

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

137928

UZUN SÜRE ETANOL İÇEREN DİYETLE BESLENEN KEMELERİN  
BRUSELLOZ TEDAVİSİNDE DOKSİSİKLİN VE RİFAMPİSİN İLAÇ  
KOMBİNASYONUNUN ETKİNLİĞİ

Dr. Zeki YUMUK

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Doktora Programı İçin Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Volkan DÜNDAR

KOCAELİ 2004

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

İş bu çalışma, jürimiz tarafından MİKROBİYOLOJİ  
Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Volkan DÜNDAR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Volkan DÜNDAR

ÜYE

Prof. Dr. Ayşe WILLKE

ÜYE

Prof. Dr. Nejat GACAR

ÜYE

Prof. Dr. Mine ANĞ KÜÇÜKER

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Erdener BALIKÇI

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

22/07/2004

Prof. Dr. M. Nejat GACAR

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Brusellozun tedavisinde istenen başarı henüz sağlanamamıştır. Antibiyotik tedavisine rağmen nüks sık görülür. Menenjit ve endokardit gibi komplikasyonların tedavisinde daha büyük sıkıntılar yaşanır. Brusellozun şiddeti *Brucella* türü, konağın bağışıklık sistemi, altta yatan bir hastalığın olması ve ortam şartları gibi bir çok faktöre bağlıdır. Etanol bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını bozar. Kronik alkoliklerde intrasellüler bakterilerin yaptığı infeksiyon bu nedenle sık görülür, tedavisinde yeterli başarı sağlanamayabilir. Önceden yapılan çalışmada uzun süre etanol içeren izokalorik diyetle beslenen kemelerde bruselloz hastalığının kontrol kemelerine göre daha ağır seyrettiği gösterildi. Etanolün bruselloz üzerinde oluşturduğu bu etkinin hastalığın tedavisinde sorun yaratabileceği düşünüldü ve bu çalışmanın ana amacını bu konunun araştırılması oluşturdu. Çalışmanın ilk aşamasında etanolün keme bruselloz tedavisi üzerine etkisinin araştırılabileceği model hazırlandı, ikinci aşamada tedavinin etkinliği araştırıldı.

Kemelere çalışma boyunca etanol içeren izokalorik sıvı diyet verildi. Diyetin 15nci günü *Brucella melitensis* intraperitoneal yoldan inoküle edildi. Bakteri inokülasyonundan 7 gün sonra kemelere rifampisin (6mg/kg/gün)-doksisisiklin (10mg/kg/gün) ilaç kombinasyonu 7 gün süreyle intragastrik yoldan verilerek uygulandı. Ölçülen maksimum, minimum ve ortalama kan antibiyotik seviyeleri ilaçların referans MIC değerlerine göre yüksek bulundu. Tedavi verilen kemelerin %65'in (n:17) dalaklarından yapılan kültürde üreme görülmedi. Diğer 6 kemenin dalaklarından farklı sayılarda *B.melitensis* izole edildi. Bu durumda 11 kemedede tedavi tam kür sağlarken, 6 kemedede uygulanan tedavisinin yetersiz olduğu düşünüldü.

Altı kemedede görülen tedavideki başarısızlığın sebebi olarak etanol işaret edildi. Yaşanan sorunun çözülebilmesi için *Brucella* infeksiyonları ile etanol arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılması gerektiği kanaatine varıldı. Bu konuyla ilgili sağlanacak daha fazla bilgi sadece etanol ve bruselloz arasındaki ilişkiye ışık tutmayacak aynı zamanda bruselloz tedavisinde yeni ufuklar açacaktır.

## ABSTRACT

Despite the availability of many antibacterial agents, the complete cure of the brucellosis with prevention of the frequent relapses is still an unattainable goal. The treatment of complication of brucellosis such as meningitis and endocarditis pose special problems, and there is no unanimity of opinion regarding the optimal regimen. The spectrum of disease depends on many factors including the immune status of host, the presence of other underlying diseases or conditions and the species of infecting organism. Ethanol is a kind of agent which was proved to be adversely affects immune system. The incidence of infections with intracellular bacterias is high in chronic alcoholics and treatment failure in such infections is common. Previously, it was shown that brucellosis of chronically ethanol treated rats' proceeds more seriously than the controls. It was thought that such effects of ethanol on brucellosis of rats might also adversely affect the treatment of brucellosis and this issue became the aim of this study.

All rats were fed with isocaloric diet during the study period. On the fifteenth day of isocaloric diet rats were exposed to *Brucella melitensis* intraperitoneally. Drugs were administered intragastrically starting on day seven following *B.melitensis* inoculation. Antibiotic dosages were selected as 6mg/kg/day of rifampicin and 10mg/kg/day doxycycline. The ranges of blood antibiotic levels obtained during antibiotic therapy. Maximal, minimal, and mean blood antibiotic levels in relation to the respective MICs for drugs were consistently high. Doxycycline (10mg/kg/day) – rifampicin (6mg/kg/day) combination administered intragastrically for seven days sterilized 65% (n:17) of spleen of alcoholic rats. The other 6 (%35) rats had various numbers of *B.melitensis* in their spleens' which shows failure of brucellosis treatment with the study dose of both drugs.

The treatment failure on 6 rats might be related to the adverease affect of ethanol exposure on *B.melitensis* infection. An understanding of the interaction between ethanol and *Brucella* infection is crucial. Not only will it augment our knowledge of how the brucellosis is affected by the chronic ethanol consumption but also may lead to new sights on the therapy of brucellosis.

## TEŞEKKÜR

Akademik eğitimim süresince desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım; bana yeni ufuklar açan değerli hocam Prof. Dr. Volkan Dündar'a, tüm deney aşamasında yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Şeyda Çalışkan'a, hayvanlara intragastrik yoldan tedavi verilmesinde aşamasında yardımcı olan Doç. Dr. M. Doğan Gülkaç'a, Arş. Gör. Gürler Akpınar'a ve Dr. Sıtkı Özdemirci'ye ve ayrıca sürekli desteğini ve moral katkısını hissettiğim değerli eşim Dr. Nurcan Öztürk Yumuk'a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Zeki Yumuk

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGE DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. BRUSELLOZ	4
2.1.1. Tanım	4
2.1.2. Epidemioloji	4
2.1.3. Etken organizma	5
2.1.4. Hastalık yapıcı özellik	5
2.1.5. Bulaşma şekli	6
2.1.6. İnfektif doz	6
2.1.7. Patogenez	7
2.1.8. İnkübasyon periyodu	7
2.1.9. Klinik özellik	7
2.1.10. Sınıflandırma	7
2.1.11. Semptom	8
2.1.12. Bulgu	9
2.1.13. Teşhis	10
2.1.14. Tedavi	11
2.1.15. Prognoz	11
2.2. ETANOLUN KONAK SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ	11

2.3.	ETANOL VE İNFEKSİYON	12
2.4.	ETANOL VE <i>BRUCELLA MELİTENSİS</i> İNFEKSİYONU	13
<b>3.</b>	<b>MATERYAL VE METOD</b>	<b>17</b>
3.1.	HAYVANLAR	17
3.2.	ÇALIŞMA MODELİ	17
3.2.1.	<i>EtOH tedavi grubu</i>	17
3.2.2.	<i>EtOH ve Kontrol grupları</i>	17
3.3.	İZOKALORİK DİYET	18
3.3.1.	<i>İlk evre Diyetin Hazırlanması</i>	18
3.3.2.	<i>İkinci Evre Diyetin Hazırlanması</i>	18
3.3.3.	<i>Üçüncü Evre Diyetin Hazırlanması</i>	19
3.4.	BAKTERİ VE KÜLTÜR ŞARTLARI	19
3.5.	<i>B.MELİTENSİS</i> İNOKÜLASYONU	20
3.6.	DOKULARDAN <i>B.MELİTENSİS</i> İZOLASYONU VE DİLÜSYON	20
3.8.	KAN İLAÇ SEVİYESİNİN BELİRLENMESİ	21
3.9.	TEDAVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	21
3.10.	İSTATİSTİKSEL ANALİZ	21
<b>4.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>23</b>
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>37</b>
<b>6.</b>	<b>SONUÇLAR</b>	<b>44</b>
<b>7.</b>	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>46</b>

## SİMGE DİZİNİ

**cal:** kalori

**CFU:** Colony Forming Unit

**DETAB:** Deneysel ve Tıbbi Araştırma Bölümü

**ELISA:** Enzyme Linked Immunosorbant assay

**EtOH:** Etanol

**gr:** gram

**kcal:** Kilo kalori

**Kg:** Kilogram

**lt:** litre (L)

**ml:** mililitre

**NK:** Natural Killer

**PCR:** Ploymerize zincir reaksiyonu

**SD:** Standart sapma

**STA:** Standart tüp aglütinasyon

**Th:** T helper

**TNF:** Tümör nekrozis faktör

**WHO:** World Health Organization

**2-ME:** 2-merkaptöetanol aglütininin testi



## ŞEKİLLER DİZİNİ

- ŞEKİL 1. ORTALAMA GÜNLÜK ETANOL TÜKETİMİYLE DALAK VE KARACİĞERDEN İZOLE EDİLEN *B.MELİTENSİS* SAYISI \_\_\_\_\_ 14
- ŞEKİL 2. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA BOYUNCA ÖLÇÜLEN VÜCUT AĞIRLIKLARININ ORTALAMASI \_\_\_\_\_ 26
- ŞEKİL 3. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA BOYUNCA KAZANDIĞI VÜCUT AĞIRLIĞI \_\_\_\_\_ 27
- ŞEKİL 4. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA BOYUNCA TÜKETTİĞİ ETANOL MİKTARI \_\_\_\_\_ 28
- ŞEKİL 5. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA SONUNDA TARTILAN DALAK AĞIRLIĞI \_\_\_\_\_ 29
- ŞEKİL 6. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA SONUNDA TARTILAN DALAK AĞIRLIĞININ VÜCUT AĞIRLIĞINA ORANI \_\_\_\_\_ 30
- ŞEKİL 7. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA SONUNDA TARTILAN KARACİĞER AĞIRLIĞI \_\_\_\_\_ 31
- ŞEKİL 8. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA SONUNDA TARTILAN KARACİĞER AĞIRLIĞININ VÜCUT AĞIRLIĞINA ORANI \_\_\_\_\_ 32
- ŞEKİL 9. BAKTERİ İZOLASYONUNDA KULLANILAN DALAK PARÇASI \_\_\_\_\_ 33

ŞEKİL 10. BAKTERİ İZOLASYONUNDA KULLANILAN KARACİĞER PARÇASI \_\_\_\_\_ 34

ŞEKİL 11. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA SONUNDA  
DALAKLARINDAN İZOLE EDİLEN *B.MELİTENSİS* SAYISI. \_\_\_\_\_ 35

ŞEKİL 12. KEMELERİN HER BİRİNİN GRUPLARA GÖRE ÇALIŞMA SONUNDA  
KARACİĞERLERİNDEN İZOLE EDİLEN *B.MELİTENSİS* SAYISI. \_\_\_\_\_ 36



## TABLolar DİZİNİ

TABLO 1. BAZI <i>BRUCELLA</i> TÜRLERİNİN İNFEKSİYON OLUŞTURABİLMESİ İÇİN GEREKLİ İNFEKTİF DOZ	6
TABLO 2. DALAKTAN İZOLE EDİLEN <i>B.MELİTENSİS</i> SAYISI	15
TABLO 3. KARACİĞERDEN İZOLE EDİLEN <i>B.MELİTENSİS</i> SAYISI	16
TABLO 4. ETOH TEDAVİ GRUBUNDAKİ KEMELERİN DALAK VE KARACİĞERLERİNDEN İZOLE EDİLEN <i>B.MELİTENSİS</i> SAYISI	24
TABLO 5. TEDAVİYE DİRENÇ GÖSTEREN KEMELERİN ÖZELLİKLERİ	25
TABLO 6. DOKSİSİKLIN VE RİFAMPİSİN'İN TEK BAŞINA VEYA BİRLİKTE DENEYSEL HAYVAN BRUSELLOZU ÜZERİNE ETKİSİNİ FARKLI DOZLARDA GÖSTEREN SHASHA VE ARK.'NİN 1992 VE 1994 YILLARINDA YAPTIĞI ÇALIŞMALAR.	42
TABLO 7. ŞİMDİKİ ÇALIŞMA VE KARŞILAŞTIRILAN DİĞER ÇALIŞMALARDA KULLANILAN BRUSELLOZ DENEYSEL HAYVAN MODELİ	43

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bruselloz, evcil ve vahşi hayvanların hastalığıdır. İnsanlara hayvanlardan bulaşmaktadır. Hayvanlar insanlar için bruselloz kaynağını oluşturmaktadır (Young, 1995). Kaynağın kurutulması zor olmaktadır. Bazı ülkeler çok iyi eradikasyon programları uygulayarak ve çok paralar harcayarak hayvan brusellozunu yok etmeyi başarmıştır (Corbel, 1997). Ama bu ülke vatandaşlarında bruselloz endemik bölgelere seyahat nedeniyle yine de görülebilmektedir (Madkour, 2001). Tüm dünyadan bruselloz eradike edilinceye kadar hastalanan kişilerin tedavi edilmesi gerekmektedir.

Bruselloz tedavisinde yeterli başarı hala sağlanamamıştır (Corbel ve MacMillan, 1998). Hastalığa ait özgün bir klinik bulgu olmadığından endemik bölgelerde ayrıncı tanıya yer verilmezse kolaylıkla gözden kaçmaktadır. Endemik bölgelerde hastalığın subklinik seyri problem yaratmaktadır. Hasta hastalığının farkına varmadan komplikasyonlar gelişmekte ve tedavi zorlaşmaktadır (Madkour, 2001).

Antibiyotik keşfedilmeden önce hastalığa bağlı mortalitenin %1'den az olduğu kayıtlarda bulunmaktadır (Madkour, 2001). Tedavide antibiyotik kullanılması hastalığa bağlı komplikasyonların gelişmesini engellemektedir (Solera ve ark., 2001). Komplikasyon geliştikten sonra tedaviye rağmen nüks çok sık görülmektedir (Ariza ve ark., 2001). Tedavi edilmeden hastalık kendi seyrine bırakıldığında iyileşme görülmemekte ve komplikasyon gelişme sıklığı çok yükselmektedir (Solera ve ark., 1996). Komplikasyonlara bağlı körlüğe kadar uzanan değişik şekiller sekeller görülebilmektedir (Madkour, 2001).

Hastalığın erken dönemde teşhis edilmesi tedavideki başarıyı arttırmaktadır. Tedavide monoterapi nüks sık görüldüğü için tercih edilmemektedir (Corbel ve MacMillan, 1998). İkili bazen üçlü antibiyotik kombinasyonu tedavide kullanılmaktadır (Akova ve ark., 1993). Tedavi süresi dünya sağlık örgütünün önerisine göre doksisisiklin-rifampisin kombinasyonu ile 8-12 hafta şeklide belirlenmiştir (Madkour, 2001). Daha kısa süreli tedavi nüks görülme sıklığını arttırmaktadır (Madkour, 2001). Bazı araştırmacılar tetrasiklin-streptomisin kombinasyonunu önermektedir (Madkour, 2001), (Corbel, 1997), (Young, 1995) (Landinez ve ark., 1992), (Corbel ve MacMillan, 1998) (Akova, 1993). Ancak her iki tedavi rejimi de

çocuklardaki yan etkileri nedeniyle önerilmez. Ko-trimaksazol-rifampisin önerilir (Madkour, 2001), (Ariza ve ark., 1993). Tedaviye erken başlansa dahi tedavinin uzun süreli olması yetişkinlerde de bir takım yan etkilerin görülmesine neden olur. Hasta kendi kararıyla tedaviyi bırakır, nüks görülür. Hekim tedavide sıkıntı yaşar.

Brusellozun şiddeti *Brucella* türü, konağın bağışıklık sistemi, altta yatan bir hastalığın olması ve ortam şartları gibi bir çok faktöre bağlıdır (Koneman ve ark., 1997). *B.melitensis* en patojen türdür ve neden olduğu infeksiyonda komplikasyon, nüks sık görülür (Young, 2002). Tüm dünyada en sık bruselloz yapan etken *B.melitensis*'tir (Corbel, 1997). Diyabet gibi altta yatan bir etken hastalığın daha ağır seyretmesine neden olur (Yumuk ve ark., 2003). Etanol konak bağışıklık sistemini olumsuz etkiler ve hastalığın şiddetini artırır (Yumuk ve ark., 2001).

Persistan infeksiyon, bağışıklık sistemine rağmen bakterinin makrofajlarda yaşaması ile gerçekleşir (Dornand ve ark., 2002). Bakteri konağa girdikten sonra doğal bağışıklık yanıtı profesyonel olmayan fagositler (makrofaj, nörofil) aracılığıyla başlar (Dornand ve ark., 2002). Hedef bakteriyi hemen yok etmektir. Bu nedenle makrofajlar diğer bağışıklık sistemine ait hücrelerini uyarır (Gorvel ve Moreno, 2002). Uyarıyı alan hücrelerden bazıları (NK gibi) hemen uyarıya cevap verir ve sekonder doğal bağışıklık cevap başlar. İkinci cevap aracılığıyla amaç bakterinin konağa yerleşmesine engel olmaktır (Dornand ve ark., 2002). Kazanılmış bağışıklık, doğal bağışıklık aracılığıyla meydana gelen uyarılara bağlıdır. Uyarının gücü *Brucella* türüne göre farklılık gösterir (Corbel ve MacMillan, 1998).

