

Bruceloza – zoonoza o światowym zasięgu

Lidia Mizak, Romuald Gryko, Sylwia Parasion, Magdalena Kwiatek

z Ośrodka Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Puławach

Bruceloza (*brucellosis*, *abortus epizooticus*) jest zakaźną i zaraźliwą chorobą o dużym znaczeniu ekonomicznym i epidemiologicznym, znaną na świecie pod różnymi nazwami: gorączka maltańska, gorączka śródziemnomorska, gorączka gibraltarska, gorączka falująca, choroba Banga, ronienie zakaźne. Wywołują ją wewnątrzkomórkowe Gram-ujemne bakterie z rodzaju *Brucella*, na które wrażliwe są wszystkie gatunki zwierząt gospodarskich, domowych, dzikich oraz człowiek (1). Rodzaj *Brucella* należy do rzędu Rhizobiales podporządkowanemu klasie Alphaproteobacteria. Liczy on obecnie dziesięć gatunków: *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. melitensis*, *B. canis*, *B. neotomae*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti*, *B. microti* oraz *B. inopinata*. Niektóre gatunki *Brucella* zawierają biowary. Pięć biowarów odnotowano u *B. suis*, trzy u *B. melitensis*, a dziewięć u *B. abortus*.

Większość gatunków *Brucella* posiada ograniczoną liczbę żywicieli. *Brucella abortus* zazwyczaj powoduje brucelozę u bydła, żubrów (*Bison* spp.), bawołów (*Bubalus bubalus*, *Syncerus caffer*), dzików, łosi i wielbłądów. Owce i kozy są żywicielami dla *B. melitensis*. Owce są także gospodarzem dla gatunku *B. ovis* powodującego nieplodność u baranów. Ponadto *B. ovis* występuje u hodowlanego jelenia (*Odocoileus virginianus*) w Nowej Zelandii. *Brucella canis* powoduje chorobę prawie wyłącznie u psów, *B. neotomae* stwierdzono u gryzoni a *B. microti* izolowano

od nornic. Obecność *B. ceti* stwierdzono u waleni (wieloryby, morświny i delfiny), a *B. pinnipedialis* u płetwonogich (foki, lwy morskie), natomiast *B. inopinata* została wyizolowana od kobiety przy zakażeniu implantów piersi (2, 3, 4). *Brucella suis* w zależności od biowaru posiada szerszą specyficzność gospodarza. Biowary 1 i 3 występują u udomowionych świń (*Sus scrofa domestica*) oraz dzików (*Sus scrofa scrofa*). Biowar 2 spotyka się głównie u dzików i zajęcy europejskich (*Lepus capensis*), jednak biowar ten może być przenoszony na udomowione świnię, gdzie łatwo rozprzestrzenia się w stadach. Biowar 4 powoduje zakażenia u karibu i reniferów (*Rangifer tarandus*) oraz ich różne podgatunki), rzadko u świń. Biowar 5 występuje u małych gryzoni. Sporadycznie zgłaszane są infekcje spowodowane pałeczkami *Brucella* u wielu gatunków, w tym koni, kozic, koziorożców alpejskich, szopów, oposów, kojotów, lisów i wilków.

Dla człowieka patogenne są cztery gatunki: *B. melitensis*, *B. suis* (biowary 1, 3 i 4 rzadko biowar 2), *B. abortus* i *B. canis*. Głównym źródłem zakażenia dla człowieka są chore zwierzęta, ich wydzieliny i wydaliiny (krew, mleko, płód, łożysko i wody płodowe; 1, 3, 5, 6, 7). Bruceloza jest typową chorobą zawodową osób związanych z rolnictwem czy hodowlą zwierząt gospodarskich (rolników, lekarzy weterynarii, pracowników rzeźni i laboratorium) narażonych na aerolizację. W Polsce zgodnie z art. 41. ust. 1 ustawy z 11 marca 2004 r.

