

Brusellozun Serolojik Tanısında Yeni ve Hızlı Bir Yöntem Olan Brucella Coombs Jel Testi ile Diğer Yöntemlerin Karşılaştırılması

Comparison of a New and Rapid Method, Brucella Coombs Gel Test With the Other Methods in the Serological Diagnosis of Brucellosis

Arzu İRDEM¹, Fatma Muhterem YÜCEL¹, Sabahat AKSARAY², Emire BOR³

¹ Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

¹ *Umranıye Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.*

² Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

² *Haydarpaşa Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.*

³ Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyoistatistik Uzmanı, İstanbul.

³ *Umranıye Education and Research Hospital, Biostatistics Specialist, Istanbul, Turkey.*

Geliş Tarihi (Received): 22.08.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 09.01.2015

ÖZ

Brusellozun tanısı temel olarak, kan ve/veya kemik iliği kültürü ile serumda yüksek titrede özgül antikor tespiti veya serokonversiyonun gösterilmesine dayanır. Hastalığın rutin serolojik tanısında, Rose Bengal testi ile tarama yapılmakta, pozitif bulunan örnekler standart tüp aglütinasyon (STA) testi ile dilüsyonlu olarak çalışılmaktadır. Ancak blokan antikorların varlığı nedeniyle STA testinde yalnızca negatif sonuçlar alınabileceğinden, bu testin Coombs anti-Brucella (CAB) veya yakalamalı aglütinasyon (Immunocapture agglutination; ICA) testleriyle doğrulanması gerekmektedir. Son yıllarda ülkemizde geliştirilen Brucella Coombs jel testi ise (ODAK Brucella Coombs Gel Test, Toprak Medikal, İstanbul), aglütinasyon esasına dayanan yeni ve hızlı bir yöntem olarak kullanıma sunulmuştur. Bu test, Coombs antikorları içeren jel matrisin bulunduğu kuyucuklarda gerçekleştirilmekte ve sonuçlar iki saat içinde görsel olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada, brusellozun serolojik tanısında *Brucella* Coombs jel testinin (BCGT) etkinliğinin, STA, CAB ve ICA yöntemleriyle karşılaştırılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, Ocak 2012- Ağustos 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen bruselloz şüpheli olguların serum örneklerinden, CAB testi (Seromed, İstanbul) ile yüksek pozitif ($\geq 1/160$) bulunan 31; düşük pozitif ($\leq 1/80$) bulunan 23 ve negatif bulunan 46 örnek olmak üzere toplam 100 örnek dahil edilmiştir. Tüm örnekler, STA (Seromed, İstanbul), ICA (Vircell, İspanya) ve BCGT (İslab, İstanbul) yöntemleriyle titrasyonlu olarak çalışılmıştır. STA, CAB ve BCGT testleri ile $\geq 1/160$, ICA testi ile $\geq 1/320$ olarak

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Arzu İrdem, Ümraniye Eğitim ve Araştırma, Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Elmalı Kent Mahallesi Adem Yavuz Cad. No:1, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 216 632 1818, **E-posta (E-mail):** arzuirvem@mynet.com

saptanan titreler pozitif olarak kabul edilmiştir. Testler arasındaki uyum Cohen kappa (κ) analizi ile değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, örneklerin yedisi STA ile, 30'u ICA ile, 32'si ise BCGT ile pozitif bulunmuş; 28 örnek her üç yöntem ile de pozitif olarak saptanmıştır. CAB ve BCGT pozitif iki örnekte ICA düşük titre/negatif; ICA ve BCGT pozitif bir örnekte CAB düşük titre/negatif; CAB ve BCGT düşük titre/negatif olan bir örnekte ise ICA pozitif sonuç vermiştir. STA testi, pozitiflik oranının çok düşük olması nedeniyle kappa analizine dahil edilmemiş; diğer yöntemler arasında ise mükemmel uyum saptanmıştır (CAB ile ICA için $\kappa= 0.887$, CAB ile BCGT için $\kappa= 0.977$, ICA ile BCGT için $\kappa= 0.907$). Sonuç olarak çalışmamızda, BCGT yönteminin hem CAB hem de ICA testleriyle mükemmel uyum gösterdiği; testin uygulamasının pratik olduğu; iki saat gibi kısa bir zamanda sonuç verdiği ve değerlendirmenin görsel açıdan diğer yöntemlere göre daha kolay olduğu belirlenmiştir. BCGT rutin çalışmalar için önerilebilmekle birlikte, daha fazla sayıda olgu ve kontrol örneklerini içeren geniş kapsamlı çalışmalarla özgüllük ve duyarlılığının ortaya konulması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Brucella; Coombs jel testi; serolojik tanı.