Etanol direkt ve dolaylı yollarla bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını bozar (Szabo, 1999). Hem modülatör hem de regülatör etkiye sahiptir (Thiele ve ark., 2002). Özellikle intrasellüler yerleşim gösteren bakterilerin yaptığı infeksiyonlar kronik alkoliklerde daha sık görülür (Jerrells ve Sibley, 1995). Bunun ana sebebi etanolün Th-1 hücreleri üzerine olan etkisidir (Friedman ve ark., 2003). Fonksiyonu bozulan Th-1 hücreleri orkestrasyon görevin yerine getiremez. Makrofajların içine giren bakteri yeterli uyaran almadığı için "Oksijen Patlama" (Oxidative Burst) mekanizmasını devreye sokamaz, bakteri yaşamını devam ettirir (Gorvel ve Moreno, 2002). Bu nedenle bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde hastalık daha ağır seyreder. Hastalığa duyarlılık artar.

Alkoliklerde bağışıklık sisteminde bozukluk olduğu için infeksiyon hastalıkları daha ağır seyreder (Sternbach, 1990). Bu hastalıkların alkoliklerdeki tedavisinde normal toplumda kullanılan tedavi rejimlerinin aynı etkiyi göstermediğine

dair yayınlar vardır. *Streptococcus pneumoniae*'ye bağlı pnömonilerin tedavisi bu nedenle alkoliklerde zordur ve hastalığa bağlı mortalite daha fazladır (Davis ve ark., 1991).

Yakın bir zamanda yapılan bir çalışmada uzun süre etanol içeren izokalorik diyetle beslenen kemelerde *B.melitensis* infeksiyonunun normal diyetle beslenen kemelere göre daha şiddetli seyrettiği gösterildi (Yumuk ve ark., 2001). Bu çalışmada ise birinci amaç yine aynı deney metoduyla etanolun bruselloz tedavisine etkisini araştırmaktır. Bruselloz tedavisinde yaşanan sorunlara ışık tutabilecek bilgiler elde etmek, *Brucella* infeksiyonu-etanol ve tedavi konularında çalışmak isteyen araştırmacılara yol açmak; çalışmanın diğer amaçlarıdır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Bruselloz

#### 2.1.1. Tanım

Hastalık 1887 yılında David Bruce tarafından Malta adasında keşfedildi. “Malta Humması” ve “Ondülan Ateş” gibi isimlerle anıldı. Bruselloz ismi keşfeden kişinin onuruna araştırmacı Alice Evans tarafından 1918 yılında önerildi (Corbel ve MacMillan, 1998). Uzun yıllar üç isim birlikte kullanıldı. Günümüzde daha çok bruselloz ismi tercih edilmektedir.

Bruselloz hayvanlardan insanlara bulaşır. İnsandan insana bulaştığı halde bu geçiş yolu nadir görüldüğü için önemsenmemiştir (Corbel, 1997).

İnsanda hastalık yapan 4 *Brucella* türü vardır. *Brucella melitensis* tüm dünyada insanda en sık hastalık yaptığı bilinen türdür. İnsana koyun, keçi ve deveden geçer. *B.abortus* sığırdan insana bulaşır. Sığırdan düşük yaptığı için büyük ekonomik kayıplara neden olur. *B.suis* domuzdan insana geçer. Domuzda düşük yapar, *B.abortus* gibi ekonomik kayıplara neden olduğu için önemlidir. *B.canis* köpekten insana geçer. İnsanda yaptığı hastalık çok hafif seyirlidir.

Bruselloz bir çok organ, doku ve sistemi etkisi altına alabilir. Hastalığa ait spesifik bir bulgu yoktur. Diğer ateşli hastalıklarla karışabilir.

#### 2.1.2. Epidemioloji

Bruselloz dünyanın büyük bir kısmında etkilidir. Akdeniz Bölgesi’nde, Orta Doğu’da, Arap Yarımadası’nda, Orta ve Güney Amerika’da, Asya’da ve Afrika’da sık görülür. Dünyada hastalığın görülmediği 17 ülke vardır (Madkour, 2001).

### 2.1.3. Etken organizma

*Brucella* küçük, kapsülsüz, hareketsiz, sporsuz, intrasellüler yerleşim gösteren Gram negatif bir bakteridir (Koneman ve ark., 1997). Kokobasil veya kısa comak morfolojisi gösterir. Üremesi kan veya serum içeren besiyerlerinde daha kolay olur. Aerobik metabolizmaya sahiptir. Tam anaerob koşullarda üreyemez. Bazı *Brucella* türleri karbondioksitli ortamda daha iyi ürer. Çok az oranda karbonhidrat fermantasyonu yapabilir. Bazı amino asitleri, üre siklusunda oluşan ara ürünlerini ve karbonhidratları okside eder. Katalaz ve oksidaz pozitifdir, nitratı indirgeyebilir ve üreyi hidrolize eder.. DNA'daki G+C oranı %58-59 mol'dür. *Brucella* genusu Proteobacteria  $\alpha 2$  alt üyesidir. İki adet kromozoma sahiptir. Moleküler genetik çalışmalar *Brucella* genusundaki türlerin *B.melitensis*'in biyovaryaları olduğunu, farklı yapıda olmadıklarını göstermiştir (Corbel, 1997). Bu sınıflama uygulamada sorun yaratacağı endişesiyle pratik kullanıma geçirilmemiştir.

Süt, krema ve peynir gibi gıdalarda uzun süre canlı kalır (Eckman, 1975). Pastörize edilmemiş keçi sütünden yapılan peynir *B.melitensis* infeksiyonunun en önemli kaynağıdır (Madkour, 2001). Peynirde 8-11 hafta canlı kalabilir. Laktik asit fermantasyonu peynirin olgunlaşmasına, bakterinin ise ölümüne neden olur . Peynir mayalandıktan 60-90 gün sonra olgunlaşır. Bu süre sonunda tüketilmesi daha güvenlidir (Sabbaghian, 1975). *Brucella* 37<sup>0</sup>C'deki sütte birkaç, 8<sup>0</sup>C'deki sütte 48 saat canlı kalabilir (Williams, 1970). Sütün dondurulması organizmaya zarar vermez. Buzdolabındaki ette organizma 3 hafta canlılığını korur (Chan ve ark., 1989). Hayvanlarda hastalık cinsel temas ile bulaşır. Hayvan idrar ve dışkıyla çevreye atılan bakteri toprakta 40 gün kadar yaşayabilir. Toprak nemli olduğunda süre uzayabilir (Madkour, 2001).

### 2.1.4. Hastalık yapıcı özellik

*Brucella* türleri arasında en fazla hastalık yapıcı etkiye sahip olan *B.melitensis*'tir (Koneman ve ark., 1997). Azalan oranda sırayla *B.suis*, *B.canis* ve *B.abortus* daha az patojendir. İnsanda hastalık yapan tüm *Brucella* türleri doku hasarı, nekroz ve apse yapabilir. *B.canis* diğer *Brucella* türlerine göre daha nadir hastalık yapar (Madkour, 2001).



### 2.1.5. Bulaşma şekli

*Brucella* insan vücuduna birçok yoldan girebilir. Bulaşmanın en sık görüldüğü yol hastalığın endemik doğasına, kontrol programı varlığına bağlı olarak değişir. Bazı ülkelerde bruselloz bir meslek hastalığı gibidir (Corbel ve MacMillan, 1998).

Endemik bölgelerde süt ve süt ürünleri sık görülen hastalık kaynaklarıdır. Gastrik sıvı bakterisidal etki gösterir (Madkour, 2001). Antiasit kullanan hastalar bruselloza daha kolay yakalanır. Çoban, hayvan bakıcısı, çiftçi, kasap, mezbaha çalışanı, veteriner gibi hayvanlarla yakın temasta bulunan kişilerde inhalasyon yoluyla bulaş sık görülür. Mezbahana çalışanlarına ve veterinerlere hastalık deriden de bulaşabilir. Aşı yapılırken sıçrayan damladan oftalmik yolla infeksiyona yakalanan vakalar vardır. Kan transfüzyonu ve kemik iliği transplantasyonu ile hastalık bulaşabilir. Endemik ülkelerde, kan donörlerine tarama testi mutlaka yapılmalıdır (Madkour, 2001), (Ertem ve ark., 2000).

Bruselloz anneden fetusa plasenta yoluyla bulaşabilir. Yeni doğan brusellozu görülebilir (Madkour, 2001). Hastalık cinsel temasla bulaşabilir (Wyatt, 1996; Goossens ve ark., 1983). Anne bebeğine hastalığı sütüyle bulaştırabilir. Anne sütüyle en sık bulaşan *B.melitensis*'tir (Madkour, 2001).

### 2.1.6. İnfektif doz

İnfektif doz *Brucella* türüne ve bulaş yoluna göre değişir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Bazı *Brucella* türlerinin infeksiyon oluşturabilmesi için gerekli infektif doz (Madkour, 2001).

Tür	Bakteri sayısı	
	Oral	İnhalasyon
<i>B.melitensis</i>	5000	1300
<i>B.abortus</i>	10 <sup>6</sup>	<100
<i>B.suis</i>	10 <sup>7</sup>	<100

### 2.1.7. Patogenez

Mukozadan geçen bakteri polimorfonüveli lökositler ve makrofajlar ile karşılaşır (Dornand ve ark., 2002). Makrofajlar T hücrelerinden salınan sitokinler aracılığıyla uyarılır. Uyarılan makrofajlar Tümör nekrozis faktör (TNF) salgılar. TNF tüm savunma sistemini harekete geçirir. Peroksit-Halide sistemi aktive olur. “Oksijen Patlama” (Oxidative Burst) olarak ta bilinen bu mekanizmayı inhibe edebilmek için *Brucella* adenin ve guanosine monofosfat üretir (Corbel, 1997). *Brucella* ve makrofaj arasındaki güç dengesi hastalığın ağırlığını belirler (Madkour, 2001). Bakteri intrasellüler ortamda yaşamayı başardığı takdirde çoğalır ve lenf dolaşımı aracılığıyla kana geçer (Rittig ve ark., 2001). Rektiküloendotelial hücrelerden zengin organlara gider ve yerleşir (Corbel ve MacMillan, 1998).

### 2.1.8. İnkübasyon periyodu

İnkübasyon periyodu *Brucella* türüne, bulaş yoluna ve infeksiyöz dozuna bağlı olarak değişebilir. Genellikle 1-3 hafta arasında olduğu tahmin edilir. Hastalığın endemik olduğu ülkelerde kişi etkine sürekli maruz kaldığı için inkübasyon periyodunu belirlemek zordur (Corbel ve MacMillan, 1998), (Koneman ve ark., 1997), (Madkour, 2001).

### 2.1.9. Klinik özellik

Hastalığın özgün bir klinik bulgusu yoktur (Georghiou ve Young, 1991; Young ve ark., 1979). Diğer ateşli infeksiyon hastalıklarına benzer klinik özellik gösterir. Hastalık ani başlangıç gösterebilir veya klinik aylar içerisinde gelişir (Schurig ve ark., 2002). Başlangıç bulgusu hastalığın lokalizasyonuna göre değişiklik gösterir. Örneğin aritmi ilk bulgu olabilir. Hastalığa bağlı endokardit emboli nedeniyle körlük yapabilir (Madkour, 2001).

### 2.1.10. Sınıflandırma

Sınıflandırmasında bir fikir birliği yoktur (Madkour, 2001). Hastalığın şiddeti antibiyotik seçimi, tedavi süresi veya cerrahi girişim ihtiyacı gibi konularda belirleyici değildir. Kan veya diğer vücut sıvı kültürlerinin pozitif sonuçlanması

tedavide yönlendirici olmaz. Hastalığın aktif olduğunu gösteren bir ipucu ve gelişen komplikasyon sınıflandırmada önemlidir (Madkour, 2001).

Aktif hastalık, komplikasyon yok

Aktif hastalık, komplikasyon var

Şeklinde bir sınıflama tedavide yönlendiricidir (Madkour, 2001). Hikaye, klinik bulgu ve yüksek seviyede *Brucella* antikor titresi aktif bruselloz hakkında önemli ipuçları verir (Corbel, 1997), (Young, 1995). Hastalık aktif değilse antibiyotik kullanılmasına gerek yoktur (Madkour, 2001). Komplikasyon gelişmesi önemlidir. Hastalığın şiddetli seyrettiğini gösterir ve nüks daha sık görülür. Uygun tedavi için komplikasyon araştırılmalıdır. Buna bağlı olarak tedavide kullanılacak antibiyotik sayısı, tedavinin süresi ve cerrahi girişim ihtiyacı planlanır (Madkour, 2001).

### 2.1.11. *Semptom*

Genellikle üşüme, titreme, ateş, halsizlik, iştahsızlık, eklem, sırt ve baş ağrısı şikayetleriyle kliniğe gidilir. Ateş en sık görülen bulgudur. Diurnal değişim gösterir (Queipo-Ortuno ve ark., 1997; Yagupsky ve ark., 1997). Öğleden sonra yüksek, sabah normal ölçülür. İstirahatla ateş düşer, hareketle artar. Bazı durumlarda ateş düzenli ölçüm sonucu ortaya çıkar, hasta ateşini hissetmez. Yaşlı hastalarda hipotermi görülebilir (Madkour, 2001).

Üşüme ve titreme hastalığın başlangıç evresinde ateşle birlikte görülür. Benzer belirtiler sıtmada da görülebilir. Sıtmanın endemik olduğu bölgelerde ayrıcı tanıda periferik yayamadan yararlanılabilir (Madkour, 2001).

Gece terlemesi görülebilir. Hastanın pijaması ve yatağı sabah kalktığında nemli bulunur. Hastalığın ağır seyri terlemenin daha yoğun olmasına neden olur (Madkour, 2001).

Tüm eklem ve kaslarda ağrı ile birlikte halsizlik görülebilir. Ağır vakalarda hasta sürekli yatmak ister. İşe gitmek istemez. Gün boyunca halsiz ve kötü hisseder. Artirit ve sırt ağrısı sık görülür. Artirit gezici özelliindedir. Genellikle büyük eklemleri tutar. Gençlerde sakroiliyak eklemdede, kalçada ve dizde ağrı görülür. Septik artirit büyük eklemlerde daha sık görülür, eklem şiştir (Porat ve Shapiro, 1984).

İştahsızlık hastalığın ilk bulgularından bir tanesidir (Kusumawati *ve ark.*, 2000; Porat ve Shapiro, 1984). Uzun süren iştahsızlık kilo kaybına neden olur. Erken evrede bulantı ve kusma rahatsızlık verici boyutta olabilir. Konstipasyon ardından kısa süreli diyare görülebilir (Madkour, 2001).

Brusellozda hafif kuru bir öksürük görülebilir. Balgam nadiren çıkarılır. Pnömonik konsolidasyon ve plevral ağrı nadir görülür (Rowen ve Englund, 1995).

Hastaların yaklaşık yarısında mental değişiklik görülebilir. Bu değişikliğe bağlı olarak en sık depresyon ve uyumsuzluk gelişebilir (Madkour, 2001).

### **2.1.12. Bulgu**

Semptom yoğunluğuyla fizik muayene bulguları arasında bir korelasyon yoktur. Hastanın bir sürü şikayeti olmasına rağmen hekim fizik muayenede hiçbir bulguya rastlamayabilir. Hekim bu tarz bir durumla karşılaştığında mutlaka brusellozu düşünmelidir (Madkour, 2001). Ateş brusellozda görülen en sabit bulgudur gösterir (Queipo-Ortuno *ve ark.*, 1997; Yagupsky *ve ark.*, 1997). Sabah muayene edilen hastada ateş normal ölçülür. Bu durum hekimi yanıltmamalıdır. Tedaviyle birlikte ateş normale döner.

Lenfadenopati çocuk hastalarda daha sık görülür. Hastalığın ilk üç ayında daha yoğundur. Hastalığın aktif olduğunu gösteren bir bulgudur. Lenadenopatiyle birlikte splenomegali görülebilir. Hastaların 3'te 2'sinde splenomegali ve hepatomegali ilk haftalarda teşhis edilebilir (Corbel ve MacMillan, 1998). Brusellozun şiddetli seyrettiğini gösteren bulgulardır (Madkour, 2001). Hepatomegali bakteriyemik fazda daha fazla belirginleşir. Sarılık nadir görülür.

Brusellozda eritamatöz ve makülopapüller raş, trombositopenik purpura, ülser, püstül, eritema nodozum gibi deri bulguları görülebilir. Tedavi başladıktan sonra tüm deri bulguları kaybolur (Milionis *ve ark.*, 2000).

Endokrin organ tutulumu ve buna bağlı fonksiyon bozukluğu görülebilir. Santral sinir sistemi tutulumu olduğunda tedaviye hemen başlanmazsa hastada nörolojik sekel kalabilir. Tüberkülozdan farklı olarak brusellozda uygun tedavi ile nörolojik sekeller iyileşebilir (Madkour, 2001).

### 2.1.13. Teşhis

Endemik bölgelerde hastalık 3-5 gün içinde kolaylıkla teşhis edilebilir (Madkour, 2001). Ancak hastalığın kontrol altına alındığı ülkelerde ayırıcı tanıda pek bruselloz düşünülmediği için teşhis uzun zaman alabilir. Meslek, endemik bölgelere seyahat gibi ipuçları hastalığın teşhisinde önemli rol oynar.

