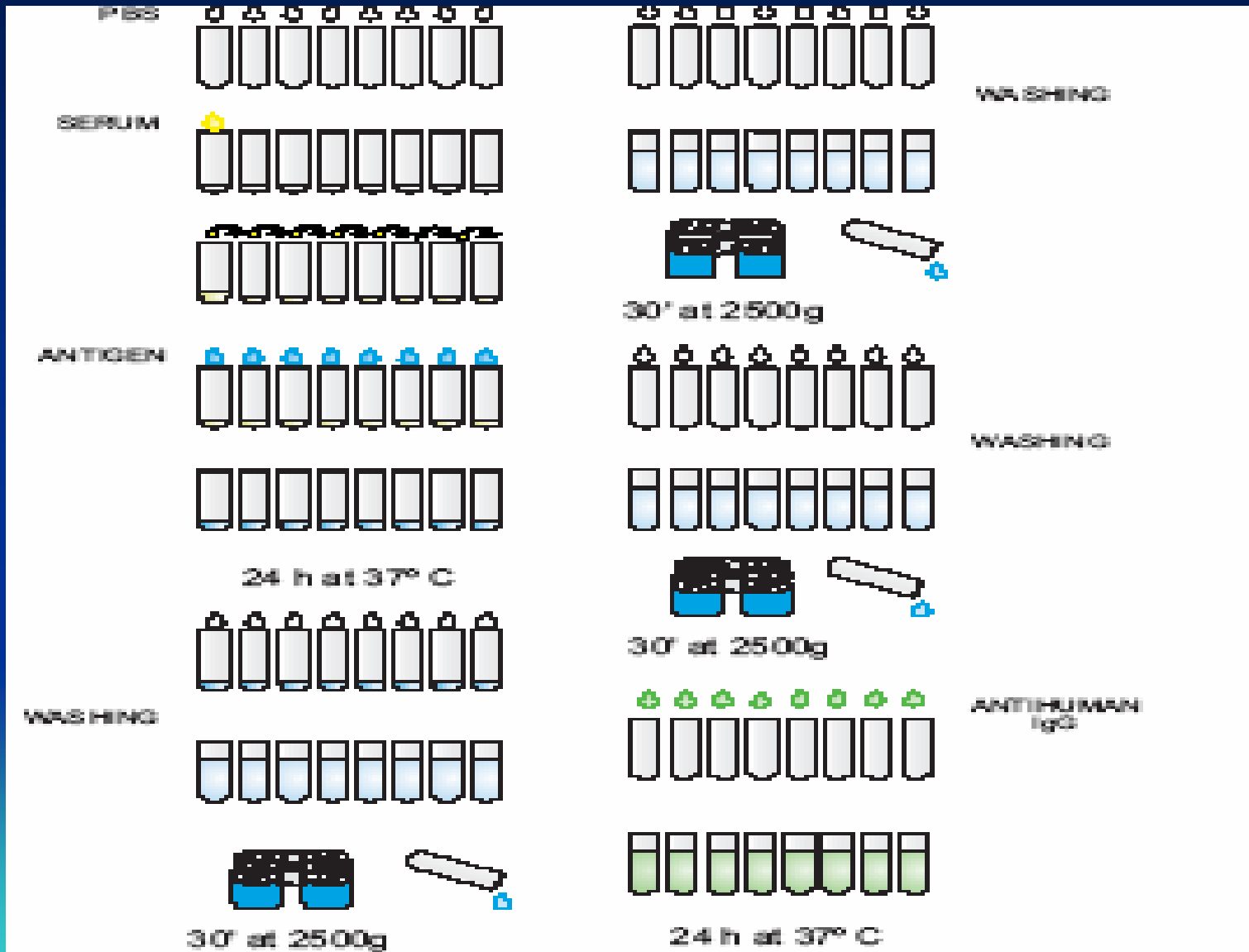


Rose Bengal ve STA akut infeksiyonda iyi sonuç verir

- 884 hastada yapılan çalışmada:

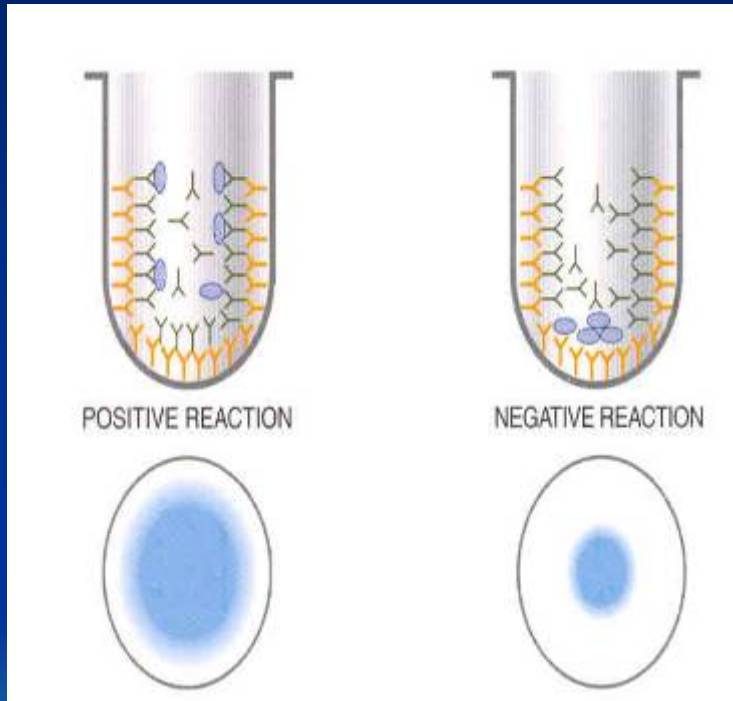
	• STA	• Coombs	• Brucellacapt
• Spesifite	%91.5	%65.8	%95.1
• Sensitivite	%99.8	%100	%99.0
- Orduna A. Clin Mic Infect 2000; 6(1): 166