ABSTRACT

Diagnosis of brucellosis basically depends on blood and/or bone marrow culture and demonstration of high titer specific antibody or seroconversion in serum. In routine serological diagnosis of the disease, after screening with Rose Bengal test, the positive samples are studied with standart tube agglutination (STA) test with serial dilutions. However false negative results can be seen in STA test due to the existence of blocking antibodies, this test should be verified with Coombs anti-Brucella (CAB) or immunocapture agglutination (ICA) tests. In recent years Brucella Coombs gel test (ODAK Brucella Coombs Gel Test, Toprak Medikal, Turkey) developed in our country, was available as a new and rapid agglutination based method. The test is performed in vials that contain Coombs antibodies within gel matrix and results are evaluated visually within two hours. The aim of this study was to compare the efficacy of Brucella Coombs gel test (BCGT) with STA, CAB and ICA methods in serological diagnosis of brucellosis. A total of 100 serum samples with suspected brucellosis sent to our laboratory between January 2012-August 2013 in which 31 high positive ($\geq 1/160$), 23 low positive ($\leq 1/80$) and 46 negative samples diagnosed with CAB test (Seromed, Turkey) were included in the study. All the samples were studied using titrations with STA (Seromed, Turkey), ICA (Vircell, Spain) and BCGT (Islab, Turkey) methods. With STA, CAB and BCGT tests $\geq 1/160$, with ICA test $\geq 1/320$ were accepted as positive titers. The correlation between the tests were evaluated with Cohen's kappa (κ) analysis. In our study, seven of the samples yielded positive results with STA, 30 with ICA, and 32 with BCGT. The number of the sera which yielded positive results with all three methods was 28. Two samples positive with CAB and BCGT resulted low titer/negative with ICA, one sample positive with ICA and BCGT resulted low titer/negative with CAB, and one low titer/negative sample with CAB and BCGT yielded positive with ICA test. STA test was not included in the statistical evaluation due to its very low positivity rate. According to the kappa analysis, almost perfect agreement was detected between the other methods ($\kappa= 0.887$ for CAB and ICA, $\kappa= 0.977$ for CAB and BCGT, $\kappa= 0.907$ for ICA and BCGT). In conclusion, BCGT method showed excellent correlation with both CAB and ICA tests; the application of the test was practical; resulted in a short time such as two hours and visually evaluation was determined to be practical compared to other methods. Although BCGT can be recommended for routine diagnostics, evaluation of specificity and sensitivity with comprehensive studies including a greater number of cases and control samples should be considered.

Keywords: Brucella; Coombs gel test; serological diagnosis.

GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturan *Brucella* türleri, hücre içi yerleşim gösteren gram-negatif, aerop, küçük basillerdir¹. Bruselloz, dünyanın en fazla yayılım alanına sahip zoonozu olarak tarif edilmektedir^{1,2}. Birçok doku ve organın tutulabildiği brusellozda klinik semptomlar özgül olmadığından, bilinmeyen kökenli ateş olgularının ayırıcı tanısında klinisyenlerin brusellozu da araştırmaları önerilmektedir¹. Hastalığın inkübasyon süresi ortalama 2-3 hafta olup, ateş (sıklıkla ondülan), gece terlemesi, sırt ağrısı, kas ağrısı ve iştahsızlık gibi özgül olmayan bulgular ortaya çıkar. Bruselloz sırasında, osteomyelit, hepatomegali, splenomegali, menenjit, endokardit ve epididimo-orşit gibi çok çeşitli komplikasyonların gelişebildiği de bilinmektedir³.