Bruselloz teşhisinde *Brucella* antikor seviyesinin belirlenmesi önemlidir. Endemik bölgelerde 1:320-1:640 dilüsyonda pozitiflik hastalığı düşündürür (Madkour, 2001). Diğer bölgelerde 1:160 dilüsyonda pozitiflik önemli kabul edilir (Madkour, 2001). Bazen hastalık belirti vermeden subklinik seyredir. Kan donörlerin de subklinik seyir hastalığın kan yoluyla bulaştırılması açısından önemlidir (Madkour, 2001). Bu nedenle endemik bölgelerde kan donörlerine mutlaka *Brucella* tarama testi yapılmalıdır.

Standart tüp aglütinasyon (STA) testi, rose bengal kart testi, ELISA ve PCR brusellozun teşhisinde kullanılan laboratuvar testleridir. PCR teşhiste yüksek duyarlılık ve özgünlüğe sahiptir.

Aglütinasyon testlerinde bazen prozon görülebilir . Antikor miktarının aşırı derecede fazla olması veya bazı (aglütine olmayan) IgG ve IgA izotiplerinin aglütininleri bloke etmesi nedeniyle meydana gelir. Bu durum teşhiste birden fazla serolojik testin kullanılması gerektiğini gösterir. Rose bengal kart testi prozon problemini çözer (Corbel ve MacMillan, 1998). Nörobruselloz vakalarında serebrospinal sıvıda antikor belirlenmesinde işleminde de rose bengal tercih edilebilir (Corbel ve MacMillan, 1998). Kompleman fiksasyon ve 2-merkaptetanol testleri aktif hastalığı göstermede yararlıdır. 2-merkaptetanol testi aynı zamanda tedaviye yanıtın araştırılmasında kullanılır. Coombs antiglobülin testi ve kompleman fiksasyon testi aglütinasyon testlerinden farklı olarak hastalığın kronik fazında da pozitif sonuç verebilir (Corbel ve MacMillan, 1998).

Yüksek seviyede IgG aktif hastalığı gösterir. Seviyenin düşmesi ise hastalığın geçirilmiş olduğunu göstermesi açısından önemlidir (Madkour, 2001).

Kan ve diğer vücut sıvılarından yapılan kültür uzun süre inkübe edilmelidir. BACTEC (Becton Dickinson, Sparks, Md) gibi kan kültür sistemleri inkübasyonun ortalama 5nci gününde pozitif sonuç verebilir. Ancak sonuç negatif çıkarılmadan önce kültür bir hafta inkübe edilmelidir (Andriopoulos ve ark., 2003; Memish ve ark., 2002; Millionis ve ark., 2000; Oscherwitz, 1995).

#### 2.1.14. Tedavi

İnsan bruselloz tedavisinde henüz istenen başarı sağlanamamıştır (Madkour, 2001) (Corbel, 1997) (Young, 1995) (Young, 2002) (Corbel ve MacMillan, 1998). Antibiyotiklerin yan etkisi ve nüks tedavide karşılaşılan sorunların başında gelir (Young, 1995). Monoterapide nüks daha fazla görülür (Madkour, 2001). Tedavide en az ikili antibiyotik kullanılır. Tetrasiklin-streptomisin, doksisisiklin-rifampisin ilaç kombinasyonları tedavide tercih edilen antibiyotiklerdir (Madkour, 2001) (Corbel, 1997) (Young, 1995) (Young, 2002) (Corbel ve MacMillan, 1998). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) bruselloz tedavisinde önerisi doksisisiklin-rifampisin kombinasyonunun 8-12 hafta süreyle verilmesidir. Alternatif olarak 3-4 hafta tetrasiklin-streptomisin ile birlikte 4-8 hafta doksisisiklin-rifampisin tercih edilebilir. Tedavi süresi kısaltıldığında komplikasyon gelişme sıklığı artar, nüks görülür (Madkour, 2001). Çocuk hastalarda ko-trimaksazol-rifampisin veya netilmisin/gentamisin-ko-trimaksazol ilaç kombinasyonu tedavide tercih edilmelidir (Young, 2002). Gebelerde rifampisin tedavide tercih edilebilir (Madkour, 2001). Komplikasyonlarda cerrahi girişim gerekebilir (Corbel, 1997).

#### 2.1.15. Prognoz

Antibiyotik keşfedilmeden önce bruselloza bağlı mortalite %1 civarındaydı ve ölümlerin büyük bir kısmı endokardite bağlı meydana gelirdi. Antibiyotiklerin tedavide kullanılması, erken teşhis araçlarındaki gelişme endokardite bağlı ölümleri dramatik şekilde azalttı. Morbidite ise *Brucella* türüne bağlıdır. En patojen *B.melitensis*'tir. Vertebra osteomyelitine bağlı parapleji ile seyreden kalıcı spinal hasarlarına neden olabilir (Madkour, 2001).

#### 2.2. Etanolün konak savunma sistemi üzerine etkisi

Bağışıklık sistemi konağı mikroplara karşı korur. Nötrofil, makrofaj, NK hücreleri ve kompleman doğal bağışıklık sisteminin üyeleridir. Sürekli, belli oranlarda vücutta bulunurlar. Kazanılmış bağışıklık sistemi antijen vücuda girdikten sonra harekete geçer. Hümmoral ve hücreyel olmak üzere iki parçaya sahiptir. Tüm bağışıklık sistemi büyük bir uyum içerisinde çalışır. Etanol bağışıklık sistemine direkt veya dolaylı olarak etkide bulunur (Casey ve ark., 1989; Bagasra ve ark., 1987).

Kronik alkoliklerde bazı hastalıklar normal popülasyona göre daha sık görülür ve/veya daha ağır seyrederek (Sternbach, 1990). Kanser ve infeksiyon sık görülen hastalıklardır (Szabo, 1999). Alkoliklerde görülen malnütrisyon, vitamin eksikliği ve karaciğer sirozu bağışıklık sistemini olumsuz yönde etkiler (Thiele ve ark., 2002).

Etanol direkt olarak doğal bağışıklık ve kazanılmış bağışıklık sistemine etkilidir. Hücresel bağışıklık sisteminde düzenleyici etkiye sahip T-helper hücrelerinin fonksiyonunu bozar. Hümorale bağışıklık sisteminde bulunan B lenfositlerinin çalışmasını etkiler, poliklonal antikor yapımını artırır veya spesifik antikor yapımını ise azaltır (Jareo ve ark., 1995; Jareo ve ark., 1996). Etanolün bağışıklık sistemine olan etkisi henüz tam olarak gün ışığına çıkarılmamıştır. Eldeki veriler kronik alkoliklerin bağışıklık yetmezliği olan hastalar grubunda değerlendirilmesini öngörmektedir (Szabo, 1999).

### 2.3. Etanol ve infeksiyon

İnfeksiyonlar kronik alkoliklerde normal topluma göre daha sık görülür. Alkoliklerde infeksiyonlar daha ağır seyrederek (Sternbach, 1990). *Streptococcus pneumoniae*'ya bağlı pnömoni alkoliklerde ölümcül seyrederek (Davis ve ark., 1991; Sternbach, 1990). Antibiyotik kullanılmasına rağmen hastalık iyileşmez. Kemelerle yapılan deneysel çalışmalar *S.pneumoniae*'ye bağlı infeksiyonun etanol ile beslenen kemelerde kontrollere göre daha ağır seyrettiğini gösterir (Davis ve ark., 1991). *Listeria monocytogenes* (Jerrells ve ark., 1990; Saad ve ark., 1993), *Klebsiella pneumoniae* (Yamamoto ve ark., 1993), *Mycobacterium tuberculosis* (Bermudez ve Young, ) ile yapılan deneysel çalışmalar etanolün bu ajanlara bağlı gelişen infeksiyonların daha ağır seyretmesine neden olduğunu gösterir.

Yapılan çalışmalar, intrasellüler yerleşim gösteren bakteri infeksiyonlarının alkoliklerde diğer bakteri infeksiyonlarına göre daha sık görüldüğünü gösterir (Jerrells ve ark., 1994; Sibley ve Jerrells, 2000; Jerrells ve Sibley, 1995; Sibley ve ark., 2001; Lister ve ark., 1993). Bu durumun etanolün bağışıklık sistemine direkt etkisine bağlı olduğu düşünülür. Etanol maruziyetinin Th-1 fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu bilinir (Lister ve ark., 1993; Friedman ve ark., 2003). Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar Th'dan salınan sitokinlerin de etanolden etkilendiğini göstermektedir (Lister ve ark., 1993; Friedman ve ark., 2003).

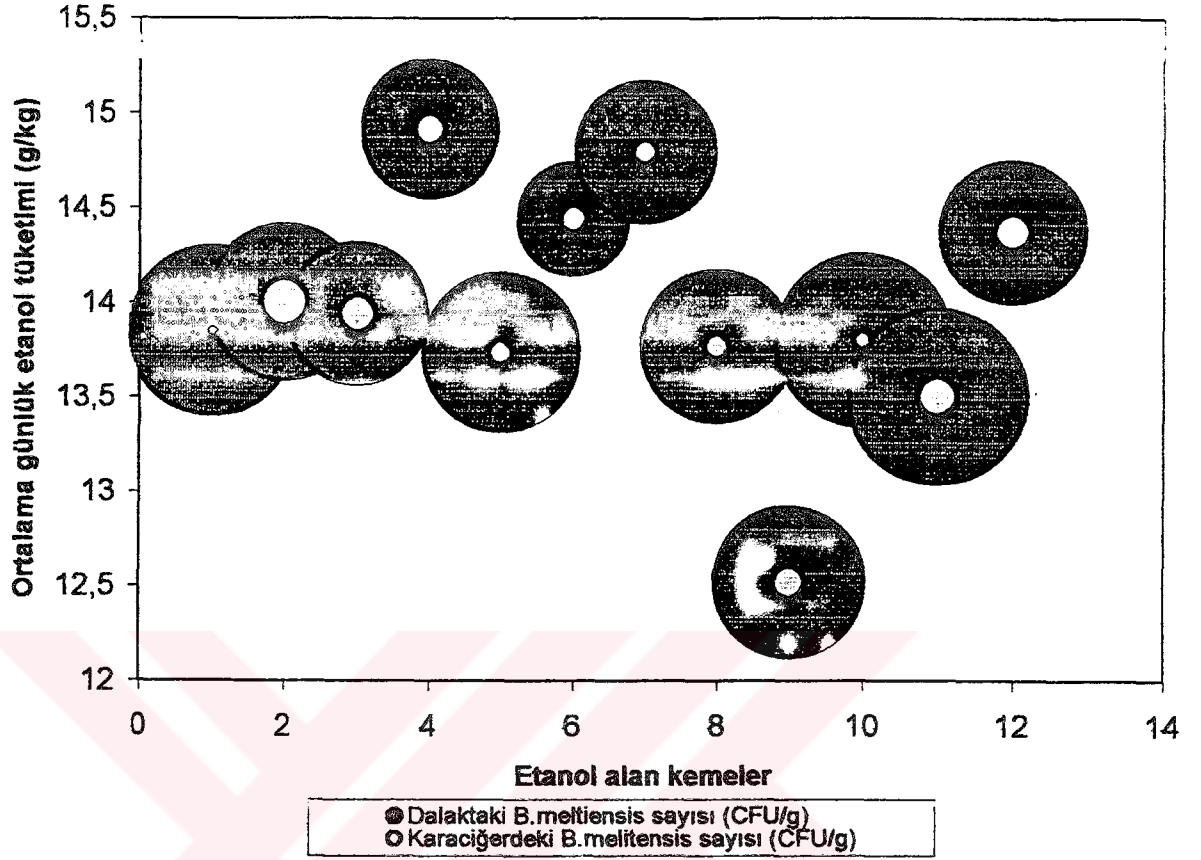
Etanolun uzun süreli kullanılması bağışıklık sisteminde kalıcı hasra neden olurken kısa süreli kullanılmasının bağışıklık sistemini uyarıcı etki yarattığı düşünülür (Szabo, 1999). Bu durum etanolun sistem üzerinde hem modülatör hem de regülatör etkisi olduğunu gösterir (Thiele ve ark., 2002). Bağışıklık sistemi üzerindeki bu iki taraflı geniş etki tüm sistem elemanlarını içine alır.

#### 2.4. Etanol ve *Brucella melitensis* enfeksiyonu

Anabilim Dalımızda 2001 yılında Etanolun *B.melitensis* enfeksiyonuna olan etkisini gösteren bir çalışma yapıldı (Yumuk ve ark., 2001). Her bir grupta 12 keme olacak şekilde EtOH ve kontrol adında iki grup oluşturuldu. İki gruptaki tüm kemelerin her biri bir kafese konuldu. EtOH grubundaki kemelere etanol içeren izokalorik diyet, kontrol grubundaki kemelere ise etanol içermeyen izokalorik diyet 14 gün süreyle verildi. Tüm kemelere 15nci gün intraperitoneal yolla *B.melitensis* inoküle edildi. Diyete devam edildi. İnokülasyonundan 16 gün sonra tüm kemeler dalak ve karaciğerlerindeki *B.melitensis* sayısının belirlenmesi için opere edildi. (Tablo 2, 3). EtOH grubundaki kemelerin dalak ve karaciğerlerinden izole edilen *B.melitensis* sayısı kontrol kemelerin dalak ve karaciğerlerinden izole edilenden anlamlı derecede ( $p<0,05$ ) fazla bulundu. Etanol tüketimiyle organlardan izole edilen bakteri sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (Şekil 1). İki gruptaki kemelerin dalak ve karaciğerlerinin vücutlarına oranları karşılaştırıldı, anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0,05$ ).

Elde edilen veriler etanolun *B.melitensis* enfeksiyonunu olumsuz etkilediği yönünde yorumlandı. Neden olarak etanolun bağışıklık sistemine olan olumsuz etkisine gösterildi.





Şekil 1. Ortalama günlük etanol tüketimiyle dalak ve karaciğerden izole edilen *B. melitensis* sayısı

Tablo 2. Dalaktan izole edilen *B. melitensis* sayısı

Çiftler	EtOH						Kontrol					
	Dalak ağırlığı (g)			CFU/dalak ağırlığı*			Dalak ağırlığı (g)			CFU/Dalak ağırlığı*		
	Tüm	Parça**	Ortalama	SD	Ortanca		Tüm	Parça**	(g)	Ortalama	SD	Ortanca
1	0,9275	0,2149	7015,3	3,5	7015,0		0,7632	0,1598	663,7	14,0	663,0	
2	0,8966	0,2133	6066,3	1,2	6067,0		0,739	0,3064	506,7	12,4	500,0	
3	0,964	0,1782	5024,3	3,1	5025,0		0,6627	0,211	821,3	16,2	813,0	
4	0,753	0,1665	4746,7	4,0	4749,0		0,7639	0,2166	697,3	18,6	695,0	
5	0,7989	0,2289	6183,3	4,9	6181,0		0,5637	0,219	555,7	1,5	556,0	
6	0,8178	0,2254	3135,7	3,2	3137,0		0,5657	0,2151	614,7	4,0	614,0	
7	1,3248	0,1795	4977,3	2,5	4977,0		0,5845	0,1616	325,7	4,5	326,0	
8	0,5845	0,2232	5744,3	9,2	5739,0		0,4382	0,1626	460,3	2,1	461,0	
9	0,395	0,2054	5582,7	11,2	5587,0		0,4324	0,1304	563,0	1,0	563,0	
10	0,6405	0,1569	7329,3	10,5	7329,0		0,4237	0,133	901,7	13,2	899,0	
11	0,5042	0,1708	7611,3	10,1	7610,0		0,4989	0,1115	895,7	1,2	895,0	
12	0,3906	0,2431	4977,3	15,5	4982,0		0,872	0,3255	306,7	3,8	305,0	
Grup ortalaması +SEM			5699,5+363,14						609,4+57,3			

\*EtOH grubuna ait değerler kontrol grubuna ait değerlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur  $p < 0,01$

\*\*Canlı bakteri sayısının ortaya çıkarılması için 1 mL Steril serum fizyolojik içerisinde homojenize edilen doku parçası

Tablo 3. Karaciğerden izole edilen *B.melitensis* sayısı

Çiftler	EtOH				Kontrol			
	Dalak ağırlığı (g)		CFU/dalak ağırlığı*		Tüm		Dalak ağırlığı (g)	
	Tüm	Parça**	Tüm	Parça**	Tüm	Parça**	Tüm	Tüm
1	9,1781	0,1503	49,3	48,0	7,7218	0,1427	65,0	5,3
2	7,2422	0,4465	559,7	563,0	8,6215	1,849	110,0	5,0
3	7,05	1,0057	353,3	354,0	6,6475	0,1532	41,3	3,5
4	9,5156	0,1248	239,7	241,0	9,3261	0,2726	17,3	3,1
5	7,8781	0,3681	157,7	156,0	8,6777	0,2407	0,0	0,0
6	9,3959	0,4568	186,7	187,0	9,1984	1,129	92,7	7,2
7	9,5716	0,1898	155,7	154,0	9,3787	0,2683	49,7	9,3
8	10,18	0,4789	162,0	162,0	9,9505	0,2149	57,3	2,1
9	7,251	0,2458	265,7	265,0	9,922	0,1732	140,3	1,5
10	9,9487	0,34	88,3	90,0	6,7612	0,2529	118,3	10,4
11	7,9555	0,2707	369,3	374,0	7,2629	0,176	0,0	0,0
12	6,7754	0,1754	342,0	342,0	7,805	0,1227	0,0	0,0
Grup ortalaması +SEM			244,1+41,3				57,7+14,2	

\*EtOH grubuna ait değerler kontrol grubuna ait değerlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur  $p < 0,01$

\*\*Canlı bakteri sayısının ortaya çıkarılması için 1 mL Steril serum fizyolojik içerisinde homojenize edilen doku parçası

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Hayvanlar

Çalışmada kullanılan ve 160-230 g ağırlığında olan 20 adet Wistar Albino keme Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel ve Tıbbi Araştırma Bölümünden (DETAB) temin edildi. Kemelerin her biri bir kafese yerleştirildi. Çalışmanın sonuna kadar kemelerin bulunduğu kafesler değiştirilmedi. Kafesler gün aşırı temizlendi. Kafes temizlenirken keme temiz başka bir kafese alındı. Temizlik işlemi bittikten sonra keme tekrar kafesine etiketi kontrol edildikten sonra yerleştirildi. Çalışma boyunca kullanılan suluklar ve şişeleri her gün deterjanlı suyla yıkandı ve çeşme suyunda durulandı. Üç günde bir suluklar 1/10 oranında sulandırılmış çamaşır suyunda 10 dakika bekletildikten sonra yıkandı.

