

BRUSELLOZDA MİKROBİYOLOJİK TANI

Osman AKTAŞ

Brucella cinsi genetik olarak benzerlik gösteren altı tür içermektedir. İnsan infeksiyonlarından *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis* ve ender olarak da *Brucella canis* türleri izole edilmektedir. *Brucella ovis* ve *Brucella neotomae* diğerlerinden fenotipik farklılıklarları olan ve insanlardan izole edilmeyen türlerdir (8). Aerop, Gram negatif, kokobasiller olan brusellaların rezervuarı sıçır, domuz, keçi, koyun, bizon, geyik, köpek ve kurt gibi evcil ya da yabani memelilerdir (29). İnsan brusellozunun klinik belirtilerinin çeşitliliği ve çoğu kez sinsi seyretmesiyle klinik tanıda güçlülere neden olduğundan, kültürde etkenin kendisinin ya da moleküler yöntemlerle nükleik asitlerinin gösterilmesi ya da bakterinin抗jenlerine karşı oluşan immun yanıtın saptanması gerekmektedir (7). Bakteriyolojik izolasyon temeline dayalı direkt yöntemler hemen her yerde kullanilan, ancak zor, zaman alıcı ve bakterinin laboratuvar çalışmaları sırasında solunum yoluyla kolayca bulaşma özelliğinden dolayı tehlikelidir. Şarbon, veba, tularemii, Q ateşi etkenlerinin yanı sıra *Brucella* bakterileri de kolay bulaşmaları ve yaptığı hastalıkların çok çabuk yayılması nedeniyle terörist ülkelerinin kullanılabileceği biyolojik saldırı ajanları arasında sınıflandırılmışlardır (5,10,15,23,26,27). Gerek bu özelliği nedeniyle, gerekse de olumlu sonuçların alınmasında başarı oranının her zaman istenilen düzeyde olmaması nedeniyle, bruselloz tanısında kültürden çok serolojik yöntemler tercih nedeni olmaktadır (24).

Tanıda hastanın hikayesi, fiziki muayenesi, radyolojik bulgular ve laboratuvar verileri gereklidir. Kesin tanı mikrobiyolojik yöntemlerden elde edilen bulgular sonunda konulabilmektedir. Tanıda kullanılan teknigin duyarlılığı genellikle örnek içerisinde bulunan mikroorganizmaların sayısına bağlıdır. Özgüllüğü ise; spesifik organizmanın mikroskopik olarak morfolojisinin diğer mikroorganizmalardan farklı olup olmamasına, antikor ya da genetik probun cins ya da türe özgü olup olmamasına bağlı olarak değişmektedir. Çok çeşitli ve diğer hastalıklarda da görülebilen klinik belirtilere neden olan insan brusellozunun tanısında mikrobiyolojik yöntemlerden alınan sonuçlar ışığında bile zorluklar yaşanabilemektedir (6,9,11-13,20-22,25,28).

Bruselloz tanısında incelenen örnekler

Brucella spp. kültürü yönünden incelenen örneklerin başında kan ve kemik iliği, daha az olarak da dalak ve karaciğer biyopsileri, abse, BOS, eklem, periton ve perikard sıvıları ve idrar örnekleri gelmektedir (3). Serolojik çalışmalar amacıyla en sık alınan örnek ise serumdur. Akut dönemde serolojik çalışmalar için serum örnekleri hastalığın başlangı-

cında; iyileşme döneminde ise akut dönemde 21 gün sonra alınması uygundur. Kültür için alınan bakteriyolojik örnekler en geç 2 saat içerisinde uygun besiyerlerine ekilmelidir. Eğer bu süre içerisinde ekimlerin yapılması mümkün olamayacaksa 4-10°C'de korunması gerekmektedir.

Direkt etiyolojik tanı yöntemleri

Bruselloza neden olan susun kültürden izolasyonu,抗jenlerinin ya da nükleer materyallerinin serolojik ya da moleküler tekniklerle gösterilmesi temeline dayanan yöntemlerdir.

