

# Brusellozda Bakteriyolojik Tanı Yöntemleri

Nezahat Gürler

*Brucella* cinsinde bulunan bakteriler insan ve hayvanların zorunlu parazitidirler. Intraselüler olarak bulunurlar.

*Brucella* cinsi içinde *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis* ve *B. neotomae* türleri bulunmaktadır. Bu türlerden *B. abortus* ve *B. melitensis* türleri insandan sıklıkla izole edilmekte olup diğer türlerin (*B. canis* dışında) insanda infeksiyon oluşturduğu gösterilmemiştir.

*Brucella* cinsinde bulunan bakteriler küçük kokobasil veya kısa çomak şeklindedir. Çomaklar genellikle tek ya da çift şekilde görülür. Nadiren kısa zincir oluşturabilirler. *Brucella*'lar hareketsiz, sporsuz Gram-negatif bakterilerdir. Bazan düzensiz boyanırlar. S şeklinde ve mukoid koloni oluşturan suşlarda kapsül gösterilebilir. Aerop şartlarda ürerler. CO<sub>2</sub> ile üremeleri artırılır. Özellikle *B. abortus* ilk izolasyonunda % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortama gereksinme duyar. Zorunlu anaerop şartlarda üremezler. *Brucella* türleri intraselüler yaşadıklarından, beslenme ihtiyaçları komplekstir. Bilhassa ilk izolasyonunda kompleks besiyerlerinin kullanılması gerekir. Et özeti, triptoz gibi kompleks peptonlu, glikoz ve tuz içeren besiyerlerinde iyi ürerler. Bazı türler için tiamin, niasin, nikotinik asit, vitaminler ve biotin, bazan serum gerekebilir. Kalsiyum pentenat ve mezoeritritol üremelerini artırır. Optimal üreme ısısı 37°C olmakta birlikte 10-40°C'de üreyebilir. Optimal pH: 6.7-7.4'tür. İnkübasyondan 2-3 gün sonra kolonileri görülebilir, fakat ancak 4-5 gün sonra 2-3 mm büyüklüğe ulaşabilirler. Zengin besiyerlerinde düzgün kenarlı, konveks, nemli, parlak koloniler oluştururlar. Kolonileri he-

molizsiz ve pigmentsizdir. *B. melitensis* ve *B. abortus*'un bazı türlerinin kolonileri eski kültürlerde esmer renkte görülebilir. *B. ovis* ve *B. canis* kolonileri normal olarak pürüzlü R şeklindedir.

*Brucella* türlerinin biyokimyasal ve fizyolojik özellikleriyle birbirlerinden ayrılabilen çeşitli biyotipleri mevcuttur (Tablo 1).

*Brucella*'lar çoğu kez ısıya, asitlere ve dezenfektanlara dirençli değildirler. Sütün pastörizasyonu ile ölürler. *Brucella* cinsindeki bakteriler katalaz ve oksidaz pozitiflerdir. Üreaz oluşturmaları değişkendir. Nitratları nitritlere indirgerler. Asetilmetil karbinol ve jelatinaz oluşturmazlar (Tablo 2).

*Brucella* cinsindeki bakteriler karbonhidratları parçalar, fakat sınıflandırma için yeterli miktarda ne asit ne de gaz oluştururlar.

*Brucella*'lar aglütinasyon deneyi ile birbirlerinden ayrılırlar. A ve M olmak üzere 2 antijenleri vardır. Fakat 4 türde de bu antijenler farklılık gösterir. Ayrıca *Salmonella*'ların Vi antijenlerine benzeyen yüzeyel L antijenleri de gösterilmiştir. *Brucella* cinsi bakterilerin antijenleri *Yersinia enterocolitica*, *Francisella tularensis* ve *Vibrio cholerae* gibi bakterilerle çapraz reaksiyon verir.

Brusellozun laboratuvar tanısı için muayene maddesi olarak kan kullanılır. Bruselloz şüphesinde kan kültürleri birkaç kez tekrarlanmalıdır. Enfekte dokulardan, apse içeriklerinden, kemik iliğinden, karaciğer biyopsisi ile elde edilen materyelden kültür yapılabilir. Daha seyrek olarak beyin-omurilik

Tablo 1 - *Brucella* Cinsindeki Tür ve Biyotiplerin Ayrıntı Özellikleri

Türler	Biyotip	CO <sub>2</sub> ihtiyacı	H <sub>2</sub> S oluşumu	Üreaz aktivitesi	Boya varlığında üreme		Eritritrol 1 mg/ml	Penisilin 5Ü	Aglütinasyon			Thilisi fajıyla lizis	
					Bazik fuksin	Tiyanın I II			A	M	R	RTD	10 <sup>4</sup> DTD
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	var	+	+	+	+	-	+	-	-	-
	2	-	-	var	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	3	-	-	var	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>B. abortus</i>	1	±	+	1-2 saat	+	-	+	+	+	-	-	+	+
	2	+	+	1-2 saat	-	-	±	-	+	-	-	+	+
	3	±	+	1-2 saat	+	-	+	+	+	-	-	+	+
	4	±	+	1-2 saat	+	-	+	+	-	+	-	+	+
	5	-	-	1-2 saat	+	-	+	+	-	+	-	+	+
	6	-	±	1-2 saat	+	-	+	+	+	-	-	+	+
	7	-	±	1-2 saat	+	-	+	+	+	+	-	+	+
9	±	+	1-2 saat	+	-	+	+	-	+	-	+	+	
Suş 10	1	-	+	1-2 saat	+	-	-	-	+	-	-	+	+
<i>B. suis</i>	1	-	+	0-30 dak.	-	+	+	+	-	+	-	-	+
	2	-	-	0-30 dak.	-	-	+	+	-	+	-	-	+
	3	-	-	0-30 dak.	+	+	+	+	±	+	-	-	+
	4	-	-	0-30 dak.	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>B. canis</i>	-	-	0-30 dak.	-	+	+	+	-	-	-	+	-	
<i>B. neotomas</i>	-	+	0-30 dak.	-	-	+	+	-	+	-	-	+	
<i>B. ovis</i>	+	-	Negatif	+	+	+	-	-	-	-	+	-	