Brusellozun tanısındaki iki önemli kriterden biri, klinik örnekten *Brucella* spp. izolasyonu; diğeri ise klinik bulgular eşliğinde serumda etkene özgül yüksek titrede antikor varlığının tespiti ve serokonversiyonun gösterilmesidir⁴. Hastalığın serolojik tanısında rutin laboratuvarlarda kullanılmakta olan serolojik testlerin özgüllük ve duyarlılıkları farklılık göstermekte, bu nedenle testlerin kombine çalışılması önerilmektedir⁵. Örneğin blokan antikorların varlığı nedeniyle standart tüp aglütinasyon (STA) testinde yalancı negatif sonuçlar alınabileceğinden, bu testin Coombs anti-*Brucella* (CAB) veya yakalamalı aglütinasyon (Immunocapture agglutination; ICA) testleriyle doğrulanması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda CAB ve ICA yöntemlerinin özgüllük ve duyarlılığının birbirine yakın olduğu bildirilmiştir^{6,7}.

Son yıllarda ülkemizde geliştirilen *Brucella* Coombs jel testi ise (ODAK *Brucella* Coombs Gel Test, Toprak Medikal, İstanbul), aglütinasyon esasına dayanan yeni ve hızlı bir yöntem olarak kullanıma sunulmuştur^{8,9}. Bu test, Coombs antikorları (anti-insan IgG) içeren jel matriksin bulunduğu kuyucuklarda gerçekleştirilir. Test sırasında yüksek devirde santrifüj ve Coombs serumu muamelesi ile blokan antikorların bağlanması sağlanmakta, sonuçlar 2 saat içinde görsel olarak değerlendirilmektedir. Sunulan bu çalışmada, brusellozun serolojik tanısında *Brucella* Coombs jel testinin (BCGT) etkinliğinin, diğer yöntemlerle karşılaştırılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

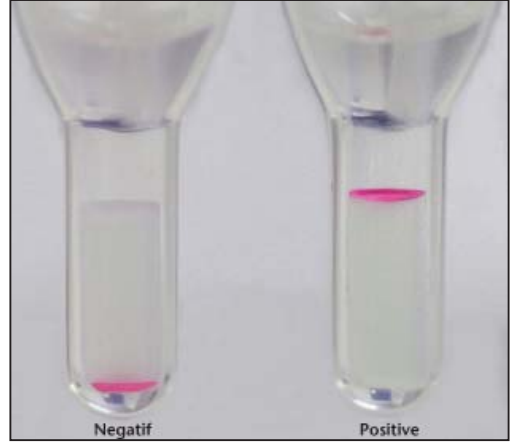
GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Ocak 2012- Ağustos 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen bruselloz şüpheli olguların serum örneklerinden, CAB testi (Seromed, İstanbul) ile yüksek pozitif ($\geq 1/160$) bulunan 31; düşük pozitif ($\leq 1/80$) bulunan 23 ve negatif bulunan 46 örnek olmak üzere toplam 100 örnek dahil edildi. Tüm örnekler, STA (Seromed, İstanbul), ICA (Vircell, İspanya) ve BCGT (İslab, İstanbul) yöntemleriyle titrasyonlu olarak çalışıldı. STA, CAB ve BCGT testleri ile $\geq 1/160$, ICA testi ile $\geq 1/320$ olarak saptanan titreler pozitif olarak kabul edildi.

Brucella Coombs Gel Test (BCGT)

Bu yöntemde önce serum dilüsyonları, dilüsyon plağında her hasta için ayrılan kuyular içinde yapıldı. Birinci kuyuya 100 µl, diğer kuyulara 50 µl sulandırım sıvısı konulduktan sonra birinci kuyulara her bir hasta serumundan 5'er µl eklenerek karıştırıldı; diğer

kuyulara 50'şer µl geçirilerek seri dilüsyonları (1/40-1/2560) hazırlandı; son kuyudan 50 µl alınarak dışarı atıldı. Daha sonra tüm kuyulara 50 µl brucella antijen süspansiyonu ilave edildi, karıştırıldı ve plağın üzeri kapatılarak 37°C'de inkübe edildi. Bu sırada kullanılacak olan jel matriks mikrotüpleri, ilgili serum numaraları ile işaretlendi. İnkübasyon sonrası plak iyice çalkalandıktan sonra ilgili kuyudaki karışımdan 50 µl alınarak jel matriksteki ilgili mikrotüpe pipetlendi. Mikrotüpler 20 dakika 37°C'de inkübasyondan sonra, üreticinin önerdiği uygun devirde 20 dakika santrifüj edildi. Sonuçlar görsel olarak değerlendirildi. Değerlendirmede; antikor yokluğunda pembe brucella antijenlerinin tüpün dibine çökmesi negatif, antikor varlığında pembe antijen ve antikor kompleksinin jelin üstünde kalması pozitif olarak kabul edildi (Resim 1).



