

Dorota Lisik<sup>1</sup>, Beata Sobieszczęńska<sup>2</sup>

## ZASTOSOWANIE TESTU IMMUNOENZYMATYCZNEGO ELISA W SERODIAGNOSTYCE PRZEWLEKŁEJ BRUCELOZY

<sup>1</sup> Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Chorób Infekcyjnych we Wrocławiu

Dyrektor: J. Jerzak

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Mikrobiologii AM we Wrocławiu

Kierownik: A. Przondo-Mordarska

*W roku 1980 Polska została uznana za kraj wolny od brucelozy bydła. Od wielu lat nie stwierdza się zakażeń wywołanych przez *Brucella abortus* u osób mających kontakt z bydłem. Ze względu na przewlekły charakter brucelozy ludzi i związane z tą chorobą rozszczenia w zakresie choroby zawodowej, nierzadko stanowi ona problem diagnostyczny.*

### WSTĘP

Bruceloza ludzi (tzw. choroba Banga), której czynnikiem etiologicznym jest Gram-ujemna pałeczka *Brucella abortus*, jest chorobą odzwierzęcą, zaliczoną w 1956 r. do chorób zawodowych. Bruceloza dotyczy przede wszystkim pracowników służb weterynaryjnych, związanych z leczeniem i obsługą zwierząt, pracowników hodowli i przetwórci mięsnych (1, 2, 3). Do zakażenia człowieka *Brucella abortus* dochodzi najczęściej przez kontakt uszkodzonej skóry (rzadko błon śluzowych) z wodami płodowymi i płodami chorych zwierząt lub zakażonym mięsem (4, 5, 6).

W krajach Europy centralnej, dzięki efektywnej pracy służb weterynaryjno - epidemiologicznych, od kilkunastu lat nie obserwuje się brucelozy bydła, a tym samym świeżych zakażeń wśród ludzi (7, 8). Zgłaszają się natomiast do chwili obecnej dłużej pracownicy służb weterynaryjnych i osoby związane z hodowlą zwierząt, z objawami klinicznymi, mogącymi sugerować przewlekłe zakażenie brucelozą (9).

Podstawą rozpoznawania brucelozy, poza wywiadem epidemiologicznym i objawami klinicznymi, są badania serologiczne, pozwalające na wykrywanie przeciwciał pojawiających się w odpowiedzi na zakażenie przy zastosowaniu metod: aglutynacji, wiązania dopełniacza (OWD), odczynu Coombsa i śródskórnego testu alergicznego (odczyn Burneta), wykrywającego stan nadwrażliwości zakażonego organizmu na antygeny pałeczek *Brucella abortus* (10, 11). Odczyn aglutynacji (Wrighta) wykrywa aglutyniny, przeciwciała pojawiające się ok. 15 - 20 dnia choroby, a utrzymujące się przez kilka, a czasem kilkanaście lat. Odczyn Wrighta przeważnie wygasa w przebiegu przewlekłej brucelozy. Odczyn wiązania dopełniacza uważa się za dodatni już w rozcieńczeniu surowicy 1:3. Przeciwciała wykrywane tym odczynem pojawiają się później niż aglutyny-

niny i często są obecne w przewlekłej brucelozie. Odczyn Coombsa jest dodatni w rozcieńczeniu surowicy 1:25, a niekompletne przeciwciała wykrywane w tym odczynie mogą utrzymywać się dłużej i w wyższych mianach niż w odczynie aglutynacji. Odczyn skórno-alergiczyzny Burneta jest dodatni zarówno w ostrej jak i przewlekłej brucelozie oraz w przypadkach nie rozpoznanych klinicznie - ma więc dużą wartość diagnostyczną. Podobną wartość diagnostyczną ma odczyn opsono-fagocyтары Huddlesona (dodatni, gdy indeks > 20%).

Celem obecnej pracy była ocena przydatności immunoenzymatycznego testu ELISA w serodiagnostyce brucelozy u pracowników służb weterynaryjnych z objawami klinicznymi sugerującymi przewlekłą brucelozę.

### MATERIAŁ I METODY

Badana grupa obejmowała 15 osób w wieku 44 - 66 lat, byłych lub obecnych pracowników służb weterynaryjnych i pracowników rzeźni: 5 lekarzy weterynarii, 4 techników weterynaryjnych, 1 zootechnika, 2 rzeźników oraz 1 rolnika; 2 badane osoby nie były zawodowo związane z bydłem: 1 pracownik Zakładów Nasiennictwa i 1 kierowca przewożący bydło w latach 70-tych. Wszystkie badane osoby zgłosiły się do Poradni Chorób Odzwierzęcych przy Wojewódzkim Szpitalu Chorób Infekcyjnych we Wrocławiu, podając objawy kliniczne mogące sugerować przewlekłą brucelozę, ale bez udokumentowanych wyników badań serologicznych w kierunku brucelozy z przeszłości. Wykonane aktualnie badania w kierunku brucelozy: odczyn aglutynacji, OWD i odczyn Coombsa - były ujemne.