Coombs çalışması: $>1/320$



1. STA
2. Yıka
3. Üç defa
4. antiİgG
5. Bekle
6. Oku

STA+Coombs: Brucellacapt testi:



- Bu yöntemde, kuyucuklar insan kaynaklı IgG,IgM,IgA antikorlarına karşı antikorlarla (Coombs antikorları) kaplıdır.
- Brusellaya karşı oluşan üç antikor da tespit eder

TABLE 4. Antibody titer in serum samples taken before and after relapse or reinfection in the six affected brucellosis patients

Patient	Blood culture	Titer ^a in:					
		SAT		Coombs test		Brucellacapt test	
		Before relapse	After relapse	Before relapse	After relapse	Before relapse	After relapse
Rec1	Positive	0	20	320	640	640	10,280
Rec2	Positive	80	640	320	1,280	640	5,120
Rec3	Negative	0	40	0	640	0	1,280
Rec4	Negative	80	320	320	1,280	640	2,560
Rec5	Negative	160	320	320	1,280	2,560	10,240
Rec6	Positive	160	640	640	640	640	1,280

^a Inverse titer.

Aşağıda Brucellacapt, Coombs ve Standart Tüp Aglütinasyon testi ile yapılan çalışmalar görülmektedir

* Orduna A. Journal of Clinical Microbiology, Nov.2000,p.4000-4005

VOL. 38, 2000

EVALUATION OF BRUCELLACAPT TEST 4001

TABLE 1. Distribution of results from sera of brucellosis patients and controls in serological tests

Titers ^a	No. of initial sera (n = 182)			No. of follow-up sera (n = 233)			No. of unconfirmed suspect sera (n = 157)			No. of control sera (n = 412)		
	Brucellacapt	Coombs	SAT	Brucellacapt	Coombs	SAT	Brucellacapt	Coombs	SAT	Brucellacapt	Coombs	SAT
0			7	8	20	48	71	73	143	397	407	410
20	1		2	0	0	22	4	1	10			2
40		3	8	0	8	30	24	47	8		3	
80	3	4	11	8	28	41	29	30		11	1	
160	3	7	17	21	53	53	25	6		1	1	
320	2	8	20	47	49	20	3			2		
640	15	24	11	37	40	14	1					
1,280	9	24	5	45	33	4				1		
2,560	16	7	1	34	1	1						
5,120	13	5		24	1							
10,240	11			8								
20,480	2											
40,960	4			1								
81,920	3											

^a Inverse titer.

TABLE 3. Clinical and serological characteristics of the four patients with chronic brucellosis

Patient	Blood culture	Titer ^a in:			Symptoms	Duration of symptoms (mo)
		SAT	Coombs test	Brucellacapt test		
Bcr1	Positive	40	640	1,280	Fever, sacroiliac inflammation	5
Bcr2	Positive	0	1,280	2,560	Fever, arthritis	6
Bcr3	Negative	0	5,120	20,480	Fever, arthralgia	6
Bcr4	Positive	160	640	2,560	Fever, sacroiliac inflammation	3

^a Inverse titer.

ELISA testi

- Kronik bruselloz tanısında ELISA IgG ve IgA sonucu anlamlı. H.Çolak ve ark. Mikrobiyol Bul 1992; 26(1): 56-60

ELISA zor, pahalı, zaman alıcı ancak çapraz reaksiyon vermez. STA ile aynı duyarlılığa sahiptir

- ELISA ile duyarlılık IgG %61.9, IgM ile %49.5, STA %83.7, RB %61.9

F.Sırmatel Mikrobiyol Bul 2002;

Molekuler teknikler: PCR, Western blot

- PCR ile: BCS P31 geni (31kDA kodlayan)
- BP26 geni (26 kDA periplasmik proteini kodlayan) tanımlanır

PCR ile ekstraselluler >500 basil olunca anlamlı

Sensitivitesi %100

Spesifitesi %98.3

PCR hastalık geçtikten 5 ay sonrada (+) olabilir)

Rabab A. Ann Saudi Med 2000

Sonuç:

- 1. Her bölge endemik durumuna göre laboratuvar metodunu tercih etmelidir
- 2. Akut infeksiyonlarda kan kültürü
- 3. RB ve STA ucuz, kolay ama endemik bölgelerde klinik ile bağdaştırılmalıdır
- 4. ELISA, PCR pahalı, zor, zaman alıcı
- 5. Coombs>1/320 aktif enfeksiyonu gösterir, kronik ve persitan olgularda tercih edilir.
- 6.Coombs+STA bir arada olan Immuncapture testi kronik ve STA (-) olgularda yapılmalıdır.