A. Kültür yöntemleriyle etkenin izolasyonu: Fakültatif hücre içi paraziti olan *Brucella* bakterilerinin kültürden izolasyonu 5-7 gün arasında bir zamanı gerektirmektedir. Rutin kültürler bir hafta boyunca takip edilerek süre sonunda üreme saptanamaması halinde negatif sonuçlar bildirilir. Bu bakterilerin optimal ısı gereksinimleri 35°C dolaylarındadır. Özellikle *Brucella abortus*'un ilk izolasyonunda % 10 CO₂ içeren atmosferik koşulların tercih edilmesi uygundur. Steril olmayan vücut bölgelerinden alınan örneklerin kültürünün, kontamine flora bakterilerin üremesini engellemek için seçici besiyerlerinde yapılması uygun olmaktadır. Et ekstresi, triptoz, glikoz ve tuz içeren ortamlarda bir çok türün izole edilebilmesine rağmen bir çoğu da tiamin, niasin nikotinik asit, biotin ve serum gibi maddelerin varlığında üreyebilmektedir. *Brucella*'ların üretiminde; % 5 koyn kanlı agar, triptoz agar, triptikaz soy agar, serumlu dekstroz agar, gliserol dekstroz agar ve kan kültürü şişeleri kullanılan besiyerlerinden bazlarıdır (3). Castaneda besiyeri olarak bilinen nonselektif bifazik besiyeri kan ve diğer vücut sıvıları ya da süttür *Brucella* izolasyonunda tercih edilen besiyeridir. Tüm temel ortamlar *Brucella* bakterilerinin dışındaki organizmaların üremesini engellemek için antibiyotik ilave edilerek seçici hale getirilebilir. Bu amaçla, belirli oranlarda polimiksin B, basitrasin, siklohekimid, nalidiksik asit, nistatin, vankomisin içeren antimikrobi komplekslerinin kullanılması uygun olmaktadır (16).

Brucella türlerinin direkt izolasyonu ve kültür amacılı genellikle katı besiyerleri tercih edilmektedir. Katı besiyerlerinin en önemli avantajlarından birisi gelişen bakteri kolonilerinin morfolojisinin incelenmesi ile tanıya katkı sağlamasıdır. Katı yüzeylerde elde edilmiş kolonileri 1-2 mm çapında, nonhemolitik, şebnem tanesine benzer saydam, küçük, kabarık, S tipi kolonilerdir. Yavaş üreyen bakterinin kolonileri 48 saat sonra gözle görülebilir büyülü erişmeyecektir. Koloniler eskidikçe çapları büyür ve matlaşır. Gram boyamada çok küçük, zayıf boyanan Gram olumsuz kokobasiller

şeklinde gözlenir. Gram morfolojisi *Francisella tularensis* ile benzerlik gösterir. Kolonilerine uygulanan oksidaz ve katalaz testlerinden pozitif sonuç alınır. Hareketsiz olan organizmlar nitrat redüksiyonu yapar. Christian'in üre agarında *B.suis* için bir saat, *B.abortus* ve *B.melitensis* için 24 saat içerisinde üreaz aktivitesi olumlu olarak saptanır.

Bruseloz nedeniyle ortaya çıkan ateşin ikinci gününden sonra kan kültürlerden olumlu sonuçlar alınabilmektedir. Olumlu sonuç elde edebilmek için farklı zamanlarda alınan birden fazla kan kültürünün yapılması uygundur (3). Yapılan kültürlerden alınan pozitif sonuçların oranı yörenen yöreye ve laboratuvardan laboratuvara oldukça değişmektedir.

Kan kültürleri sadece sıvı ortamlarda (buuyon kültürü) ya da bifazik ortamlarda yapılmamaktadır. Buuyonda yapılan kan kültürleri bir ay inkübe edilerek *Brucella* bakterilerinin izolasyon şansının arttırılması amaçlanır. Castaneda tarafından geliştirilen aynı kan kültürü şısesinde sıvı ve katı besiyeri içeren bifazik ortamlarda da kültür yapılır. Besiyerine kan örneği ekildikten sonra, katı ortam üzerine sıvı besiyerinin geçmesini sağlayacak şekilde şişe eğdirilerek kanın besiyerine yayılması sağlanır. Şişe dik pozisyonda etüvde inkübe edilir ve üç gün boyunca her gün incelenir. Katı kısmında koloni oluşumu halinde alt kültürler yapılır. Eğer koloni oluşmamışsa yine 3 gün boyunca inkübasyona tabi tutularak yeniden incelenir. Bu yöntemle kültür genellikle 1 hafta içinde pozitif sonuç verir, 15 günden sonra pozitif sonuç almak nadirdir. Ancak olumsuz sonuçlar 21 günlük inkübasyondan sonra rapor edilmelidir. Bakterilerin izolasyon süresini kısaltmak amacıyla "liziz konsantrasyon yöntemi" uygulanmaktadır. Bu yöntemde ozmotik basınçla kan hücreleri lize edilerek hücre içi bakterilerin açığa çıkması sağlanır. Santrifügasyonla yoğunlaştırılan bakteri süspansiyonu agar içeren besiyerlerine ekilir. *Brucella* bakterilerinin izolasyonunda kısa sürede sonuç alabilemek amacıyla ticari otomatik kan kültür sistemlerinden de yararlanılmaktadır (29).