#### 3.2. Çalışma modeli

##### 3.2.1. EtOH tedavi grubu

Toplam 20 adet Wistar Albino keme tedavi grubunda kullanıldı. Kemeler 14 gün süreyle etanol içeren izokalorik diyetle beslendi (diyet aşağıda anlatıldı). On beşinci gün tüm gruptaki kemelere intraperitoneal yoldan *B.melitensis* inoküle edildi. İnokülasyon yapıldıktan sonra %7,5 etanol içeren izokalorik diyetle 14 gün daha devam edildi. Yirmi ikinci gün bruselloz tedavisinde başlandı. Kemeye her gün intragastrik yoldan 7 gün süreyle doksisisiklin-rifampisin verildi. Çalışmanın yirmi dokuzuncu günü tüm kemeler eter anestezisi altında kurban edildi. Kemelerin dalak ve karaciğerlerindeki bakteri sayısı belirlendi ve kaydedildi.

##### 3.2.2. EtOH ve Kontrol grupları

EtOH ve Kontrol gruplarına ait veriler, 2001 yılında anabilim dalımızda yapılan bir çalışmadan alındı. Çalışmayla ilgili ayrıntı genel bilgiler kısmında anlatıldı. Yayınlanmış makaleye "Alcohol & Alcoholism" dergisi 2001 yılı Vol: 36 No.4, Sayfa

314-317 bilgileriyle ulaşılabilir. Bu alışma önceki çalışmayla aynı koşullarda yapıldı. Her iki çalışmada kullanılan metod bir birinin aynısıdır. Bu çalışmada önceki çalışmadan farklı olarak tedavi uygulandı.

### 3.3. İzokalorik diyet

İlk gün kemelere katı yem ve su verildi. Başlangıçta İzokalorik diyetle kemelere %2,5 oranında etanol verildi. Etanol miktarı daha sonra %5 ve en son %7,5 oranına çıkarıldı. Etanol miktarının zaman içerisinde arttırılmasının amacı kemelerin diyete alışmalarını sağıamaktı. On dördüncü günden çalışmanın sonuna kadar %7,5 etanol içeren diyet verilmeye devam edildi.

İzokalorik sıvı diyet her kemeye günde 100kcal 100ml sıvı içerisinde verilecek şekilde hesaplandı. Diyetteki etanol oranı değiştiğinde kalori açığı şeker kullanılarak kapatıldı. Örneğin %2,5 oranında etanol içeren diyetteki şeker oranı %7,5 oranında etanol içeren diyetteki şeker oranından daha fazladır. Tüm izokalorik sıvı diyet süt kullanılarak hazırlandı.

Çalışmada sıvı halde saf etanol kullanıldı. Etanolun kalori hesabının yapılabilmesi için mililitre etanolun gram etanola dönüştürülmesi gerekti. “Ağırlık (w) = hacim x özgül ağırlık” formülü kullanarak hesap yapıldı.

Etanolun zgl ağırlığı = 0,81g/ml

1gram etanol = 7kcal

1 l süt = 550kcal

1gram şeker = 4kcal

#### ***3.3.1. İlk evre Diyetin Hazırlanması (2 ve 5nci günler arası % 2.5 saf etanol (% 96) içeren sıvı diyet verildi)***

Bu diyette 1000 ml sıvı diyet 975 ml süt ve 25 ml etanol içermektedir.

25 ml etanol = 20,25 gr = 141,75 kcal

975 ml süt = 536,25 kcal

975 ml süt + 25 ml saf etanol = 678 kcal içermektedir

80,5 gr şeker = 322 kcal

975 ml süt + 25 ml saf etanol + 80,5 gr şeker = 1000kcal

Elde edilen karışımın 100ml’si 100kcal içermektedir

**3.3.2. İkinci Evre Diyetin Hazırlanması (6 ve 10uncu günler arası % 5 saf etanol içeren sıvı diyet verildi)**

950 ml süt + 50 ml saf etanol + 55,3 gr şeker = 1000kcal

**3.3.3. Üçüncü Evre Diyetin Hazırlanması (11 ve 28ci günler arası % 7.5 saf etanol içere sıvı diyet verildi)**

925 ml süt + 75 ml saf etanol + 16,5 gr şeker = 1000kcal

**3.4. Bakteri ve kültür şartları**

*Brucella melitensis* 16M suşu Pendik Veterinerlik Enstitüsü'nden temin edildi. Bakteriler *Brucella* agar (Difco, Detroit, MN, USA) besiyerine ekildi ve logaritmik faza gelinceye kadar 37<sup>0</sup>C'de bekletildi (*Brucella* türleri inkübasyondan 48 saat sonra logaritmik faza, 4 gün sonra ise stasyonier faza girmektedir). Logaritmik fazdaki bakteriler saklama besiyerinde kullanılıncaya kadar 4<sup>0</sup>C'de saklandı.

Deney sonunda hayvanların dalak ve karaciğerlerinden izole edilen bakterilerin idantifikasyonu *B.melitensis*'in koloni morfolojisi, üreme tipi ve Gram boyasındaki görüntüsüne dayanarak yapıldı.

**3.5. *B.melitensis* inokülasyonu**

Logaritmik fazdaki *B.melitensis* 16M suşlarından mililitresinde 2x10<sup>4</sup> – 4x10<sup>4</sup> hücre içeren sıvı elde edebilmek için; bakteriden McFarland 0,5 (1,5x10<sup>8</sup> hücre)'e göre süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan süspansiyonun içerisindeki 1,5x10<sup>8</sup> hücre 1'e 100 daha sonra 1'e 7 oranında dilüe edilerek mililitresinde 2x10<sup>4</sup> – 4x10<sup>4</sup> cfu bakteri içeren yeni bir süspansiyon elde edildi. Tüm kemelere intraperitoneal yoldan 0,5 ml içinde 2x10<sup>5</sup> – 4x10<sup>5</sup> *B.melitensis* inoküle edildi. *B.melitensis* inokülasyonundan 7 gün sonra doksisisiklin-rifampisin ilaç tedavisine başlandı.

### 3.6. Dokulardan *B. melitensis* izolasyonu ve dilüsyon

Tüm kemeler kurban edilmeden önce tartıldı. Eter anestezisi altında dalak ve karaciğerleri aseptik yöntemlere uygun şekilde çıkarılarak tartıldı. Her bir organdan 0,2-0,4 gr ağırlıkları arasında homojenizasyona uygun küçük bir parça kesildi. Kesilen parçanın ağırlığı tartıldı ve organ ağırlığı ile birlikte kaydedildi. Parça 1 ml steril serum fizyolojik içeren steril tüp içerisinde konuldu. Homojenizatör (Omni TH Tissue Homogenizer, Omni International Inc. USA) ile her bir tüpün içerisindeki doku 1 dakika süreyle homojenize edildi. Her birinde 4.5 ml steril serum fizyolojik bulunan 6 dilüsyon tüpü hazırlandı. İlk dilüsyon tüpe 0,5 ml parçalanmış orijinal süspansiyon numuneden konuldu ve vortekslendi. İlk dilüsyon tüpünden 0,5 ml süspansiyon ikinci tüpe aktarıldı. Bu işlem 6 tüp için tekrarlandıktan sonra son tüpten alınan 0,5 ml atıldı.

Her tüpten alınan 0,1 ml süspansiyon üç adet *Brucella* agar besiyerlerine ekildi. Inokulumlar besiyerine yavrulu cam tüp aracılığıyla yayıldı. Petriler 37°C'de 72-96 saat inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda koloni sayımı yapıldı ve not edildi. Dört gün sonunda petrilere üreme gözlenmediğinde ek üç gün daha petriler inkübe edildi.

Dokunun her gramındaki cfu aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

cfu sayısı x ters dilüsyon ( $10^{-3}$  veya  $10^{-4}$ , vs) x 10 (her petriye 0,1 ml ekildiği için) / doku ağırlığı

Örnek: 0,002 g ağırlığındaki bir dokuda 68 cfu  $10^{-3}$  dilüsyonda sayılmış ise:  $(68 \times 10^3 \times 10) / 0.02 = (6.8 \times 10^5) / 0.02 = 3.4 \times 10^7$  cfu/g

### 3.7. Doksisisiklin-rifampisin ilaç kombinasyonu tedavisinin uygulanması

Doksisisiklin (Tetradox 100mg Kapsül, Fako İlaç A.Ş)– rifampisin (Rifcap 300mg Kapsül, Koçak İlaç A.Ş) ilaç kombinasyonu birlikte her gün tek defada intragastrik yoldan, doksisisiklin günde 10mg/kg, rifampisin günde 6mg/kg doz şeklinde uygulandı. Dozlar uygulamadan hemen önce hazırlandı. Tedavi uygulanan kemelere iki saat diyet verilmedi. Doksisisiklin 100mg kapsül 20ml ve rifampisin 300mg kapsül 200ml serum fizyolojik içerisinde süspansiyon edildi. Süspansiyonlar oda ısısında 20 dakika çözünmesi için bekletildi. Tedavi grubunda bulunan her bir keme için hazırlanan doksisisiklin süspansiyonundan 2ml (=10mg doksisisiklin, mililitrede 10mg ilaç), rifampisin süspansiyonundan 4ml (=6mg rifampisin, mililitrede 3mg ilaç) şeklinde

gerekli miktar ayarlandı. 2ml doksisisiklin+ 4ml rifampisin solüsyonunda kg başına kullanılacak toplam 6ml sıvıda sağlandı. Ortalama doz bir keme 250gr varsayılarak hesaplandığında keme başına 4'te bir doz yani  $6/4\text{ml}=1,5\text{ml}$  süspansiyon karışımı intragastrik yolla verildi.

### 3.8. Kan ilaç seviyesinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan kemelerin 6 tanesinden son doz verildikten 24 saat sonra kan alındı. Kanlardan serum ayrıldı. Serumlar disklere emdirildi. Doksisisiklin ve rifampisin konsantrasyonları *Bacillus subtilis* ATCC 6633 kullanılarak test edildi. Bakteri kanlı agara McFarland 0,5'a göre hazırlanmış sıvı besiyerinden ekildi. Üzerine serum emdirilmiş diskler yerleştirildi.

### 3.9. Tedavinin değerlendirilmesi

Bu çalışmada kullanılan bruselloz hayvan modeli temelde 1950'li yıllarda geliştirildi. Birçok araştırmacı tarafından bruselloz tedavisinde antibiyotiklerin etkinliği araştırmalarında başarıyla kullanıldı. İnsan brusellozunu taklit eden bu modelde tedavi yararı şu şekilde belirlendi:

- Kür; dalak steril
- İyileşme; dalaktan izole edilen bakteri sayısında azalma

Bakteri sayısında hastalığın şiddeti konusunda bilgi verir. Dalağından 100 bakteri izole edilen bir keme ile dalağında 1000 bakteri izole edilen bir keme kıyaslandığında dalağından 1000 bakteri izole edilen kemede hastalık diğer kemeye göre daha ağır seyretmektedir.

### 3.10. İstatistiksel analiz

Kemelerin vücut, dalak ve karaciğer ağırlığı, organ/vücut ağırlıklarının birbirine oranı, organlardan izole edilen bakteri sayısı ve ortalamaları hesaplandı. EtOH, EtOH tedavi gruplarındaki kemelerin vücut ağırlıkları, dalak/vücut ve karaciğer/vücut ağırlığı değerleri kontrol grubunu oluşturan kemelerden elde edilen değerlerle bağımsız



gruplar için Student's t-test kullanılarak karşılaştırıldı.  $p > 0,05$  bulunduğunda aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamsız olduğu kabul edildi. Günlük etanol tüketimi ve organlardan izole edilen *B.melitensis* sayısı Pearson Correlation Test'i kullanılarak analiz edildi ( $p = 0,05$  değerine göre).



#### 4. BULGULAR

EtOH tedavi grubundaki 20 adet keme ile çalışmaya başlandı. Değerlendirmenin sonucunda herhangi bir hastalık bulgusuna rastlanmadı. Çalışmanın 8nci gününde 6 numaralı kemenin yüzünde apseyi andıran bir formasyon izlendi. Bu nedenle 6 numaralı keme çalışmadan çıkarıldı. Ertesi gün bütün kemelerin sulukları deterjanla yıkandıktan sonra çamaşır suyuyla dezenfekte edildi. Çalışmanın 15nci günü sabah 13 numaralı kemenin gebe olduğu teşhis edildi, çalışmadan çıkarıldı. İntragastrik tedaviye başlandıktan 2 gün sonra gavaja bağlı olarak 15 numaralı keme ex oldu. Çalışma toplam 17 kemeye bitirildi (Tablo 4).

Çalışmanın 15nci günü tüm kemelere intraperitoneal yoldan *B.melitensis* inoküle edildi.

*B.melitensis* inokülasyonundan 7 gün sonra (etanol maruziyetinin 22nci günü) EtOH tedavi grubundaki 17 kemeye doksisisiklin (10mg/kg/gün)-rifampisin (6,5mg/kg/gün) ilaç kombinasyonu intragastrik yolla verildi. İlaç verildikten sonraki iki saat kemelere diyet verilmedi. İlaç tedavisine 7 gün boyunca devam edildi. Daha sonra kemeler dalak ve karaciğerlerindeki *B.melitensis* sayısının belirlenmesi için kurban edildi.

Kemelerin 6 tanesinin serumunda ilaç seviyeleri çalışıldı. İlaç verildikten 24 saat sonra alınan serumun emdirildiği disklere *Bacillus subtilis* suşu duyarlı bulundu. İlaç seviyesinin yeterli düzeyde yüksek olduğu bu şekilde anlaşıldı.

Kemelerin 11 tanesinin dalak ve karaciğerinden yapılan kültürler steril kaldı (%64,7). Geri kalan 6 kemenin 4'ünün (%35,3) dalak ve karaciğerinden ve 2'sinin (%23,5) ise sadece dalağından yapılan kültürlerde *B.melitensis* üredi (Tablo 4). Tablo 5'te bu kemelere ait veriler görülmektedir. Hiçbir kemede grup ortalamasından sapan bir değer bulunmamaktadır.

**Tablo 4.** EtOH Tedavi grubundaki kemelerin dalak ve karaciğerlerinden izole edilen *B. melitensis* sayısı

No	Dalak ağırlığı (g)			CFU/dalak ağırlığı*			Karaciğer ağırlığı (g)			CFU/Karaciğer ağırlığı*					
	Tüm	Parça**	Ortalama	SD	Ortanca	Tüm	Parça**	Ortalama	SD	Ortanca	Tüm	Parça**	Ortalama	SD	Ortanca
1	1,1543	0,2653	0	0	0	8,1500	0,2701	0	0	0	10,0231	0,5226	39,7	22,5	49
2	0,9275	0,2847	521,7	130,7	458	9,3654	0,4164	0	0	0	11,0021	0,5229	0	0	0
3	0,9987	0,1993	0	0	0	9,8893	0,2556	0	0	0	9,3245	0,1448	0	0	0
4	0,8734	0,3013	0	0	0	8,9374	0,3339	21,0	18,0	21	8,9256	0,2667	0	0	0
5	0,6405	0,2983	0	0	0	7,9992	0,5011	0	0	0	7,0021	0,3439	33,7	41,2	14
7	0,6876	0,2737	0	0	0	11,6375	0,3335	0	0	0	8,4398	0,3399	0	0	0
8	0,5112	0,2810	233,7	40,0	214	7,9112	0,4401	18,0	4,0	22	7,7712	0,4221	0	0	0
9	1,1034	0,2117	715,5	77,9	677	6,9163	0,2701	0	0	0	9,7666	0,5226	0	0	0
10	0,8345	0,3001	0	0	0	8,9934	0,4164	0	0	0	8,9934	0,4164	0	0	0
11	0,5426	0,2691	177,4	93,0	178	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0
12	0,9345	0,3320	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0
14	0,5345	0,1891	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0
16	0,8672	0,2663	522,2	105,5	482	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0
17	0,3759	0,2902	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0
18	0,9013	0,2653	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0
19	0,6343	0,2847	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0
20	0,7992	0,1993	93,1	60,1	90	9,9934	0,4164	0	0	0	9,9934	0,4164	0	0	0

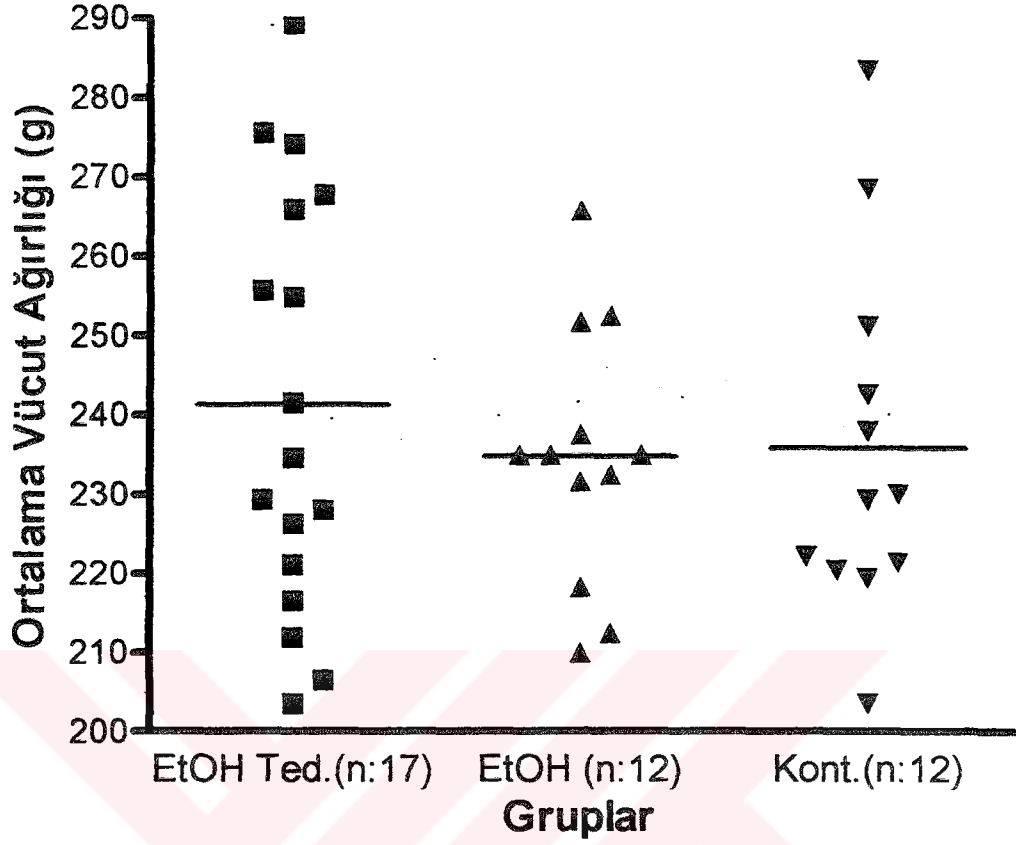
\*EtOH tedavi grubuna ait değerler kontrol grubuna ait değerlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur  $p < 0,01$ .