Resim 1. Brucella Coombs jel testinde negatif ve pozitif sonuçların görünümü.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 ve PASS (Power Analysis and Sample Size) 2008 Statistical Software (Utah, ABD) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken, tanımlayıcı istatistiksel metodların (sıklık, oran) yanı sıra, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Cohen kappa (κ) analizleri yapıldı¹⁰. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmamızda, CAB testi ile pozitif ($\geq 1/160$) bulunan 31 ve düşük titre/negatif (0-1/80) bulunan 69 örnek; STA, ICA ve BCGT yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Örneklerin 7'si STA ile, 30'u ICA ile, 32'si ise BCGT ile pozitif bulunmuştur. Her üç yöntem ile de pozitif olarak saptanan örnek sayısı 28'dir. CAB ve BCGT pozitif iki örnekte ICA düşük titre/negatif; ICA ve BCGT pozitif bir örnekte CAB düşük titre/negatif; CAB ve BCGT düşük titre/negatif olan bir örnekte ise ICA pozitif sonuç vermiştir. BCGT ile CAB ve ICA testlerinin karşılaştırmalı sonuçları sırasıyla Tablo I ve II'de verilmiştir. STA testi, pozitiflik oranının çok düşük olması nedeniyle karşılaştırmaya ve kappa analizine dahil edilmemiş; diğer yöntemler arasındaki uyum Tablo III'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Brusellozun laboratuvar tanısında altın standart olarak kabul edilen kan kültürünün duyarlılığı, laboratuvarın pratiğine, kullanılan yöntem, kanda dolaşan bakteri miktarına ve bakteri türüne göre değişmekte olup, pozitiflik oranı %15-70 arasındadır^{1,4}. *Brucella*'nın retiküloendotelial sistemde görece olarak daha yüksek konsantrasyonda olması, kemik iliği kültürlerinde izolasyon şansını artırmaktadır. Ancak akut bruselloz

Tablo I. BCGT ile CAB Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması*

| | Coombs Anti-Brucella Testi (CAB) | | | | | | | | Toplam |
|--------|----------------------------------|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| | 0 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 | 1:2560 | |
| 0 | 45 | - | - | - | - | - | - | - | 45 |
| 1:40 | 1 | 14 | - | - | - | - | - | - | 15 |
| 1:80 | - | 3 | 5 | - | - | - | - | - | 8 |
| 1:160 | - | - | 1 | 6 | - | - | - | - | 7 |
| 1:320 | - | - | - | 5 | 2 | - | - | - | 7 |
| 1:640 | - | - | - | - | 7 | 2 | - | - | 9 |
| 1:1280 | - | - | - | - | 1 | 3 | 3 | - | 7 |
| 1:2560 | - | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 2 |
| Toplam | 46 | 17 | 6 | 11 | 10 | 5 | 4 | 1 | 100 |

* $\geq 1/160$ titreler pozitif, $\leq 1/80$ titreler düşük titre/negatif olarak değerlendirilmiştir.

Tablo II. BCGT ile ICA Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması*

| | Immunocapture Aglütinasyon Testi (ICA) | | | | | | | | | Toplam |
|--------|--|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 | 1:2560 | 1:5120 | |
| 0 | 39 | 6 | - | - | - | - | - | - | - | 45 |
| 1:40 | - | 6 | 9 | - | - | - | - | - | - | 15 |
| 1:80 | - | - | 4 | 3 | 1 | - | - | - | - | 8 |
| 1:160 | - | - | 1 | 2 | 4 | - | - | - | - | 7 |
| 1:320 | - | - | - | - | 4 | 2 | 1 | - | - | 7 |
| 1:640 | - | - | - | - | - | 3 | 5 | 1 | - | 9 |
| 1:1280 | - | - | - | - | - | - | 1 | 3 | 3 | 7 |
| 1:2560 | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 2 |
| Toplam | 39 | 12 | 14 | 5 | 9 | 5 | 7 | 4 | 5 | 100 |

* $\geq 1/160$ titreler pozitif, $\leq 1/80$ titreler düşük titre/negatif olarak değerlendirilmiştir.