Brucella bakterilerinin fagositoz hücreleri içerisinde yasamaları ve retiküloendoteliyal sistemde lokalize olması nedeniyle kemik iliği, karaciğer ve lenf nodüllerinden izolasyonları daha kolay olmaktadır. Bruselozlu olguların kan kültürlerinden izole edilemeyen bakterilerin, kemik iliği kültürlerinden % 20 oranında izole edildiği bildirilmektedir. Bu değerlerin istatistiksel olarak önemli olduğu yazılmaktadır. Kemik iliği kültürlerinden pozitif sonuç alma süresi kan kültürune oranla daha kısa olmaktadır. Bakterilerin kültürden izolasyonunu sınırlayan en önemli faktörlerin başında antibiyotik kullanımı gelmektedir, antibiyotik kullananlarda kan kültürlerinden önemli ölçüde hatalı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Antibiyotik kullananlardan kemik iliği kültürlerinin yapılması durumunda daha olumlu sonuçların alındığı bildirilmektedir. Bu nedenle, bruseloz kuşkusuna olan olgulardan kan kültürü negatifliği durumunda kemik iliği kültürünün yapılması önerilmektedir.

B. Moleküler yöntemlerle *Brucella* antijenlerinin ve DNA'sının aranması: Bruselozun semptom ve bulguları tanda spesifik olmadığı için kesin tanı *Brucella* bakterilerinin ya da nükleik asitlerinin izolasyonu ile ya da spesifik immun yanıtın kanıtlanması ile yapılır (7). Bruseloz tanısını daha güvenilir kılmak amacıyla PCR yöntemlerinden yararlanılmaktadır (4). İnsan bruselozunun tanısında PCR, kan kültürlerinden daha duyarlı ve serolojik testlerden daha spesifiktir (18). Bruselozlu olduğu klinik olarak tanımlanan olgularda geleneksel kültür yöntemleri ile PCR testi karşılaştırılmış ve PCR'in konvansiyonel kültürlerde göre çok daha fazla duyarlı ve hızlı olduğu, laboratuvara çalışanları riske atmamak için bu testin kullanılmasının yerinde olacağı, bruselozun merkezi komplikasyonlarının tanısı için yararlı bir araç olacağı bildirilmektedir (17).

2. İndirekt tanı yöntemleri

Bu yöntemler hastalığa neden olan mikroorganizma ya da bu mikroorganizmanın antijenlerine organizmanın verdiği bağışık yanıt sonucu oluşan antikor ve otoantikorların serolojik olarak belirlenmesi; antijenlere karşı organizmada ortaya çıkan aşırı duyarlılığın (allerji) "deri testleri" ile araştırılması ile yapılan tanı yöntemleridir. Bruseloz tanısında kullanılan serolojik testlerde kolera, tularemii ve yersinyoza karşı aşılanmışlarda ya da bu hastalıkları olan kişilerde ve ayrıca *E.coli* O:157 ve O:116, *Salmonella* (Kaufmann-White grub N), *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Yersinia enterocolitica* serotip O:9 ile çapraz reaksiyonlar alınabilmektedir (29).

Bruseloz tanısında sıkılıkla kullanılan serolojik yöntemlerle antikor aranmasına dayanan indirekt mikrobiyolojik tanı yöntemleri aşağıda verilmiştir.

A. Tüp aglutinasyon testleri: Bruselozun tanısında kullanılan standart serolojik test, standart tüp aglutinasyon (STA) testidir. Bu test ilk kez Wright tarafından 1897 yılında uygulanmıştır (29). Bu testin dezavantajı yoğun emek gerektirmesi ve diğer Gram negatif bakterilere karşı oluşan antikorlarla çapraz reaksiyon vermesidir. Farklı immunoglobulinlerin saptanması amacıyla 2-merkaptoetanol (2ME) testi ve dithiothreitol testleri geliştirilmiştir. Bu testler IgM pentamerinin disülfit bağlarının indirgenmesini temel alan testlerdir. Serum 2ME ya da dithiothreitol ile muamele edildiğinde IgG molekülleri etkilenmez fakat IgM molekülleri aglutinasyon yapma yeteneğini kaybeder. STA aglutinasyon yapan antikorların (IgM ve IgG) total miktarını belirlerken, 2ME testi bu maddeye dirençli olan IgG antikorlarını tespitte kullanılır (3). IgG antikorları aktif infeksiyonun bir göstergesi olmasından dolayı önemlidir. STA testi 1/160 ya da daha yukarı titrelerde pozitif ise 2ME testinden genellikle pozitif sonuç alınmaktadır. STA'da aglutinasyon vermeyen antikorları tespit etmek (blokant antikorların etkisini engellemek) için Coombs antiglobulin testi uygulanır (29). Coombs testinde