Brucellosis – a worldwide zoonosis

Mizak L., Gryko R., Parasion S., Kwiatek M.,
Biological Threat Identification and
Countermeasure Center MIHE, Puławy

This article aims at the presentation of one of the most important zoonotic diseases. Brucellosis is a zoonosis affecting livestock and humans in many parts of the world, especially in the Mediterranean region of Europe, North and East Africa, the Middle East, South and Central Asia and Central and South America. *Brucellae* are facultative intracellular, Gram-negative coccobacilli that lack capsule, flagella and endospore. The genus *Brucella* comprises a group of closely related bacteria. The species *B. melitensis* (which infects sheep and goats), *B. suis* (swine), *B. abortus* (cattle) and *B. canis* (dogs), cause significant economic losses for animal owners and are also responsible for severe disease if infect humans accidentally. The disease is regarded as an occupational risk for exposed professions – veterinarians, farmers, laboratory technicians, abattoir workers and others, working with animals and their products. The zoonotic pathogens *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis* were designated as selected agents of category B by the Centre for Disease Control in Atlanta, USA.

Keywords: brucellosis, bio-and agroterrorism, clinical forms of the disease.

o ochronie zdrowia zwierząt i zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, bruceloza bydła, kóz, owiec i świń podlega obowiązkowi zwalczania, w związku z czym w przypadku podejrzenia wystąpienia tej choroby zakaźnej właściciel zwierząt jest obowiązany do niezwłocznego zawiadomienia o tym organu Inspekcji Weterynaryjnej albo najbliższego podmiotu świadczącego usługi z zakresu weterynarii lub władze gminy. Obecnie Polska jest uznana za kraj wolny od brucelozy, ale wiele ludzi nadal cierpi na przewlekłą postać tej choroby (8).

Bioterroryzm i agroterroryzm

Wśród 10 gatunków pałeczki *Brucella* tylko 4 są patogenne dla ludzi, a ostrą postać choroby najczęściej powodują dwie: *B. melitensis* i *B. suis* (1, 5, 9, 10, 11). Według Centrum Zwalczenia i Zapobiegania Chorobom (Centers for Disease Control and Prevention – CDC), które dokonało podziału niebezpiecznych czynników biologicznych na trzy kategorie, drobnoustroje te należą do kategorii B – patogeny najwyższego priorytetu drugiego rzędu o umiarkowanej łatwości rozsiewaniu i o umiarkowanej zachorowalności i umieralności, ale wymagające wzmoczonego nadzoru. Bakterie te są wysoce zakaźne w postaci aerozolu, od 10 do 100 bakterii wystarczy, aby spowodować chorobę u ludzi (12). Centrum to uważa, że brucelozę jest mniejszym zagrożeniem niż wąglik czy ospa, jej okres inkubacji jest dość długi, wiele zakażeń przebiega bezobjawowo, a śmiertelność jest niska. Jednakże może ona być stosowana jako środek obezwładniający, gdyż często powoduje u ludzi przewlekłą chorobę. Pałeczki *Brucella* spp. są odporne na działanie czynników środowiska zewnętrznego (woda, gleba, niskie temperatury) i długo mogą przeżywać w mokrej ziemi lub żywności. Te cechy sprawiają, że stanowią potencjalny czynnik bioterrorystyczny (13). Pomimo niskiej śmiertelności oraz podatności na działanie promieni słonecznych, drobnoustrojów dosyć łatwo namnaża się i jest tani w produkcji. Atak z użyciem *Brucella* spp. może być również przyczyną poważnych epidemii w populacji ludzi (12, 14). Hasło „*Brucella*” było wojskowym kryptonimem w armii Stanów Zjednoczonych, dotyczącym badań nad zastosowaniem tego mikroorganizmu jako broni biologicznej. W 1951 r. armia amerykańska rozpoczęła produkcję pałeczek *B. suis* i *B. melitensis*, a w 1954 r., na poligonie doświadczalnym, Amerykanie testowali na zwierzętach metody rozpraszania żywych pałeczek ronięcia świń (12). Do 1955 r. produkowano bomby klasterowe zawierające ten drobnoustroj dla oddziałów Air Force w Pine Bluff w Arkansas. Program zatrzymano w 1967 r. Zgromadzone zapasy pałeczek *Brucella* przeznaczone do celów bojowych zniszczono w 1969 r. Oprócz ryzyka zastosowania tych bakterii, jako patogenu broni biologicznej, istnieje możliwość użycia tych drobnoustrojów jako narzędzia agroterroryzmu przeciwko zwierzętom hodowlanym oraz bezpośrednio przeciwko ludziom. Zagrożenie wynikające z agroterroryzmu może polegać na celowym manipulowaniu lub zanieczyszczeniu dostaw żywności z zamiarem negatywnego wpływu na życie społeczne, gospodarcze, fizyczne i psychiczne społeczeństwa. Celem mogą być zwierzęta gospodarskie (bydło, trzoda

chlewna, owce, konie, drób i ryby), uprawy polowe oraz magazyny przetworzonej żywności (15). Kraje wolne od brucelozy zwierząt mogą być narażone na poważne straty gospodarcze z powodu celowego wprowadzenia brucelozy do stad bydła, kóz, owiec lub hodowli świń.