Tablo III. Yöntemler Arasındaki Uyum (Kappa Analizi)

| Yöntemler | PKD | NKD | Doğruluk | Kappa* |
|--------------|-------|-------|----------|--------|
| CAB ile BCGT | 96.88 | 100.0 | 99.00 | 0.977 |
| ICA ile BCGT | 90.63 | 98.53 | 96.00 | 0.907 |
| CAB ile ICA | 93.33 | 95.71 | 95.00 | 0.887 |

* $\kappa = 0.81-0.99$, mükemmel uyum olarak değerlendirilmiştir¹⁰. CAB: Coombs anti-Brucella testi; BCGT: *Brucella* Coombs jel testi; ICA: *Immunocapture* aglütinasyon testi; PKD: Pozitif kestirim değeri; NKD: Negatif kestirim değeri.

olgularının %5-40'ında relaps geliştiğinden bu olgularda her zaman kültür pozitifliği olmayabilir^{1,4}. Bu durumda klinik bulgular ve serolojik testler önem arz eder⁵. Enfeksiyonun ilk haftasında serumda lipopolisakkarit (LPS) antijenlerine karşı IgM antikorları ortaya çıkmakta, bunu iki hafta içinde IgG antikorları takip etmektedir. Her iki tip antikor da dördüncü haftada en yüksek düzeye ulaşır. Buna karşın relaps sırasında serolojik değişikliğin oluşma zamanı hastadan hastaya değişmektedir.

Brucella aglütinasyon testleri, brusellozun serolojik tanısında önemli bir yer tutmaktadır. Rutin uygulamada, Rose Bengal testi ile pozitif bulunan örnekler tüp aglütinasyon ve dilüsyon deneyleri ile değerlendirilir^{4,5}. Standart tüp aglütinasyon (STA) testi tüm dünyada bruselloz tanısı için kullanılan en yaygın yöntemdir. Bu testte, bakterinin yüzeyindeki özellikle S-LPS'ye karşı oluşan total antikorlar saptanmaktadır. STA testinin dezavantajı, yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçların, yorumlamada sıkıntı yaratmasıdır. Yalancı pozitiflik, diğer gram-negatif bakterilerle çapraz reaksiyonlar nedeniyle ortaya çıkarken, yalancı negatiflik enfeksiyonun çok erken dönemine, blokan antikorların varlığına ya da prezon olayına bağlı olabilir. Bu durum, kompleman birleşmesi testi, 2-merkaptetanol testi, Coombs anti-Brucella (CAB) testi ve yakalamalı aglütinasyon (Immunocapture agglutination; ICA) testi ile giderilebilir. Yapılan çalışmalarda, ICA testinin CAB testi ile yüksek uyumluluk gösterdiği ve her iki yöntemin de STA testinden daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir¹¹⁻¹³. Serra ve arkadaşlarının¹⁴ çalışmasında da, brusellozun tanı ve takibinde CAB ile ICA testi arasında duyarlılık ve özgüllük açısından istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir. Bizim çalışmamızda, CAB testi ile pozitif ($\geq 1/160$) bulunan 31 ve düşük titre/negatif (0-1/80) bulunan 69 örnek diğer testlerle değerlendirildiğinde; STA ile yedi, ICA ile 30 ve BCGT ile 32 örnekte pozitif sonuç alınmıştır. Her üç yöntem ile de pozitif olarak saptanan örnek sayısı 28 olup, CAB ve BCGT pozitif iki örnekte ICA düşük titre/negatif; ICA ve BCGT pozitif bir örnekte CAB düşük titre/negatif; CAB ve BCGT düşük titre/negatif olan bir örnekte ise ICA pozitif bulunmuştur. STA testi ile alınan pozitif örnek sayısının çok düşük olması nedeniyle bu test istatistiksel olarak değerlendirme dışında bırakılmıştır. Diğer testler arasındaki uyum analizinde kappa değeri; CAB ile ICA için 0.887, CAB ile BCGT için 0.977, ICA ile BCGT için ise 0.907 olarak hesaplanmış ve tümü mükemmel uyum olarak değerlendirilmiştir¹⁰ (Tablo III).