seri sulandırımlara anti-human gamaglobulini ilave edilir. Daha sonra bağlanmamış globulinler yikanarak ortamdan uzaklaştırılır. Test tüpleri yeniden inkübe edilir. STA'da alınan pozitiflik oranı ile karşılaşıldığında bu test sonucu pozitif sulandırım oranında STA testine göre 4 kat gibi bir artış gözlenirse test sonucu pozitif olarak değerlendirilir. Bruselozda blokan antikorlar nadir olduğu için bu teste pek fazla gereksinim duyulmamaktadır. Serum aglutinasyon testlerinin IgM, IgA, ve IgG antikorlarını birlikte tespit etme avantajı olmasına rağmen özellikle düşük titrelerde tanıdaki spesifiteyi düşüktür. Serumun düşük sulandırımlarında "prozon olayı" ortaya çıkmakta ve aglutinasyon maskelenebilmektedir.

B. Kompleman birleştirme testi: Hastlığın ileri evrelerinde ya da kronik hastalıkta predominant olan IgG antikorlarının tanısında önemli olmaktadır, fakat antikomplementer aktivitenin ortaya çıkması, kompleman gibi kararsız reaktiflerin kullanılması, hastlığın başlangıç dönemlerinde kompleman fiksasyonuna yanıtın tespit edilmesindeki yetersizlik ve teknik gereksinimler gerektirmesi gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir.

C. Hızlı aglutinasyon testleri: Bu testlerde bakterinin konsantrasyonu belli değildir. Alınan pozitif sonuçların standart tüp aglutinasyon yöntemiyle doğrulanması gereklidir. Hızlı aglutinasyon testleri lam aglutinasyon testi (LAT) ya da kart test (KAT) yöntemidir (1). Bu makroskopik aglutinasyon testlerinde boyalı bakteri süspansiyonları kullanılmaktadır. Boyalı *Brucella*抗jenleri kullanılarak tüpte aglutinasyon (mikroaglutinasyon) araştırılabilir. Bu uygulama ile STA'ya göre daha az antijen, daha az tüp dilüsyonu ve daha kısa inkübasyon avantajı sağlanır. Diğer bir hızlı test olan Rose Bengal testi SAT ile oldukça uyumlu sonuçların aldığı tamponlanmış reaktifler ile düşük pH'da aglutinasyon teşmine dayanmaktadır (29).

D. ELISA: Son zamanlarda, özgül lipopolisakkarit抗jenlerinin kullanılması esasına dayanan ELISA yöntemleri uygulamaya giren serolojik testler arasındadır (24). Bruselozun seyrinin belirlenmesinde özgül antikorların aranması hem de hastasına uygulayacağı tedavide yol gösterici olmaktadır. Hastlığın başlangıcında özgül IgM antikorları, üçüncü haftadan sonra da özgül IgG antikorları serumda saptanabilir düzeylere çıkmaktadır. ELISA yöntemi, *Brucella* akut ve kronik bruseloz tanısında Ig sınıflarının profilini veren hızlı, duyarlı ve özgül güvenilir bir yöntemdir (1). Bruselozda tarama testi olarak kullanılabileceği bildirilen, serolojik tanıda seçenek yöntemlerden biridir (2). Yanlış pozitif ELISA sonuçları *B. abortus* lipopolisakkariti ile bovine IgM'lerinin nonspesifik bağlanması sonucu ortaya çıkmaktadır. Yeni geliştirilen ELISA testleriyle tanıda duyarlılık ve özgüllük art-