\*\*Canlı bakteri sayısının ortaya çıkarılması için 1 mL Steril serum fizyolojik içerisinde homojenize edilen doku parçası

**Tablo 5.** Tedaviye direnç gösteren kemelerin özellikleri

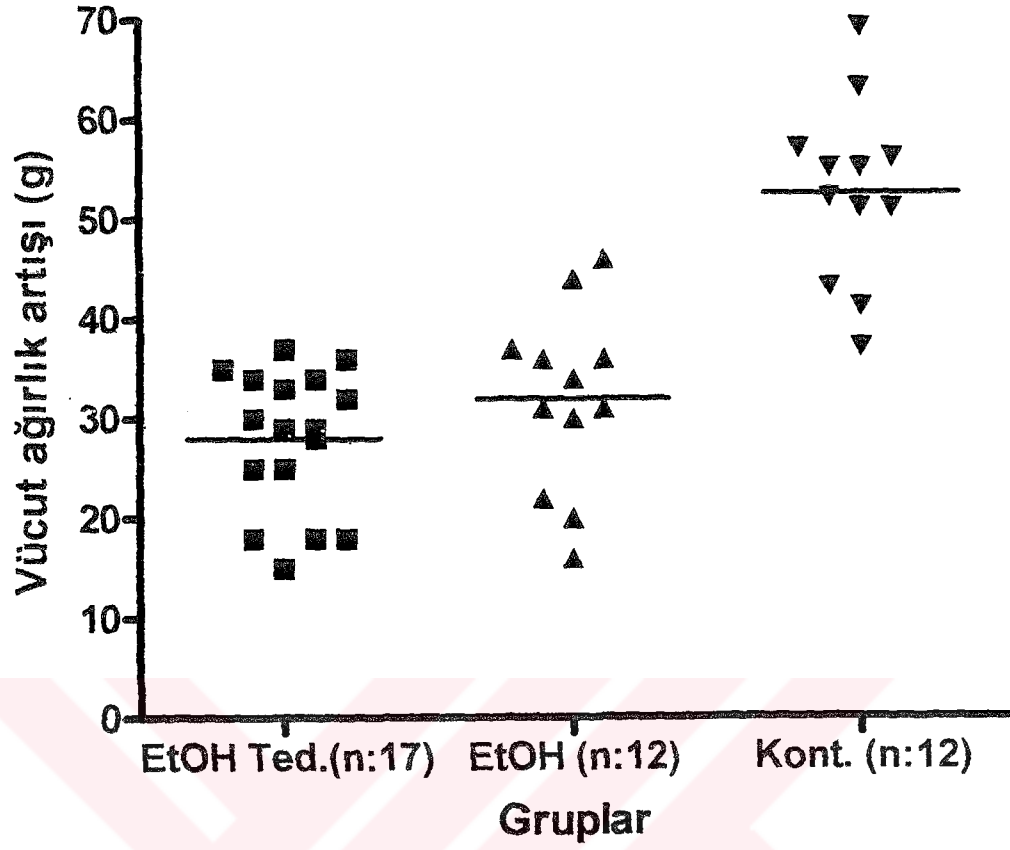
Keme	CFU/Karaciğer ağırlığı	EtOH Tüketimi (g/kg)	Ağırlık artışı (g)	Dalak/vücut oranı	Karaciğer/vücut oranı
Ortalama	21,8	13,75±1,42*	28**	0,0031***	0,0356****
2	39,7	14.66±2,22	28	0.0042	0.0456
8	21,0	14,56±0,74	18	0,0040	0,0300
9	0	11,34±1,02	25	0,0034	0,0320
11	33,7	12.58±1,55	35	0.0022	0.0279
16	18,0	14.78±2,34	18	0.0041	0.0373
20	0	13.00±0,32	34	0.0027	0.0309

Minimum; Maksimum; Ortanca=\* 11,34; 16,12; 13,76. \*\*15,0; 37,0; 29,0. \*\*\* 0,0016; 0,0052; 0,00305. \*\*\*\* 0,0254; 0,0504; 0,0328



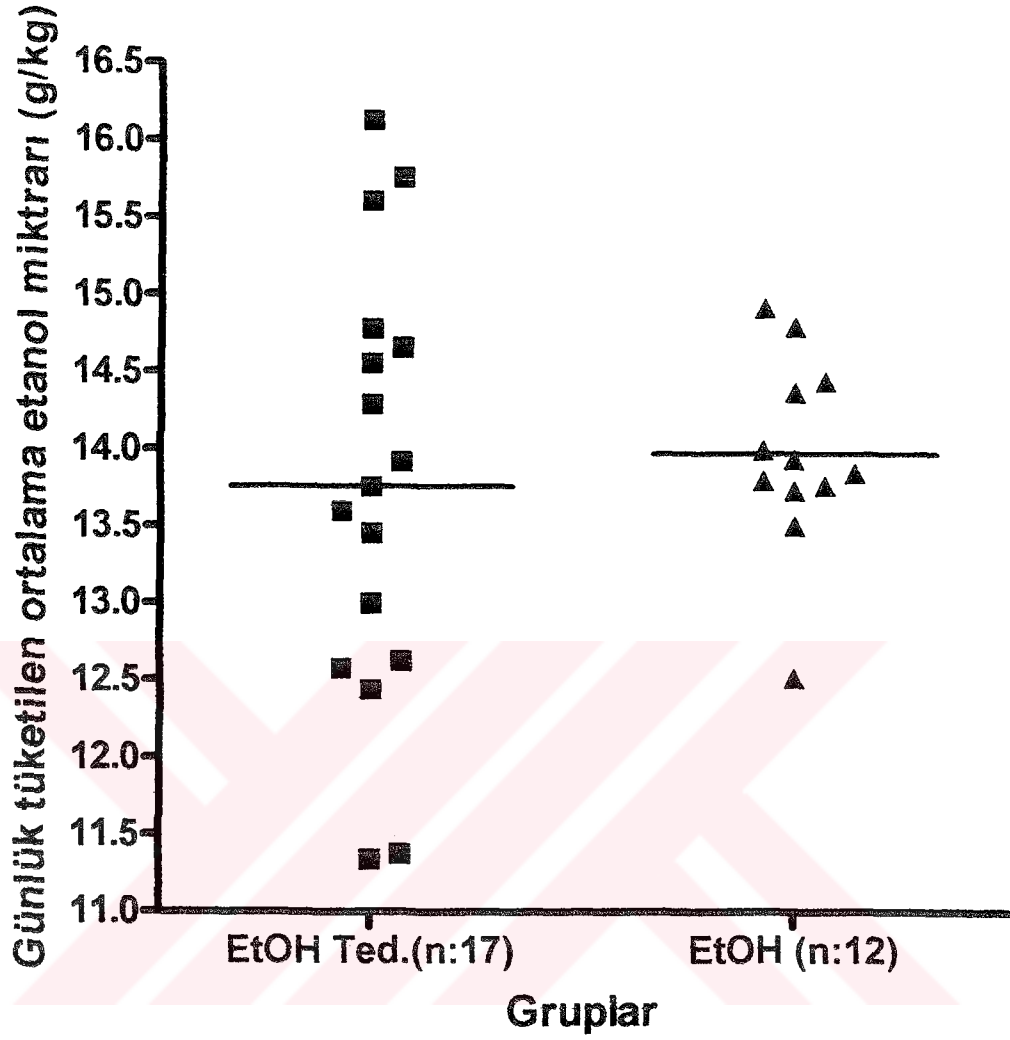
Şekil 2. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma boyunca ölçülen vücut ağırlıklarının ortalaması.

Çalışmaya başlarken kemelerin vücut ağırlıkları ölçüldü. Çalışma boyunca her hafta vücut ağırlıkları ölçülmeye devam edildi. Şekil 2’de gruplara göre kemelerin ortalama vücut ağırlıkları gösterilmektedir. EtOH tedavi grubundaki kemelerin ortalama vücut ağırlığının ( $241,3 \pm 26,64$ ; Ortalama  $\pm$  SD), EtOH ( $234,8 \pm 16,42$ ) ( $p > 0,05$ ) ve Kontrol grubundaki kemelerin ortalama vücut ağırlıklarına ( $235,8 \pm 22,63$ ) yakın değerlerde seyrettiği görüldü ( $p > 0,05$ ).



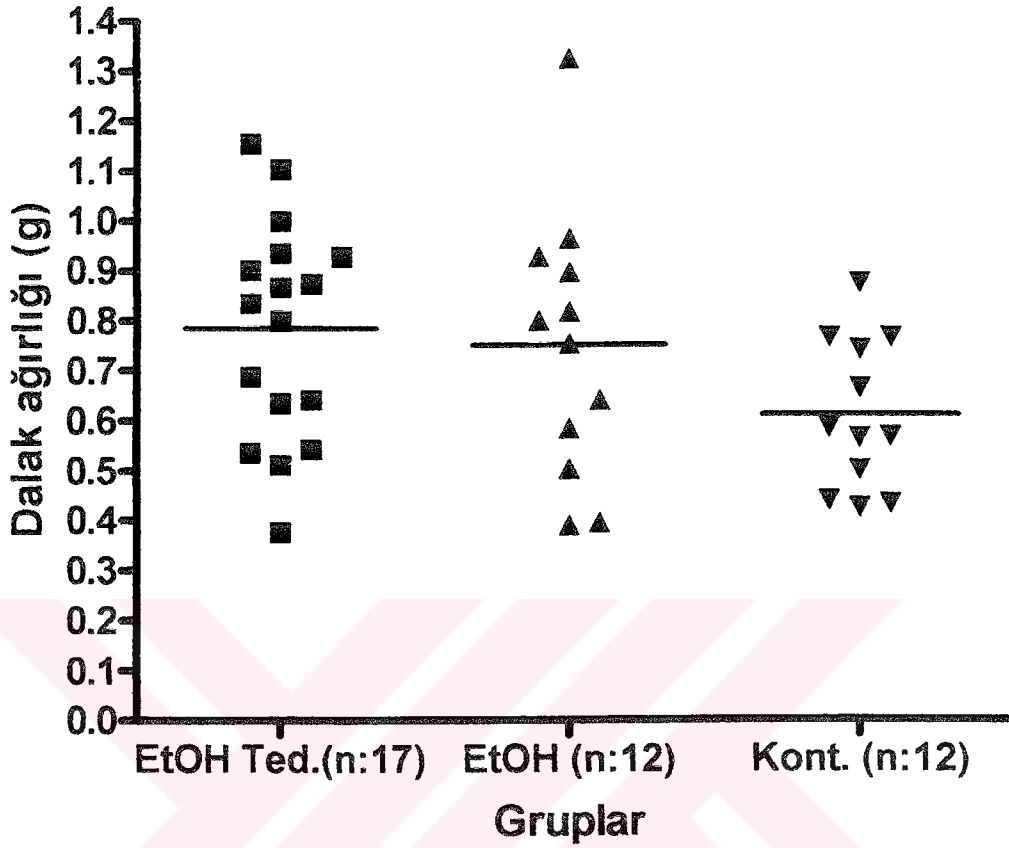
Şekil.3. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma boyunca kazandığı vücut ağırlığı.

EtOH tedavi ve EtOH gruplarındaki kemeler etanol içeren izokalorik diyetle beslendi. Kontrol grubundaki kemelere etanol verilmedi, diyetteki kalori açığını şekerle kapatıldı. Tüm gruplardaki her bir kemeye her gün 100kcal içeren 100ml süt verildi. Çalışma sonuna kadar EtOH grubundaki kemeler  $28,0 \pm 7,07$  (ortalama $\pm$ SD) gr, EtOH grubundaki kemeler  $32,0 \pm 11,7$  gr ve kontrol grubundaki kemeler  $52,5 \pm 16,1$  gr ağırlık kazandı (Şekil 3).



Şekil 4. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma boyunca tükettiği etanol miktarı.

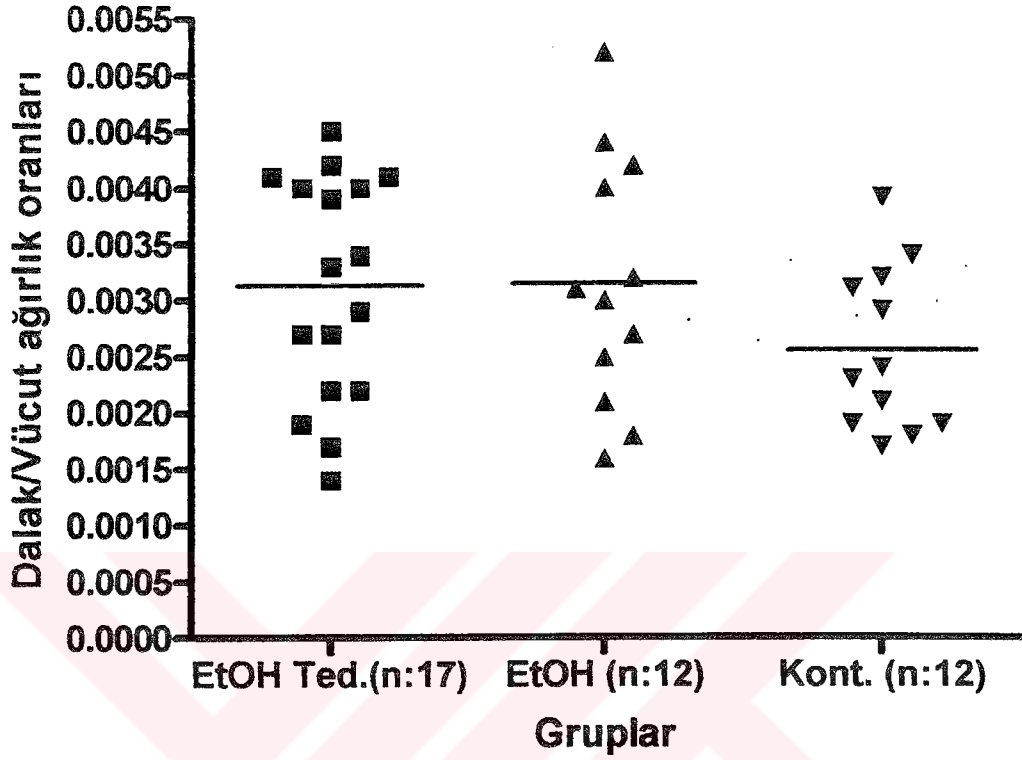
EtOH ve EtOH tedavi grubundaki kemelere çalışmanın 2 ve 7ci günleri arası %2,5, 8 ve 15ci günleri arası %5 ve 16 ve 28ci günleri arası %7,5 saf etanol içeren izokalorik diyetle beslendi. Günlük ortalama etanol tüketimi EtOH tedavi grubu için  $13,75 \pm 1,42$ , EtOH grubu için ise  $13,97 \pm 0,42$  g/kg olarak hesaplandı (Şekil 4).



Şekil 5. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma sonunda tartılan dalak ağırlığı.