Brucella Coombs jel testi (BCGT)'nin, ülkemizde geliştirilen ve ticari olarak kullanıma sunulan yeni bir test olması nedeniyle, yerli ve yabancı literatürde konu ile ilgili bir çalışmaya ulaşılamamış ve karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak Kocagöz'ün⁹ bir derleme yazısında, bu yöntemin Coombs'lu STA ile kıyaslandığı ve güvenilirliğinin kanıtlandığı (yayınlanmamış veri) ifade edilmektedir. Üretici firma tarafından verilen bilgilere göre; BCGT'nin *B.abortus*, *B.melitensis* ve *B.suis* ile reaksiyon verdiği, Coombs testi ile %99 uyumlu olduğu ve hem tarama hem de titrasyon amacıyla kullanılabilir hızlı ve ekonomik bir test olduğu belirtilmektedir¹⁵. Bizim yaptığımız bu ön çalışmada, BCGT yönteminin hem CAB hem de ICA testleriyle mükemmel uyum gösterdiği; testin uygulamasının pratik olduğu; iki saat gibi kısa bir zamanda sonuç verdiği ve değerlendirmenin görsel açıdan diğer yöntemlere göre daha kolay olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızın en önemli sınırlamaları, örnek sayısının kısıtlı olması ve kültür sonuçları ile karşılaştırmanın yapılamamış olmasıdır. Sonuç olarak, yeni bir yöntem olan BCGT'nin rutin tanı

laboratuvarlarında yerini alabilmesi için, özgüllük ve duyarlılığının kültürle doğrulanmış olgu ve kontrol gruplarını içeren geniş kapsamlı çalışmalarla ortaya konulması gerektiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005; 352(22): 2325-36.
2. Dean AS, Crump L, Greter H, Schelling E, Zinsstag J. Global burden of human brucellosis: a systematic review of disease frequency. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(10): e1865.
3. Dean AS, Crump L, Greter H, Hattendorf J, Schelling E, Zinsstag J. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(12): e1929.
4. Alışkan H. Kültür ve serolojik yöntemlerin insan brusellozu tanısındaki değeri. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42(1): 185-95.
5. Araj GF. Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36(Suppl 1): S12-7.
6. Orduña A, Almaraz A, Prado A, et al. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38(11): 4000-5.
7. Gomez MC, Nieto JA, Rosa C, et al. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15(6): 1031-3.
8. ODAK Brucella Coombs Gel Test. <http://www.toprakmedikal.com/urunler.aspx?id=4>
9. Kocagöz T. Türkiye’de mikrobiyoloji alanında bilime dayalı üretim. *ANKEM Derg* 2014; 28(Ek 2): 115-9.
10. Viera AJ, Garrett JM. Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Fam Med* 2005; 37(5): 360-3.
11. Casao MA, Navarro E, Solera J. Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis. *J Infect* 2004; 49(2):102-8.
12. Ardic N, Ozyurt M, Sezer O, Erdemoglu A, Haznedaroglu T. Comparison of Coombs’ and immunocapture-agglutination tests in the diagnosis of brucellosis. *Chin Med J (Engl)* 2005; 118(3): 252-4.
13. Özdemir M, Doğan B, Baysal B. Brusellozun serolojik tanısında yeni bir yöntem: İmmuncapture aglutinasyon testi. *Genel Tıp Derg* 2007;17(1): 9-13.
14. Serra J, Velasco J, Godoy P, Mendoza J. Can the Brucellacapt test be substituted for the Coombs test in the diagnosis of human brucellosis? *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19(5): 202-5.
15. Bruselloz ve Tanısı. <http://www.toprakmedikal.com/documents/Brucella.ppt>