tırılmaya çalışmaktadır. Son zamanlarda geliştirilen "competitive enzyme immunoassay (CELISA)"in özgüllüğü % 96.5-100; duyarlılığı ise % 94.8-100 arasında bulunmuştur. Luccero ve ark. (14) bu bilgiyi verdikleri çalışmalarında indirek ELISA (IELISA) testinin en duyarlı test olduğunu ancak bu testin yorumlanmasında örneğin *Yersinia enterocolitica* O:9 ile infekte olgularda yanlış pozitif sonuç verebileceğine de dikkat çekmektedirler. CELISA'da infeksiyon bölgelerinden elde edilen çoklu *Brucella* türlerine karşı tek tek oluşan monoklonal antikorlar aranabilmektedir. Bu deneyde kullanılan monoklonal antikorlar bakteriye ait smooth lipopolisakkarit (S-LPS) için özgüldür. CELISA S-LPS'nin O-polisakkaritine karşı oluşan özgül M antikorlarının aranması esasına dayanan bir testtir. M antikorları, çapraz reaksiyon veren antikorlarla yarışır. Bu çalışmada CELISA'nın insan bruselozunun tanısında uygun bir test olduğu ve bir doğrulama testi olarak ayarlanabileceği bildirilmektedir.

E. Floresan polarizasyon deneyi (FPD): Bu deneyin esası florokrom ile işaretli çözelti içindeki az miktardaki bir çözünür antijen ile antikoruya kompleks oluşturmuş antijen molekülü arasında rotasyonal farklılıklara dayanmaktadır. Küçük molekül, hızlı şekilde rasgele döner ve ışık hızla depolarize olur. Daha büyük olan kompleks molekül ise daha yavaş döner ve ışığın depolarizasyonu yavaşlar. Depolarizasyondaki değişim hızı ölçülebilmektedir. FPD reaksiyona girmeyen reaktiflerin ortamdan uzaklaştırmasını gerektirme-yen bu nedenle hızlı, taşınabilir ekipmanla yapılabilen laboratuvar ve sahada uygulanabilir olan homojen bir deneydir. FPD deneyinin sığır, domuz, koyun, keçi ve bizon gibi hayvanların bruselozunun serolojik tanısında uygun olduğu kabul edilmektedir (19).

F. Deri testleri: Geç tip aşırı duyarlılık testleri bruseloz tanısında yardımcı olmakta, özellikle gevş getiren hayvanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlara da uygulanan bu testlerde antijen olarak ödürlülmüş *Brucella* bakterileri, saflaştırılmış bakterilerin 21 günlük kültür süzüntüleri ve ticari olarak hazırlanmış saflaştırılmış rekombinant bakteri proteinleri kullanılmaktadır. Testte kullanılan抗jenlerin lipopolisakkarit içermemesi gereklidir. Aksi halde diğer Gram negatif bakteri infeksiyonlarında çapraz reaksiyonlar alınması nedeniyle testin tanısal değeri olmaz. Bruselozun allerjik deri testleri tarama testi ya da tamamlayıcı test olarak yararlı olmaktadır. Bruselozun allerjik tanısında en sık kullanılan test "Brucellergen" deri testidir. Brucellergen bir nükleoprotein kompleksi olup deri içine şırınga edildikten sonra 24 saat içerisinde şırınga yerinde kızarıklık, ödem ve sertlik meydan- na gelmesi durumunda kişinin *Brucella* bakterilerine karşı aşırı duyarlı olduğuna karar verilir (3).