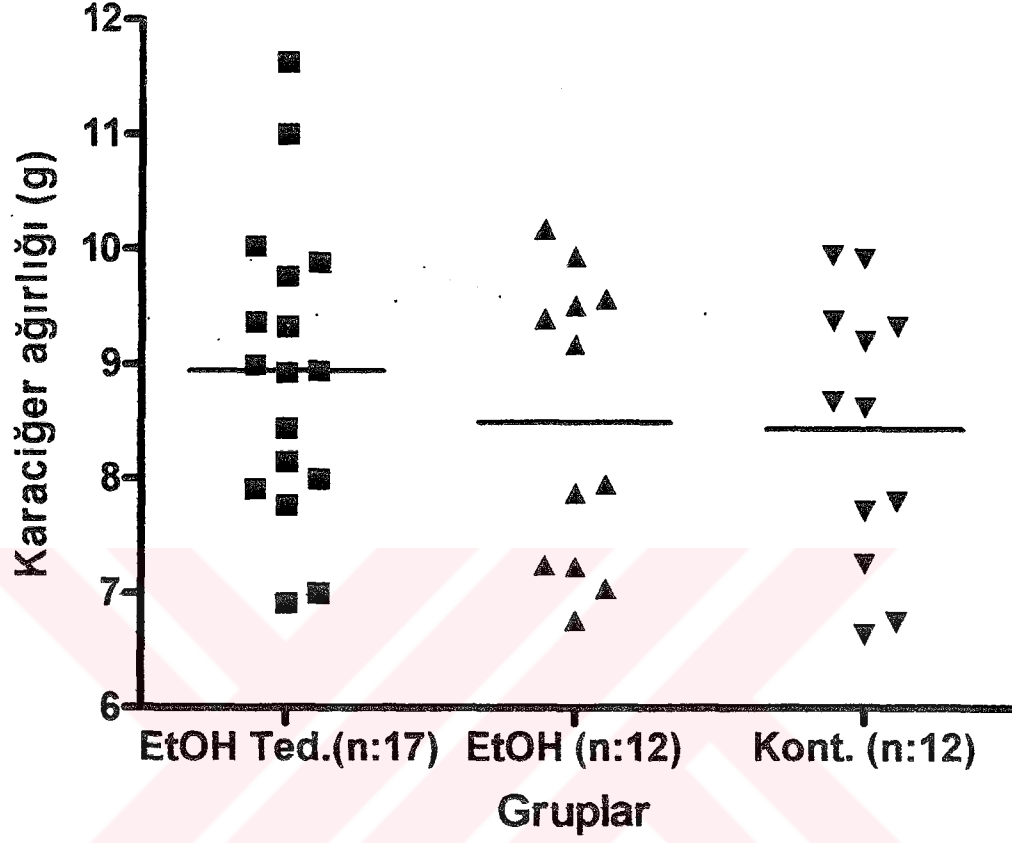
Çalışma sonunda kemeler eter anestezisi altında kurban edildi. Dalakları tartıldı. EtOH tedavi grubundaki kemelerin dalak ağırlıkları  $0,78 \pm 0,21$  gr, EtOH grubundaki kemelerin dalak ağırlığı  $0,74 \pm 0,26$  gr, kontrol grubundaki kemelerin dalak ağırlığı ise  $0,60 \pm 0,15$  gr olarak hesaplandı (Şekil 5). Grupların dalak ağırlığı karşılaştırıldı. İstatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0,05$ ).





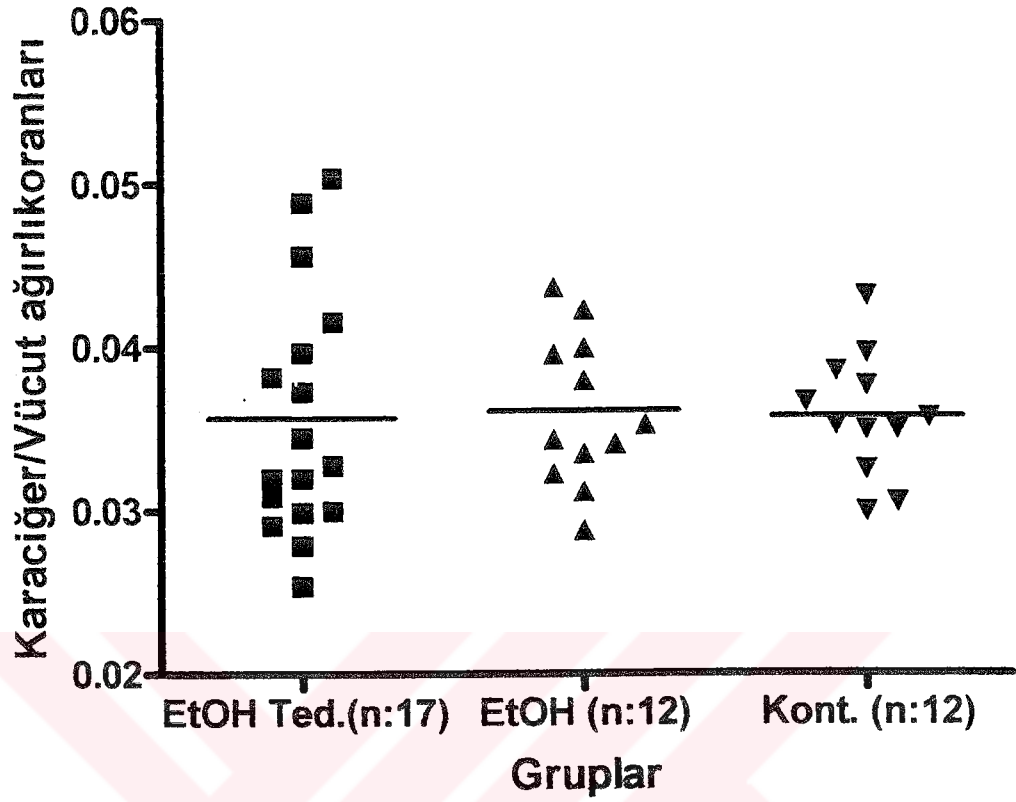
Şekil 6. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma sonunda tartılan dalak ağırlığının vücut ağırlığına oranı.

Splenomegali varlığı açısından kemelerin dalaklarıyla son tartılan vücut ağırlıkları oranı hesaplandı (Şekil 6). EtOH tedavi grubundaki kemelerin dalak/vücut ağırlığı oranı  $0,00312 \pm 0,00099$  bulundu. Değer EtOH grubu için  $0,00315 \pm 0,00111$ , kontrol grubu için ise  $0,00255 \pm 0,00072$  olarak hesaplandı. Gruplar arasında dalak/vücut ağırlığı oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) bulunamadı.



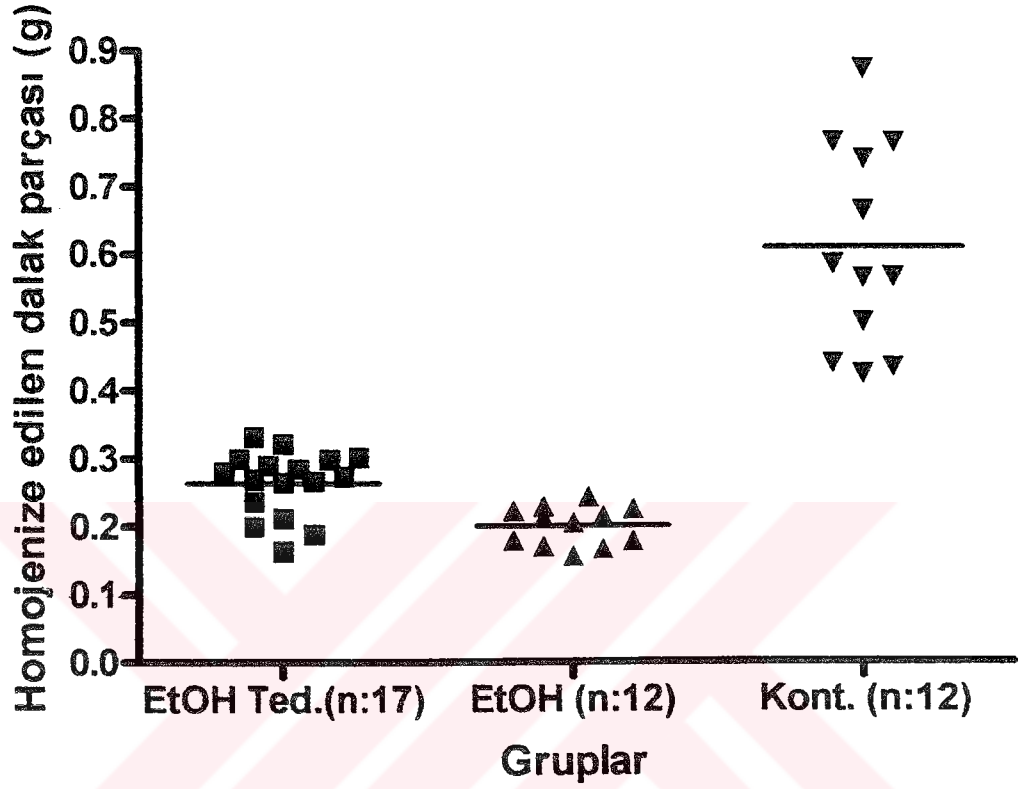
Şekil 7. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma sonunda tartılan karaciğer ağırlığı.

Karaciğerleri çıkarıldı ve tartıldı. EtOH tedavi grubundaki kemelerin karaciğer ağırlıkları  $8,94 \pm 1,29$  gr, EtOH grubundaki kemelerin karaciğer ağırlığı  $8,49 \pm 1,25$  gr, kontrol grubundaki kemelerin karaciğer ağırlığı ise  $8,43 \pm 1,17$  gr olarak hesaplandı (Şekil 7). Grupların karaciğer ağırlığı karşılaştırıldı. İstatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0,05$ ).



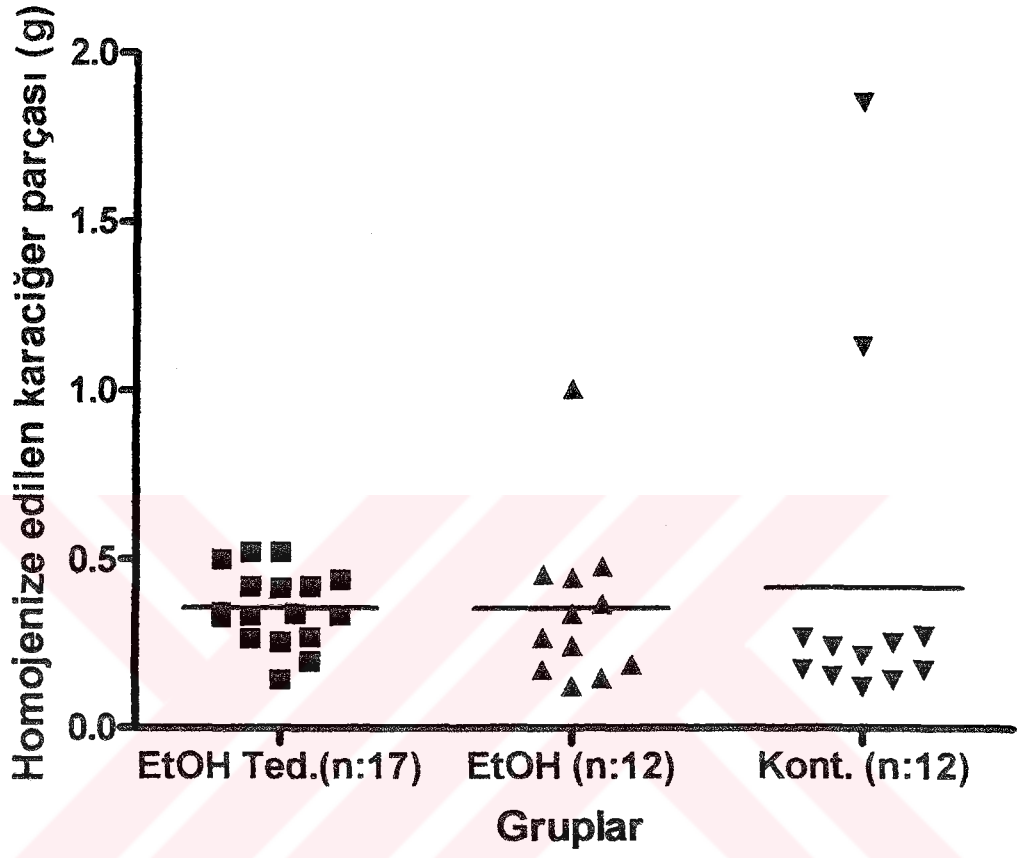
Şekil 8. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma sonunda tartılan karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına oranı.

Hepatomegali varlığı açısından kemelerin karaciğerleriyle son tartılan vücut ağırlıkları oranı hesaplandı (Şekil 8). EtOH tedavi grubundaki kemelerin karaciğer/vücut ağırlığı oranı  $0,03565 \pm 0,00743$  bulundu. Değer EtOH grubu için  $0,03610 \pm 0,00460$ , kontrol grubu için ise  $0,035758 \pm 0,00374$  olarak hesaplandı. Gruplar arasında karaciğer/vücut ağırlığı oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) bulunamadı.



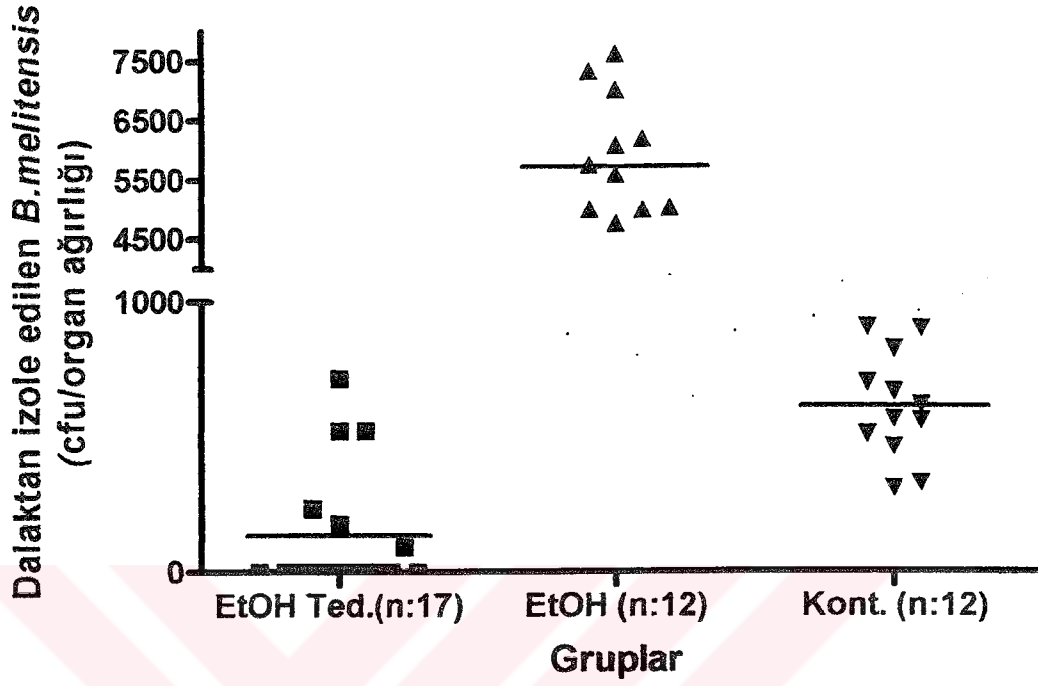
Şekil 9. Bakteri izolasyonunda kullanılan dalak parçası.

Bakteri izolasyonu için çıkarılan organların tamamı kullanılmadı. Organlardan birer parça kesilerek homojenizasyon için işleme alındı. EtOH tedavi grubunda işleme alınan dalak parçası  $0,2637 \pm 0,04791$  gr, EtOH ve kontrol gruplarında ise sırasıyla  $0,2005 \pm 0,0286$  gr ve  $0,60890 \pm 0,1501$  gr olarak hesaplandı (Şekil 9).



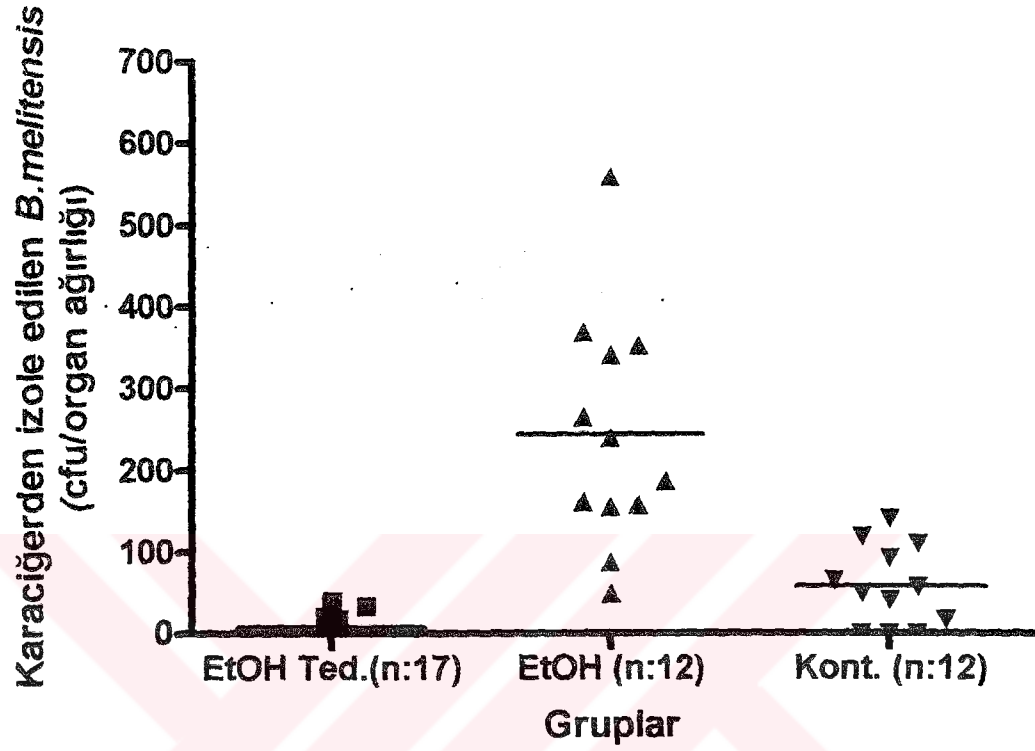
Şekil 10. Bakteri izolasyonunda kullanılan karaciğer parçası.