Druga grupa badana obejmowała 27 osób (w wieku 43 - 73 lata) związanych zawodowo z bydłem „bangowym”: 12 lekarzy weterynarii, 7 techników weterynaryjnych, 3 pracowników fizycznych (oborowych), 2 laborantów diagnozujących brucelozę u bydła, 3 rzeźników. U wszystkich 27 badanych, na podstawie wywiadu epidemiologicznego oraz badań serologicznych, wykazano w przeszłości zakażenie pałeczką *Brucella abortus*. Obecnie, tylko u 3 osób z tej grupy utrzymywały się dodatnie wyniki testów serologicznych (odczynu aglutynacji, OWD i/lub Coombsa). U pozostałych osób odczyny serologiczne wygasły i są obecnie ujemne. W tabeli I podano wyniki testów serologicznych badanej grupy.

We wszystkich badanych surowicach pacjentów obu grup wykonano oznaczenie swoistych przeciwciał klasy IgG dla *Brucella abortus* testem immunoenzymatycznym ELISA firmy Genzyme Virotech GmbH, Niemcy. Wyniki badania interpretowano na podstawie umownych jednostek VE (Virotech units): poniżej 9 VE - wynik ujemny, 9 - 11 VE - wynik wątpliwy, powyżej 11 VE - wynik dodatni. Wyniki oznaczenia przeciwciał IgG dla *Brucella abortus* w badanych surowicach przedstawiono w tabeli I.

Tab e l a I. Wyniki testu ELISA w grupie 27 osób, które przebyły potwierdzoną serologicznie brucellozę  
 Tab l e I. Present ELISA test result of 27 patients with serologically confirmed in the past brucellosis

Zawód	Liczba osób badanych	Odczyn							
		aglutynacji		OWD		Coombsa		ELISA	
		dodatni	ujemny	dodatni	ujemny	dodatni	ujemny	dodatni	ujemny
Lekarz weterynarii	12	10	2, 4, 6, 9, 12, 20, 21, 22, 25, 26, 27	2, 4, 9, 10	6, 12, 20, 21, 22, 25, 26, 27	2, 10, 22	4, 6, 9, 12, 20, 21, 25, 26, 27	2, 4, 6	9, 10, 12, 20, 21, 22, 25, 26, 27
Technik weterynaryjny	7	7, 11	5, 8, 13, 14, 17	7, 11	5, 8, 13, 14, 17	7, 11	5, 8, 13, 14, 17	5, 7	8, 11, 13, 14, 17
Pracownik fizyczny	3	1	15, 16	<b>1</b>	15, 16	1	15, 16	1	15, 16
Pracownik laboratoryjny	2	<b>3</b> , 24		3	24	<b>3</b> , 24		3	24
Pracownik rzeźni	3	18	19, 23	19	18, 23	18, 19	23		18, 19, 23
Razem	27	7	20	9	18	10	17	7	20

\* badane surowice oznaczone kolejnymi cyframi od 1 do 27

\*\* wytłuszczonym drukiem oznaczono surowice obecnie dodatnie w teście aglutynacji i/lub Coombsa, i/lub OWD (7, 1, 3)

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zespół objawów klinicznych, głównie uszkodzenia układów: kostno-stawowego o charakterze zwyrodnieniowym i wegetatywnego (osłabienie fizyczne, bóle głowy, nadmierna potliwość) oraz nerwów słuchowych, występowanie zespołów korzeniowych, objawy neurobrucelozy (stany depresyjne, nadpobudliwość), zmiany wątrobowe i dotyczące narządów płciowych, z jednej strony stanowią charakterystyczny zespół kliniczny, z drugiej, mogą również występować u wielu osób w podeszłym wieku, które nigdy nie miały kontaktu z bydłem (12, 13).

W grupie 27 badanych (tab. I) z potwierdzonym w przeszłości zakażeniem, u 7 (25,9%) osób wykazano obecność swoistych dla *Brucella abortus* przeciwciał klasy IgG, w tym u 4 osób z utrzymującymi się dodatnimi wynikami odczynów aglutynacji, OWD i/lub Coombsa. U pozostałych 19 (70,4%) osób nie wykazano przeciwciał IgG dla pałeczki Banga. W tej grupie badanych osób, test ELISA potwierdził utrzymujące się dodatnie wyniki badań serologicznych w 4 (14,8%) przypadkach, a ponadto wykazał obecność przeciwciał w surowicach 3 osób, w których odczyny aglutynacji, OWD i Coombsa są obecnie ujemne, co przemawia za nieco większą czułością testu immunoenzymatycznego. W 19 badanych surowicach test ELISA, podobnie jak i pozostałe odczyny serologiczne, nie wykazał obecności przeciwciał dla *Brucella abortus*, co wskazuje na prawie zupełne wygasanie humoralnej odpowiedzi immunologicznej (brak stymulacji antygenowej) po przebytej brucelozie.