KAYNAKLAR

- 1- Araj GF, Brown GM, Haj MM, Madhvan NV: Assessment of brucellosis card test in screening patients for brucellosis, *Epidemiol Infect* 100:389 (1988).
- 2- Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, Khateeb MI: Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings, *J Hyg (Lond)* 97:457 (1986).
- 3- Baysal B: Brucella, "Ustaçelebi § (ed): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1. baskı" kitabında s. 571, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
- 4- Bricker B J: PCR as a diagnostic tool for brucellosis, *Vet Microbiol* 90:435 (2002).
- 5- Butler JC, Cohen M L, Friedman CR, Scripp RM, Watz CG: Collaboration between public health and law enforcement: new paradigms and partnerships for bioterrorism planning and response, *Emerg Infect Dis* 8:1152 (2002).
- 6- Colmenero Jde D, Queipo-Ortuño MI, Maria Reguera J, Angel Suarez-Munoz M, Martin-Carballino S, Morata P: Chronic hepatosplenic abscesses in brucellosis. Clinico-therapeutic features and molecular diagnostic approach, *Diagn Microbiol Infect Dis* 42:159 (2002).
- 7- Coppola N: New diagnostic frontiers in brucellosis, *Infez Med* 9:130 (2001).
- 8- Fox KF, Fox A, Nagpal M, Steinberg P, Heroux K: Identification of Brucella by ribosomal-spacer-region PCR and differentiation of *Brucella canis* from other *Brucella* spp. pathogenic for humans by carbohydrate profiles, *J Clin Microbiol* 36:3217 (1998).
- 9- Geyik MF, Gur A, Nas K, Cevik R, Sarac J, Dikici B, Ayaz C: Musculoskeletal involvement of brucellosis in different age groups: a study of 195 cases, *Swiss Med Wkly* 132:98 (2002).
- 10- Greene CM, Reehuis J, Tan C et al: CDC New Jersey Anthrax Investigation Team. Epidemiologic investigations of bioterrorism-related anthrax, New Jersey, 2001, *Emerg Infect Dis* 8:1048 (2002).
- 11- Gupta S, Varadarajulu R Mehta SR et al: A fatal case of systemic brucellosis, *J Assoc Physicians India* 49:1200 (2001).
- 12- Harman M, Unal O, Onbası KT, Kiymaz N, Arslan H: Brucellar spondylodiscitis: MRI diagnosis, *Clin Imaging* 25:421 (2001).
- 13- Lahdhili H, Ziadi M, Abdelmoula S et al: Brucella endocarditis of native valves. Report of 3 cases, *Tunis Med* 79:540 (2001).
- 14- Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K: Competitive enzyme immunoassay for diagnosis of human brucellosis, *J Clin Microbiol* 37:3245 (1999).
- 15- Maillard JM, Fischer M, McKee KT Jr, Turner LF, Cline JS: First case of bioterrorism-related inhalational anthrax, Florida, 2001: North Carolina investigation, *Emerg Infect Dis* 8:1035 (2002).
- 16- Marin CM, Alabart JL, Blasco JM: Effect of antibiotics contained in two *Brucella* selective media on growth of *B.abortus*, *B.melitensis* and *B.ovis*, *J Clin Microbiol* 34:426 (1996).
- 17- Morata P, Queipo-Ortuño MI, Reguera JM, Miralles F, Lopez-Gonzalez JJ, Colmenero JD: Diagnostic yield of a PCR assay in focal complications of brucellosis, *J Clin Microbiol* 39:3743 (2001).
- 18- Navarro E, Escribano J, Fernandez J, Solera J: Comparison of three different PCR methods for detection of *Brucella* spp in human blood samples, *FEMS Immunol Med Microbiol* 34:147 (2002).
- 19- Nielsen K, Gall D: Fluorescence polarization assay for the diagnosis of brucellosis: a review, *J Immunoassay Immunochem* 22:183 (2001).
- 20- Ozaksoy D, Yucesoy K, Yucesoy M, Kovanlikaya I, Yuce A, Naderi S: Brucellar spondylitis: MRI findings, *Eur Spine J* 10:529 (2001).
- 21- Ozgocmen S, Ardicoglu A, Kocakoc E, Kiris A, Ardicoglu O: Paravertebral abscess formation due to brucellosis in a patient with ankylosing spondylitis, *Joint Bone Spine* 68:521 (2001).
- 22- Sari R, Buyukberber N, Sevinc A, Bayindir Y, Buyukberber S: Brucellosis in the etiology of febrile neutropenia: case report, *J Chemother* 14:88 (2002).
- 23- Schmid G, Kaufmann A: Anthrax in Europe: its epidemiology, clinical characteristics, and role in bioterrorism, *Clin Microbiol Infect* 8:479 (2002).
- 24- Sirmatel F, Türker M, Bozkurt Aİ: Brusellosisin serolojik tanısında kullanılan yöntemlerin değerlendirilmesi, *Mikrobiyol Bult* 36:161 (2002).
- 25- Taskapan H, Oymak O, Sumerkan B, Tokgoz B, Utas C: Brucella peritonitis in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis with acute brucellosis, *Nephron* 91:156 (2002).
- 26- Teshale EH, Painter J, Burr GA and Connecticut Anthrax Response Team: Environmental sampling for spores of *Bacillus anthracis*, *Emerg Infect Dis* 8:1083 (2002).
- 27- Williams AA, Parashar UD, Stoica A and Connecticut Anthrax Investigation Team: Bioterrorism-related anthrax surveillance, Connecticut, September-December, 2001, *Emerg Infect Dis* 8:1078 (2002).
- 28- Yayli G, Isler M, Oyar O: Medically treated splenic abscess due to *Brucella melitensis*, *Scand J Infect Dis* 34:133 (2002).
- 29- Young EJ: *Brucella* species, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5. baskı" kitabında s. 2386, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).