EtOH tedavi grubunda işleme alınan karaciğer parçası  $0,3568 \pm 0,1096$  gr, EtOH ve kontrol gruplarında ise sırasıyla  $0,3544 \pm 0,2395$  gr ve  $0,416267 \pm 0,5264$  gr olarak hesaplandı (Şekil 10).



Şekil 11. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma sonunda dalaklarından izole edilen *B. melitensis* sayısı.

EtOH ve kontrol gruplarındaki kemelerin hiç birinde spontan iyileşme gözlenmedi. EtOH tedavi grubundaki kemelere bir hafta süreyle doksisisiklin-rifampisin ilaç kombinasyonu intragastrik yoldan uygulandı. Dalaklardan alınan bir parçanın homojenizasyonu sonrasında yapılan kültürlerin bir kısmında tedaviye rağmen üreme kaydedildi (Şekil 11).



Şekil 12. Kemelerin her birinin gruplara göre çalışma sonunda karaciğerlerinden izole edilen *B.melitensis* sayısı.

Altı kemenin dalağında *B.melitensis* izole edildi. Bu kemelerin 2 tanesinin karaciğeri steril kaldı (Şekil 12). Tüm gruplarda dalaklardan izole edilen bakteri sayısı karaciğerden izole edilen bakteri sayısından daha az miktarda bulundu.

## 5. TARTIŞMA

*B.melitensis* intrasellüler yerleşim gösteren ve insanlarda infeksiyona neden olan bir bakteridir (Young, 1995). Özellikle *B.melitensis*'e bağlı gelişen infeksiyon tüm dünyada sıkıntı yaratır. Meydana getirdiği hastalık diğer *Brucella* türlerine göre daha ağır seyrederek ve komplikasyon gelişme sıklığı daha fazladır, tedavisinden sonra nüks daha sık görülür, mortalite daha yüksektir (Koneman ve ark., 1997).

Hastalık insanlara hayvanlardan bulaşır. Bu nedenle hayvanlarda hastalığın kontrol altına alınması büyük önem taşır. Bazı ülkeler çok iyi eradikasyon programları uygulayarak ve çok paralar harcayarak hayvan brusellozunu yok etmeyi başarmıştır. Ancak bu ülke vatandaşlarında bruselloz endemik bölgelere seyahat nedeniyle yine de görülebilir. Tüm dünyadan bruselloz eradike edilinceye kadar hastalanan kişilerin tedavi edilmesi gerekir. Ancak bruselloz tedavisinde yeterli başarı henüz sağlanamamıştır (Young, 1995), (Corbel, 1997). Hastalığın erken dönemde teşhis edilmesi tedavideki başarıyı artırır (Madkour, 2001). Tedavide monoterapi nüks sık görüldüğü için tercih edilmez (Corbel ve MacMillan, 1998). İkili bazen üçlü antibiyotik kombinasyonu tedavide kullanılır (Akova ve ark., 1993). Tedavi süresi dünya sağlık örgütünün önerisine göre doksisisiklin-rifampisin kombinasyonu ile 8-12 hafta olmalıdır (Madkour, 2001). Daha kısa süreli tedavi nüks görülme sıklığını artırır (Madkour, 2001). Bazı araştırmacılar tetrasiklin-streptomisin kombinasyonunu önerir (Mantur ve ark., 1996), (Landinez ve ark., 1992), (Corbel, 1997), (Corbel ve MacMillan, 1998), (Young, 1995). Ancak her iki tedavi rejimi de çocuklardaki yan etkileri nedeniyle önerilmez. Tedaviye erken başlansa dahi tedavinin uzun süreli olması yetişkinlerde de bir takım yan etkilerin görülmesine neden olur. Hasta kendi kararıyla tedaviyi bırakır, nüks görülür. Hekim tedavide sıkıntı yaşar.

Brusellozun şiddeti *Brucella* türü, konağın bağışıklık sistemi, altta yatan bir hastalığın olması ve ortam şartları gibi bir çok faktöre bağlıdır (Koneman ve ark., 1997). Diyabet gibi altta yatan bir etken hastalığın daha ağır seyretmesine neden olur



(Yumuk ve ark., 2003). Etanol konak bağışıklık sistemini olumsuz etkiler ve hastalığın şiddetini artırır (Yumuk ve ark., 2001).

Alkoliklerde bağışıklık sistemi zayıfladığı için infeksiyon hastalıkları daha ağır seyreder (Lister ve ark., 1993; Szabo, 1999; Friedman ve ark., 2003). Etanolun infeksiyon tedavisinde yaşanan başarısızlığa katkıda bulunduğunu gösteren çalışmalar yayınlanmıştır (Davis ve ark., 1991). Alkoliklerde genel popülasyonla kıyaslandığında pneumococcal infeksiyonların insidansında artış olduğu ve nükslerle sık karşılaşıldığı görülmektedir (Jareo ve ark., 1995; Jareo ve ark., 1996; Uzbay ve Kayaalp, 1995). Tedaviye rağmen alkoliklerde bu hastalığa bağlı mortalite %15 ile %77 oranları arasında normal toplum değerlerinden oldukça yüksektir (Davis ve ark., 1991). Benzer bir sonuç bu çalışmada gözlenmiştir. Uzun süre etanol içeren izokalorik diyetle beslenen kemelerdeki *B.melitensis* infeksiyonunun tedavisinde %100 başarı sağlanamamıştır.

Etanol içeren diyet ile beslenen 17 kemenin 11 (%65) tanesinde doksisisiklin (10mg/kg/gün)-rifampisin (6mg/kg/gün) ilaç tedavisi ile kür sağlandığı görüldü. Geriye kalan 6 (%35) kemede ise infeksiyonun devam ettiği dalak ve karaciğerlerinden bakterinin izole edilmesiyle belirlendi. Tedaviyle tam kür sağlanamayan (dalaklarından bakteri izole edilen) 6 kemenin 2'sinin karaciğerlerinden yapılan kültürler steril bulundu. Altı kemenin dalaklarından izole edilen bakteri sayısı  $377 \pm 244$  (ortalama $\pm$ SD), 4 kemenin karaciğerinden izole edilen bakteri sayısı  $28 \pm 10$  olarak hesaplandı. Bu değerlerin EtOH grubundaki kemelerin dalak ( $5699 \pm 363$ ) ve karaciğerlerinden ( $58 \pm 14$ ) izole edilen bakteri sayılarından düşük olduğu istatistiksel analiz sonucunda ( $p < 0,05$ ) görüldü (Tablo 2, 3). Tedavinin bu grupta da etkili olduğu ancak tam kür (dalak steril) olmadığı için infeksiyonun devam ettiği (dalaktan bakteri izole edilmesi) anlaşıldı. Shasha ve ark.'ları (Shasha ve ark., 1994) aynı ilaç kombinasyonunu ve aynı dozları kullanarak deneysel fare brusellozunda %100 kür sağlayabilmiştir (Tablo 6, 7). Elde edilen sonuçların *B.melitensis* infeksiyonunun karakterine ve etanolun infeksiyon hastalıkları üzerine olan olumsuz etkisine bağlı olabileceği düşünüldü.

Tedavide kullanılan ilaç dozları bu konuyla ilgili yapılmış çalışmaların araştırılmasıyla belirlendi (Lang ve ark., 1994; Shasha ve ark., 1994; Lang ve ark., 1993; Shasha ve ark., 1992). Uygulanacak ilaç miktarına karar verilirken kontrol grubundaki hayvanların tümünde (%100) tedavi sağlayabilecek nitelikte olmasına

dikkat edildi. Sonuçta doksisisiklin dozu 10mg/kg/gün, rifampisin dozu 6mg/kg/gün şeklinde tercih edildi. Shasha ve ark.'ları 1992 yılında bruselloz tedavisinde, doksisisiklin ve rifampisin etkisini deneysel hayvan çalışmalarıyla araştırdı (Shasha ve ark., 1992). Ekip tedavide kür sağlayabilecekleri uygun dozu her bir antibiyotik için doz-cevap eğrisiyle belirlemeye çalıştı. Her antibiyotik hem oral hem de intraperitoneal yolla verilerek çalışıldı. Bu çalışmada görüldü ki doksisisiklin ve rifampisin antibiyotiklerinin her ikisi de 6mg/kg/gün üzerinde verildiğinde tek başına etki sağlamaktadır. Aynı ekip 1994 yılında, dünya sağlık örgütünün (WHO) 1986 yılında bruselloz tedavisinde önerdiği doksisisiklin-rifampisin ilaç kombinasyonunun etkisini deneysel hayvan modellerinde araştırdı (Shasha ve ark., 1994). Doksisisiklin, rifampisin'in her biri tek başına ve birlikte farklı dozlarda bruselloz tedavisinde denendi. Tablo 6'da ekibin her iki çalışmasına ait veriler gösterilmiştir. Tedavide başarı dalakların steril kalması şeklinde değerlendirildi. Doksisisiklin tedavide tek başına kullanıldığında dozun 20mg/kg/gün seviyesinde %100 başarı sağladığı görüldü. Rifampisin tek başına 12,5mg/kg/gün kullanıldığında %100 başarılı bulunurken, 25mg/kg/gün kullanıldığında başarının %87,5 seviyesine düştüğü gözlemlendi. Rifampisinde doz ile etkinin aynı oranda artmadığı görüldü. doksisisiklin/rifampisin dozu 10/6-20/12,5-40/25mg/kg/gün şeklinde kombine kullanıldığında %100 başarı elde edildiği görüldü.

Etanolun infeksiyon üzerine etkisi konulu araştırmaların genelinde deneysel hayvan modelleri kullanılmıştır. Etanolun insanlardakine benzer etki oluşturulabilmesi için fare ve keme gibi hayvanlar tercih edilmiştir. Farelerle yapılan çalışmalarda etanol tek bir defada intragastrik olarak verilmektedir (Davis ve ark., 1991). Bu yöntemin etanolun kronik etkisini yansıtabileceği konusunda endişeler vardır. Yapılan araştırmalarla elde edilen genel kanı kemelerin bu amaç için kullanılmasının daha uygun olduğudur. Çünkü kemelere oral yoldan etanol çalışmalarımızda kullandığımız şekliyle uzun süre verilebilmektedir. Bu sayede etanolun meydana getirdiği kronik etki gerçeğe daha yakındır (Davis ve ark., 1991; Casey ve ark., 1989; Baraona ve Lieber, 1982). Her iki çalışmamızda da etanol süt içeren izokalorik sıvı diyetle birlikte verilmiştir. Bu yöntem Uzbay ve Kayaalp tarafından geliştirilmiştir (Davis ve ark., 1991; Casey ve ark., 1989; Baraona ve Lieber, 1982; Uzbay ve Kayaalp, 1995). Diyet farklı oranlarda etanol (%96), süt ve şeker içermektedir. Her bir kemeye günde 100 kcal 100ml ile birlikte sunulur. Kontrol kemelerinin diyetine etanol yerine aynı kaloriyi sağlayacak şekilde şeker eklenir. Bu sayede çalışma ve kontrol kemelerine diyetle aynı kalori verilir. Aradaki farkı diyetle etanolün bulunması yaratır. Lieber-DiCharlie adı

verilen ve ticari olarak satılan bir diyet şekli daha bulunmaktadır. Bu diyetin sağlanması güç ve pahalı olduğu için çalışmalarımızda tercih edilmemiştir. Yapılan çalışmalar her iki diyetin de aynı etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Davis ve ark., 1991; Casey ve ark., 1989; Baraona ve Lieber, 1982; Uzbay ve Kayaalp, 1995).

*Brucella* vücuda alındıktan sonra mukozaların arkasında bulunan makrofajlar ve nötrofiller tarafından fagosite edilir (Dornand ve ark., 2002). *B.melitensis* makrofajlarla hastalık oluşturma konusunda güç savaşı verir (Madkour, 2001). Bakteri mukozadan geçtikten sonra nötrofiller veya makrofajlarla karşılaşır. Hastalığın oluşmasına ait kader bu noktada belirginleşir (Dornand ve ark., 2002). Bağışıklık sistemi yeterli derecede güçlü ise bakterinin yok edilmesini kısa sürede sağlar, değil ise bakteri yaşamını sürdürmeye devam eder ve çoğalır. Fagositer hücrelerin içersinde yaşamını sürdürebildiği takdirde en yakın lenf noduna taşınır. Bu arada çoğalır. Lenf nodunda parçalanan hücreden bakteri dış ortama salınır. Kana geçer. Bakteriyemi ve ateş meydana gelir. Bakteriyemiyle birlikte karaciğer ve dalağa gider ve bu organlara yerleşir. *Brucella* türüne bağlı olarak diğer organ ve dokularda da lokalizasyonlar meydana gelebilir. Hastalığın iyileşmesinde hücresel cevap çok önemli fonksiyona sahiptir (Corbel ve MacMillan, 1998).

Etanol ise dolaşımdaki lenfosit popülasyonunun azalmasına, fonksiyonlarının bozulmasına ve yapılarının değişmesinde neden olur. Antimikrobiyal cevap açısından önemli olan sitokinlerin yapımını baskılar (TNF- $\alpha$  gibi). Lipopolisakarit'nin (LPS) aktiflediği NF- $\kappa$ B'yi (inflamatuvar sitokin transkripsiyon faktörü) inhibe eder. Th1 cevabı baskılar, Th2 cevabı artırır (Friedman ve ark., 2003). Bermudez ve Young adlı araştırmacılar etanolün *Mycobacterium avium* kompleks'in hücre içindeki yaşamını kolaylaştırdığını ve makrofajların sitokinlere verdiği yanıtı azalttığını göstermiştir (Bermudez ve Young, ). Makrofaj kültürlerinde etanolün *L.pneumophila* üremesini arttırdığını gösteren yayınlar vardır (Yamamoto ve ark., 1993). Jerrells ve ark.'ları fare bağışıklık hücrelerini etanola maruz bırakarak bu hücrelerde *Salmonella* ve *Listeria* bağlı infeksiyonların duyarlılığının arttığını göstermiştir (Jerrells ve Sibley, 1995; Yamamoto ve ark., 1993). Önceki çalışmamızda uzun süre etanol içeren izokalorik diyetle beslenen kemelerin dalak ve karaciğerlerinden izole edilen *B.melitensis* sayısının kontrol kemelerinden izole edilen *B.melitensis* sayısından istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha fazla olduğu gösterildi (Yumuk ve ark., 2001). Ortaya çıkan tablodan etanolün sorumlu olabileceği sonucuna varıldı.

Shasha ve ark.'larının çalışmalarında kullandığı deneysel hayvan brusellozu modeli 1950'li yıllarda ilk defa antibiyotiklerin tedavi etkinliği araştırılmak üzere geliştirilmiş ve kullanılmıştır (Shasha ve ark., 1994; Shasha ve ark., 1992). Tedavideki etki ve hastalığın seyri dalaktaki bakteri sayılarının karşılaştırılması sonucu belirlenmektedir. Daha sonra ki yıllarda da bu model başarıyla kullanılmıştır. Çalışmaların genelinde fareler tercih edilmiştir. Farelerin tercih edilme sebebi bakımlarının kolay olmasıdır. Anabilim Dalımızda 2001 yılında yapılan bir çalışmada aynı model kemelere başarıyla uyarlandı ve EtOH'ın bruselloz seyrine olan etkisi araştırıldı (Tablo 2, 3, 7; Şekil 1) (Yumuk ve ark., 2001).



**Tablo 6.** Doksisisiklin ve rifampisin'in tek başına veya birlikte deneysel hayvan brusellozu üzerine etkisini farklı dozlarda gösteren Shasha ve ark.'nın 1992 ve 1994 yıllarında yaptığı çalışmalar (Shasha ve ark., 1994; Shasha ve ark., 1992).