İstanbul Tıp Fakültesi Deri Hastalıkları Anabilim Dalı, Çapa - İstanbul

2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde (20-22 Eylül 1988, İstanbul) bildirilmiştir.

**Tablo 2 - *Brucella* Cinsinden Bakterilerin Fizyolojik Özellikleri**

Katalaz	+
Oksidaz	+
Üreaz	Var
Nitratları indirgeme	+
Sitrat	-
Metil kırmızısı	-
V.P	-
Jelatinaz	-
O-nitrofenol-beta-D-galaktozidaz	-

sıvısı, plevra sıvısı, periton sıvısı, idrar gibi örnekler de *Brucella* kültürü için kullanılabilir.

Muayene maddesinde bakterilerin gösterilmesinde direkt fluoressan antikor yöntemi çabuk tanı için kullanılır. Ancak şu anda ticari olarak kullanılacak konjugat henüz mevcut değildir. Kültür için triptik soy buyyon, triptik soy agar, tiyonin triptoz agar gibi çeşitli besiyerleri kullanılır. *Brucella* cinsi bakterilerin izolasyonunda kullanılacak besiyerleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Kan kültürleri için bifazik besiyerlerinin kullanılması uygun olur. Hemokültür besiyerlerinden

**Tablo 3. *Brucella* Cinsi Bakterilerin İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri.**

Serum veya % 5 koyun kanı ilave edilmiş agar besiyeri, *Brucella* agar, triptik agar, tiyonin triptoz agar, triptoz agar, serumlu-patatesli infüzyon agar, serumlu dekstroz agar kullanılır.

Ayrıca Kuzdas ve Morse tarafından geliştirilmiş olan basitrasın, polimiksin B, sikloheksimid ve sirkulin içeren besiyeri; basitrasın, polimiksin B, nalidiksik asit, vankomisin, sikloheksimid ve nistatin içeren Farrell's selektif besiyeri ve modifiye Thayer-Martin besiyeri kullanılabilir.

birkaç gün arayla aynı bileşimdeki yeni besiyerlerine ekim yapılarak üreme olup olmadığı kontrol edilir. Kan kültürleri 35-37°C'de 3-4 hafta inkübe edilmelidir. Ekim yapılmış katı besiyerleri ise 35-37°C'de % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 10 gün inkübe edilmelidir. *Brucella* kolonileri 4-5 gün sonra 2-7 mm çapında yuvarlak düzgün kenarlı opak görünümlü, şeffaf, ışıpta pembemsi-beyaz refle verirler.

Genellikle *Brucella* tip ve biyotiplerinin ayırıcı tanısında H<sub>2</sub>S oluşumu, üremenin CO<sub>2</sub> ile artması, monospesifik serumla aglütinasyon, üreaz oluşumu, katı besiyerlerinde bazik füksin ve tiyonin mevcudiyetinde üremeleri araştırılır.

*Brucella* cinsindeki bakteriler kural olarak sadece hastalığın akut safhasında veya nükslerde izole edilebilir.

*Brucella* cinsindeki bakterilerin S kolonileri kobay, hamster ve tavşanlara intraperitoneal inoküle edildiğinde subklinik infeksiyondan öldürücü olabilen infeksiyonlara kadar değişen ağırlıkta tablolara neden olur. S şeklindeki kolonilerin R varyantlarının laboratuvar hayvanları için patojenitesi daha azdır.

Bruseloz tedavisinde belirli antibiyotikler kullanılır. Bu nedenle bazı laboratuvarlar duyarlık deneyinin yapılması gerekmediğini bildirmekle beraber, yine de kemoterapötiklere duyarlık deneyinin yapılması gereklidir.

#### Kaynaklar

1. Freeman B A. Undulant Fever: Contagious Abortion of Cattle. In: Burrow's *Textbook of Microbiology* 22th ed. Philadelphia-Tokyo: W B Saunders, 1985: 505-12.
2. Hall WH. Brucellosis. In: Ewans AS, Feldman HA, eds. *Bacterial Infections of Humans*. New York: Plenum 1982; 119-31.
3. Hausler WB, Moyer NP, Holcomb LA. *Brucella*. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy JH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, Washington DC: American Society for Microbiology, 1985: 382-86.
4. Jawetz E, Melnick JL, Brooks GF, Edelberg EA, Butel SJ, Orston NL. *Brucella*. *Medical Microbiology*, Norwalk: Practice Hall International Inc 1989: 230-32.
5. Joklik KW, Willet HP, Amos BD. *Brucella*. *Zinsser Microbiology*: 18 th ed. Norwalk: Appleton-Centory-Crofts 1984: 665-71.
6. Spink WW. *Brucella*. In: Braude AI, Davis CE, Fiercz J, Eds. *Microbiology*. Philadelphia: WB Saunders, 1982: 374-79.