W grupie 15 osób nie diagnozowanych w przeszłości w kierunku brucelozy i aktualnie serologicznie ujemnych (tab.I), nie wykazano również obecności swoistych przeciwciał klasy IgG w teście ELISA.

Ujemne wyniki odczynu aglutynacji, odczynu Coombsa i/lub OWD oraz brak swoistych przeciwciał klasy IgG dla *Brucella abortus* w teście ELISA nie wykluczają zakażenia pałeczką Banga, szczególnie u osób pracujących w przeszłości z bydłem (14). Wygasanie humoralnej odpowiedzi immunologicznej u osób zakażonych w przeszłości pałeczką *Brucella abortus* może być powodem nierozpoznawania przewlekłej brucelozy.

W rozpoznawaniu przewlekłej brucelozy - poza odczynami serologicznymi - duże znaczenie mogą mieć: wywiad epidemiologiczny, objawy kliniczne i odczyn Burneta (obecnie brakuje w kraju diagnostycznej bruceliny). U części osób zakażonych w przeszłości tylko udokumentowana wieloletnia praca z bydłem w okresie powojennym w tzw. izolatoriach bangowych, może wskazywać na obecność u chorego przewlekłej brucelozy. Przypadki takie stwarzają problemy diagnostyczne, ponieważ ujemne wyniki testów serologicznych teoretycznie wykluczają brucelozę.

## WNIOSEK

Test ELISA jest odczynem uzupełniającym diagnostykę serologiczną w przypadkach przewlekłej brucelozy.

*D Lisik, B Sobieszczęńska*

## IMMUNOENZYMATIC TEST ELISA IN SERODIAGNOSIS OF CHRONIC BRUCELLOSIS

### SUMMARY

Though the acute *Brucella abortus* infections among cattle and humans are not observed farm and veterinary service long standing workers have been still appearing with clinical symptoms resembling chronic brucellosis.

The aim of the study was to evaluate usefulness of immunoenzymatic enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in serodiagnosis of chronic brucellosis. Among 27 patients with chronic and in the past serologically confirmed brucellosis in seven (25,9%) the presence of specific IgG anti-*Brucella* antibodies by ELISA was showed. Among all 15 patients presenting with clinical symptoms suggesting brucellosis and never serologically diagnosed presence of specific IgG antibodies to *Brucella abortus* by ELISA was not detected. Obtained results confirmed that humoral immunological response in patients infected in the past is running out and serological tests detecting specific antibodies in chronic brucellosis are useless.

The ELISA test is an additional test in serological diagnosis of brucellosis.

### PIŚMIENNICTWO

1. Horban A, Cholewińska G, Baka M. i in. Ocena przydatności rutynowych badań serologicznych w rozpoznawaniu brucellozy u ludzi w aktualnej sytuacji epidemiologicznej. *Przeegl Epidemiol* 1986; 40: 376-80.
2. Seroka D. Brucelloza w 1991 r. *Przeegl Epidemiol* 1993; 47: 157-9.
3. Seroka D, Reizer A. Brucelloza-1989 rok. *Przeegl Epidemiol* 1991; 45: 109-11.
4. Królak M. Sytuacja epizootyczna Brucellozy w Polsce w aspekcie zagrożenia dla ludzi. *Przeegl Epidemiol* 1988; 42: 360-3.
5. Seroka D. Brucelloza w 1996 roku. *Przeegl Epidemiol* 1994;48: 143-4.
6. Seroka D, Seroka W. Epidemiologiczna analiza przypadków brucellozy ludzi rejestrowanych w Polsce. *Przeegl Epidemiol* 1993; 47: 393-8.
7. Anusz Z. Brucelloza i inne choroby odzwierzęce - 1983 rok. *Przeegl Epidemiol* 1985; 39: 157-65.
8. Seroka D. Brucelloza-1990 rok. *Przeegl Epidemiol* 1992; 46: 123-5.
9. Seroka D. Brucelloza w 1996 roku. *Przeegl Epidemiol* 1998; 52: 129-32.
10. Seroka D, Reizer A. Brucelloza-1987 rok. *Przeegl Epidemiol* 1989; 43: 102-6.
11. Stojek N. Próba zastosowania testu ELISA do diagnostyki brucellozy u ludzi. *Med. Wet* 1997; 53: 93-4.
12. Nenycz-Grabiec Z, Biernacka M, Czepita D. Udział narządu wzroku w przewlekłej brucellozie. *Przeegl Epidemiol* 1987; 41: 413-5.
13. Nenycz-Grabiec Z, Fabian F. Zmiany neurologiczne w przewlekłej brucellozie. *Przeegl Epidemiol* 1987; 41: 418-23.
14. Seroka D, Reizer A. Brucelloza - 1988 roku. *Przeegl Epidemiol* 1990; 44: 115-8.

### Adres autorek:

Dorota Lisik  
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Chorób Infekcyjnych  
ul. Koszarowa 5, 51-149 Wrocław