Tedavi	Doksisisiklin (mg/kg/gün)	Rifampisin (mg/kg/gün)	İnfekte edilen hayvan sayısı/toplam	Başarısız (%)
Kontrol	0	0	20/20	100
Doksisisiklin	1,5	0	11/11	100
	3	0	9/9	100
	6	0	9/10	90
	20	0	0/10	0
	40	0	0/10	0
	80	0	0/10	0
Rifampisin	0	1,5	10/10	100
	0	3	9/11	82
	0	6	4/10	40
	0	12,5	0/10	0
	0	25	1/8	12,5
	0	50	0/7	0
<i>Doksisisiklin- rifampisin</i>	1,5	1,5	8/9	89
	3	3	10/11	91
	6	6	2/10	20
	10	6	0/10	0
	20	12,5	0/10	0
	40	25	0/10	0

**Tablo 7.** Şimdiki çalışma ve karşılaştırılan diğer çalışmalarda kullanılan bruselloz deneysel hayvan modeli

<b>Metot</b>	<b>Shasha ve ark. 1992, 1994</b>	<b>Yumuk ve ark., 2001</b>	<b>Bu çalışma</b>
<b>Çalışmanın amacı</b>	Tedavi etkinliği	Hastalığın seyri	Tedavi etkinliği
<b>Deneysel hayvanı</b>	Fare	Keme	Keme
<b><i>B. melitensis</i> dozu (İntraperitoneal)</b>	$2 \times 10^4 - 4 \times 10^4$	$2 \times 10^5 - 4 \times 10^5$	$2 \times 10^5 - 4 \times 10^5$
<b>Kontrol grubunda dalaktan izole edilen bakteri sayısı (ortalama)</b>	789±55	609±57	-
<b>İnfeksiyonun için beklenen süre</b>	7 gün	16 gün	7 gün
<b>Besleme şekli</b>	Çalışma ve kontrol grupları: Katı yem ve su	Çalışma: EtOH içeren izokalorik sıvı diyet, Kontrol: izokalorik sıvı diyet	Çalışma: EtOH içeren izokalorik sıvı diyet
<b>Tedavi, uygulama şekli ve süresi</b>	Doksisisiklin (10mg/kg/gün)-rifampisin (6mg/kg/gün); içme suyuyla; 7gün	-	Doksisisiklin (10mg/kg/gün)-rifampisin (6mg/kg/gün); intragastrik; 7gün
<b>Sonuç</b>	%100 (n:10) tedavi başarılı	EtOH <i>B. melitensis</i> enfeksiyon seyrini olumsuz etkiledi (n:12)	%64,7 (n:17) tedavi başarılı

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

*Brucella* infeksiyonuna ait bilgiler gittikçe artmaktadır. Teşhis, tedavi ve aşılama konularında araştırmalar devam etmektedir. *Brucella* türlerine ait genetik bilginin ortaya çıkarılmasına yönelik çalışmalar tamamlanmak üzeredir (Adams, 2002). Elde edilen bu gelişmelerin ışığında koruyucu bir aşı, erken teşhis araçları ve tatmin edici tedavi yöntemleri geliştirilecektir.

Günümüzde, *B.melitensis* infeksiyonu önemli bir sorundur. Bu infeksiyondan insan ve hayvanları koruyabilecek bir aşı henüz yoktur. Bakterinin hastalık oluşturma mekanizmasının daha net anlaşılması aşı umudunu uzak bir tarihe ertelemiştir (Boschioli ve ark., 2001). Teşhise yönelik çalışmalar daha çok klinikte uygulanabilecek pratik, duyarlı ve özgün yöntemlerin geliştirilmesi yönündedir. İmmünblotting tekniği bu konuda umut vermektedir (Boschioli ve ark., 2001).

Tedavide ise yeni çıkan antibiyotiklerin bu alandaki etkisi araştırılmaktadır (Kocagöz ve ark., 2002; Akova ve ark., 1993). Yaklaşık yeni çıkan antibiyotiklerin tümü bu amaç için denenmiştir veya denenmektedir. *Brucella* bir intrasellüler bakteri olduğu için invitro duyarlılık testleri direnç belirleme konusunda yetersiz kalmaktadır. Bu konudaki araştırmalarda deney hayvanları daha sık tercih edilir. Son zamanlarda bu konudaki açığın E-testleriyle kapatılabileceği öne sürülmüştür (Kocagöz ve ark., 2002).

Brusellozun seyri bir çok faktörden etkilenmektedir. Altta yatan bir hastalığın olması, bağışıklık sisteminde yetersizlik hastalığın daha ağır seyredebilmesine neden olabilmektedir. *B.melitensis* *Brucella* türleri arasında en fazla komplikasyona neden olabilen türdür ve tedavisinde nüks sık görülmektedir.

Etanol bağışıklık sistemini olumsuz yönde etkilemektedir. Alkol kullanan kişilerde infeksiyon insidansının normal popülasyona göre sık olması bunun bir göstergesidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar etanolün tüm bağışıklık sistemini etkileyebilecek bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir. Bu perspektifte bir çok infeksiyon ajanının etanol ile ilişkisi araştırılmıştır. Bunlar arasında *Listeria*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Klebsiella*, *Salmonella* gibi bakteriler de bulunmaktadır. Ancak, yaptığımız araştırma sonucunda etanol ve *Brucella* türleri arasında ki ilişkiyi gösteren

hiç bir yayına rastalanılmamıştır. Bu nedenle 2000 yılında etanol ve *Brucella* infeksiyonu arasında ki etkileşimi gösterecek bir deneysel hayvan modeli düşünülmüştür. Bu tarihte yaptığımız çalışma sonunda etanolün *B.melitensis* infeksiyonunu olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Etanol ile beslenen kemelerin karaciğer ve dalaklarından kontrol kemelerine göre daha fazla sayıda *B.melitensis* izole edilmesi etanolün brusellozun şiddetini arttırdığı yönünde yorumlanmıştır. Bu çalışmada ise etanolün bruselloz tedavisi üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar etanolün bruselloz tedavisini de olumsuz etkileyebileceği yönündedir. Bu bilginin bruselloz tedavisindeki sorunlara ışık tutabileceği düşüncesindeyiz.





## 7. KAYNAKLAR

- Adams, L.G. (2002) The pathology of brucellosis reflects the outcome of the battle between the host genome and the Brucella genome. *Vet Microbiol* 90, 553-61.
- Akova, M., Uzun, O., Akalin, H.E., Hayran, M., Unal, S. & Gur, D. (1993) Quinolones in treatment of human brucellosis: comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 37, 1831-4.
- Andriopoulos, P., Tsironi, M. & Asimakopoulos, G. (2003) Acute abdomen due to Brucella melitensis. *Scand J Infect Dis* 35, 204-5.
- Ariza, J., Pigrau, C., Canas, C., Marron, A., Martinez, F., Almirante, B., Corredoira, J.M., Casanova, A., Fabregat, J. & Pahissa, A. (2001) Current understanding and management of chronic hepatosplenic suppurative brucellosis. *Clin Infect Dis* 32, 1024-33.
- Ariza, J., Pujol, M., Valverde, J., Nolla, J.M., Rufi, G., Viladrich, P.F., Corredoira, J.M. & Gudiol, F. (1993) Brucellar sacroiliitis: findings in 63 episodes and current relevance. *Clin Infect Dis* 16, 761-5.
- Bagasra, O., Howeedy, A., Dorio, R. & Kajdacsy-Balla, A. (1987) Functional analysis of T-cell subsets in chronic experimental alcoholism. *Immunology* 61, 63-69.
- Baraona, E. & Lieber, C.S. (1982) Effects of alcohol on hepatic transport of proteins. *Annu Rev Med* 33, 281-92.
- Bermudez, L.E. & Young, L.S. Ethanol augments intracellular survival of Mycobacterium avium complex and impairs macrophage responses to cytokines. *J Infect Dis* 163, 1286-1292.
- Boschioli, M.L., Foulongne, V. & O'Callaghan, D. (2001) Brucellosis: a worldwide

- zoonosis. *Curr Opin Microbiol* 4, 58-64.
- Casey, C.A., Kragoskow, S.L., Sorrell, M.F. & Tuma, D.J. (1989) Ethanol-induced impairments in receptor-mediated endocytosis of asialoorosomucoid in isolated rat hepatocytes: time course of impairments and recovery after ethanol withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 13, 258-63.
- Chan, J., Baxter, C. & Wenman, W.M. (1989) Brucellosis in an inuit child, probably related to caribou meat consumption. *Scand J Infect Dis* 21, 337-8.
- Corbel, M.J. (1997) Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis* 3, 213-21.
- Corbel, M.J. & MacMillan, A.P. (1998) Brucellosis. In: *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 9th edn, edited by Collier, L., Balows, A. & Sussman, M. Georgina Bentliff, Great Britain, p. 849-870.
- Davis, C.C., Mellencamp, M.A. & Preheim, L.C. (1991) A model of pneumococcal pneumonia in chronically intoxicated rats. *J Infect Dis* 163, 799-805.
- Dornand, J., Gross, A., Lafont, V., Liautard, J., Oliaro, J. & Liautard, J.P. (2002) The innate immune response against Brucella in humans. *Vet Microbiol* 90, 383-94.
- Eckman, M.R. (1975) Brucellosis linked to Mexican cheese. *JAMA* 232, 636-7.
- Ertem, M., Kurekci, A.E., Aysev, D., Unal, E. & Ikinogullari, A. (2000) Brucellosis transmitted by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 26, 225-6.
- Friedman, H., Newton, C. & Klein, T.W. (2003) Microbial infections, immunomodulation, and drugs of abuse. *Clin Microbiol Rev* 16, 209-19.
- Georghiou, P.R. & Young, E.J. (1991) Prolonged incubation in brucellosis. *Lancet* 337, 1543
- Goossens, H., Marcelis, L., Dekeyser, P. & Butzler, J.P. (1983) Brucella melitensis: person-to-person transmission? *Lancet* 1, 773
- Gorvel, J.P. & Moreno, E. (2002) Brucella intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet Microbiol* 90, 281-97.

- Jareo, P.W., Preheim, L.C. & Gentry, M.C. (1996) Ethanol ingestion impairs neutrophil bactericidal mechanisms against *Streptococcus pneumoniae*. *Alcohol Clin Exp Res* **20**, 1646-1652.
- Jareo, P.W., Preheim, L.C., Lister, P.D. & Gentry, M.C. (1995) The effect of ethanol ingestion on killing of *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* by rat neutrophils. *Alcohol Alcohol* **30**, 311-318.
- Jerrells, T.R. & Sibley, D. (1995) Effects of ethanol on cellular immunity to facultative intracellular bacteria. *Alcohol Clin Exp Res* **19**, 11-6.
- Jerrells, T.R., Slukvin, I., Sibley, D. & Fuseler, J. (1994) Increased susceptibility of experimental animals to infectious organisms as a consequence of ethanol consumption. *Alcohol Alcohol Suppl* **2**, 425-30.
- Jerrells, T.R., Smith, W. & Eckardt, M.J. (1990) Murine model of ethanol-induced immunosuppression. *Alcohol Clin Exp Res* **14**, 546-50.
- Kocagoz, S., Akova, M., Altun, B., Gur, D. & Hascelik, G. (2002) In vitro activities of new quinolones against *Brucella melitensis* isolated in a tertiary-care hospital in Turkey. *Clin Microbiol Infect* **8**, 240-2.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. & Winn, W.C. (1997) Miscellaneous fastidious gram-negative bacilli. In *Diagnostic Microbiology*, 5th edn 395-472, J. B. Lippincott, Philadelphia.
- Kusumawati, A., Cazevielle, C., Porte, F., Bettache, S., Liautard, J.P. & Sri Widada, J. (2000) Early events and implication of F-actin and annexin I associated structures in the phagocytic uptake of *Brucella suis* by the J-774A.1 murine cell line and human monocytes. *Microb Pathog* **28**, 343-52.
- Landinez, R., Linares, J., Loza, E., Martinez-Beltran, J., Martin, R. & Baquero, F. (1992) In vitro activity of azithromycin and tetracycline against 358 clinical isolates of *Brucella melitensis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **11**, 265-7.
- Lang, R., Shasha, B., Ifrach, N., Tinman, S. & Rubinstein, E. (1994) Therapeutic effects of roxithromycin and azithromycin in experimental murine brucellosis.

*Chemotherapy* 40, 252-5.

- Lang, R., Shasha, B. & Rubinstein, E. (1993) Therapy of experimental murine brucellosis with streptomycin alone and in combination with ciprofloxacin, doxycycline, and rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 37, 2333-6.
- Lister, P.D., Gentry, M.J. & Preheim, L.C. (1993) Ethanol impairs neutrophil chemotaxis in vitro but not adherence or recruitment to lungs of rats with experimental pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 167, 1131-7.
- Madkour, M.M. (2001) Brucellosis: Overview. In: *Madkour's Brucellosis*, 2 edn, edited by Madkour, M.M. Springer, Germany, p. 1-15.
- Mantur, B.G., Mangalgi, S.S. & Mulimani, M. (1996) *Brucella melitensis*--a sexually transmissible agent? *Lancet* 347, 1763
- Memish, Z.A., Almuneef, M., Mah, M.W., Qassem, L.A. & Osoba, A.O. (2002) Comparison of the Brucella Standard Agglutination Test with the ELISA IgG and IgM in patients with Brucella bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 44, 129-32.
- Milionis, H., Christou, L. & Elisaf, M. (2000) Cutaneous manifestations in brucellosis: case report and review of the literature. *Infection* 28, 124-6.
- Oscherwitz, S.L. (1995) Brucellar bacteremia in pregnancy. *Clin Infect Dis* 21, 714-5.
- Porat, S. & Shapiro, M. (1984) Brucella arthritis of the sacro-iliac joint. *Infection* 12, 205-7.
- Queipo-Ortuno, M.I., Morata, P., Ocon, P., Manchado, P. & Colmenero, J.D. (1997) Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral-blood PCR assay. *J Clin Microbiol* 35, 2927-30.
- Rittig, M.G., Alvarez-Martinez, M.T., Porte, F., Liautard, J.P. & Rouot, B. (2001) Intracellular survival of Brucella spp. in human monocytes involves conventional uptake but special phagosomes. *Infect Immun* 69, 3995-4006.
- Rowen, J.I. & Englund, J.A. (1995) Brucellosis presenting with cough. *Pediatr Infect*

*Dis J* 14, 721-2.

- Saad, A.J., Domiati-Saad, R. & Jerrells, T.R. (1993) Ethanol ingestion increases susceptibility of mice to *Listeria monocytogenes*. *Alcohol Clin Exp Res* 17, 75-85.
- Sabbaghian, H. (1975) Fresh white cheese as a source of *Brucella* infection. *Public Health* 89, 165-9.
- Schurig, G.G., Sriranganathan, N. & Corbel, M.J. (2002) Brucellosis vaccines: past, present and future. *Vet Microbiol* 90, 479-96.
- Shasha, B., Lang, R. & Rubinstein, E. (1992) Therapy of experimental murine brucellosis with streptomycin, co-trimoxazole, ciprofloxacin, ofloxacin, pefloxacin, doxycycline, and rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 36, 973-6.
- Shasha, B., Lang, R. & Rubinstein, E. (1994) Efficacy of combinations of doxycycline and rifampicin in the therapy of experimental mouse brucellosis. *J Antimicrob Chemother* 33, 545-51.
- Sibley, D. & Jerrells, T.R. (2000) Alcohol consumption by C57BL/6 mice is associated with depletion of lymphoid cells from the gut-associated lymphoid tissues and altered resistance to oral infections with *Salmonella typhimurium*. *J Infect Dis* 182, 482-9.
- Sibley, D.A., Osna, N., Kusynski, C., Wilkie, L. & Jerrells, T.R. (2001) Alcohol consumption is associated with alterations in macrophage responses to interferon-gamma and infection by *Salmonella typhimurium*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 32, 73-83.
- Solera, J., Beato, J.L., Martinez-Alfaro, E., Segura, J.C. & de Tomas, E. (2001) Azithromycin and gentamicin therapy for the treatment of humans with brucellosis. *Clin Infect Dis* 32, 506-9.
- Solera, J., Espinosa, A., Geijo, P., Martinez-Alfaro, E., Saez, L., Sepulveda, M.A. & Ruiz-Ribo, M.D. (1996) Treatment of human brucellosis with netilmicin and

- doxycycline. *Clin Infect Dis* 22, 441-5.
- Sternbach, G.L. (1990) Infections in alcoholic patients. *Emerg Med Clin North Am* 8, 793-803.
- Szabo, G. (1999) Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol* 34, 830-41.
- Thiele, G.M., Szabo, G., Kovacs, E.J., Bautista, A.P., Sosa, L. & Jerrells, T.R. (2002) Modulation of immunity and viral-host interactions by alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 26, 1897-908.
- Uzbay, I.T. & Kayaalp, S.O. (1995) A modified liquid diet of chronic ethanol administration: Validation by ethanol withdrawal syndrome in rats. *Pharmacological Research* 31, 37-42.
- Williams, E. (1970) Brucellosis and the British public. *Lancet* 1, 1220-2.
- Wyatt, H.V. (1996) *Brucella melitensis* can be transmitted sexually. *Lancet* 348, 615
- Yagupsky, P., Peled, N., Press, J., Abu-Rashid, M. & Abramson, O. (1997) Rapid detection of *Brucella melitensis* from blood cultures by a commercial system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 16, 605-7.
- Yamamoto, Y., Klein, T.W. & Friedman, H. (1993) Differential effects of ethanol on permissive versus nonpermissive macrophages infected with *Legionella pneumophila*. *Proc Soc Exp Biol Med* 203, 323-327.
- Young, E.J. (1995) An overview of human brucellosis. *Clin Infect Dis* 21, 283-9; quiz 290.
- Young, E.J. (2002) *Brucella* species. In: *Principles and Practice of Infectious Disease*, 4 edn, edited by Mandell, G.L., Bennett, J.E. & Dolin, R. Churchill Livingstone, New York, NY 10011, p. 2386-2391.
- Young, E.J., Gomez, C.I., Yawn, D.H. & Musher, D.M. (1979) Comparison of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* infections of mice and their effect on acquired cellular resistance. *Infect Immun* 26, 680-5.

Yumuk, Z., Kucukbasmaci, O., Buyukbaba Boral, O., Kucuker Ang, M. & Dundar, V. (2003) The effects of streptozotocin-induced diabetes on brucellosis of rats. *FEMS Immunol Med Mic* 39, 275-278.

Yumuk, Z., Ozdemirci, S., Erden, B.F. & Dundar, V. (2001) The effect of long-term ethanol feeding on *Brucella melitensis* infection of rats. *Alcohol Alcohol* 36, 314-7.