Epidemiologia

Brucelozę występuje na wszystkich kontynentach u ludzi oraz zwierząt, zarówno u reniferów na Alasce i Syberii, u wielbłądów na Bliskim Wschodzie czy u bydła, świń, kóz i owiec na całym świecie (1, 3, 5, 6, 7, 10). W ciągu ostatnich pięćdziesięciu lat z powodu różnych czynników sanitarnych, społeczno-gospodarczych, warunków politycznych, wraz ze wzrostem przewozów międzynarodowych i migracji ludności, występowanie brucelozy uległo zmianie. Pomędzy poszczególnymi krajami i regionami świata istnieją duże różnice dotyczące występowania poszczególnych gatunków z rodzaju *Brucella*.

Brucella abortus występuje na całym świecie w regionach hodowli bydła, z wyjątkiem Japonii, Kanady, niektórych krajów europejskich, Australii, Nowej Zelandii i Izraela, gdzie została zwalczona. Zakażenia wywołane przez *B. melitensis* występują powszechnie w basenie Morza Śródziemnego, na Bliskim Wschodzie, w Indiach, Azji Środkowej, wokół Zatoki Perskiej, w Meksyku i Ameryce Środkowej i Południowej, podczas gdy w Europie Północnej, Australii, USA, Kanadzie, Azji Południowo-Wschodniej i Nowej Zelandii, dzięki programom kontroli stad bydła, choroba ta występuje rzadko. *Brucella ovis* występuje u owiec w Australii, Nowej Zelandii, Ameryce Północnej i Południowej, Afryce Południowej i wielu krajach Europy (16). W przeszłości *B. suis*, zwłaszcza biowary 1 i 3, była rozpowszechniona na całym świecie. Ten mikroorganizm został zwalczony u udomowionych świń w USA, Kanadzie i wielu krajach europejskich. Gatunek ten występuje nadal u udomowionych stadach w niektórych krajach Ameryki Południowej i Środkowej (w tym w Meksyku) oraz w Azji. Biowar 2 występuje u dzików w dużej części Europy. Biowar 4 ograniczony jest do regionów arktycznych Ameryki Północnej i Rosji, w tym Syberii, Kanadzie i na Alasce. Biowar 5 znajduje się na terenach byłego ZSRR. *Brucella canis* notowany jest w większości krajów na świecie, jednak Nowa Zelandia i Australia wydają się wolne od tego mikroorganizmu. *Brucella ceti* i *B. pinnipedialis* występują w populacji morskich ssaków. Bakteriologicznie dodatnie lub seropozytywne zwierzęta zostały wykryte w północnej części Oceanu Atlantyckiego, w Morzu Śródziemnym i Arktyce, w tym na Morzu Barentsa.

Zakażone zwierzęta morskie stwierdzono również wzdłuż wybrzeży Atlantyku i Pacyfiku, w Ameryce Północnej wzdłuż wybrzeży Peru, Australii, Nowej Zelandii, na Hawajach, na Wyspach Salomona oraz w Arktyce (17).

W Europie występowanie brucelozy jest bardzo zróżnicowane. W kwietniu 2013 r. został opublikowany w wersji elektronicznej doroczny raport Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), dotyczący występowania w 2011 r. chorób odzwierzęcych (zoonoz) u ludzi oraz ich czynników etiologicznych, zarówno u ludzi, jak i w obszarze weterynaryjnym; (18). W 2011 r. 26 państw członkowskich UE przekazało informacje na temat występowania brucelozy u ludzi. W dziesięciu krajach (Cypr, Czechy, Estonia, Finlandia, Węgry, Łotwa, Litwa, Malta, Polska i Słowacja) oraz w Islandii nie stwierdzono żadnego potwierdzonego klinicznie przypadku brucelozy u ludzi. W 2011 r. w Europie odnotowano 330 potwierdzonych laboratoryjnie zachorowań ludzi na brucelozę. Zoonoza ta obecnie jest na 10 miejscu pod względem liczby przypadków, średni współczynnik zapadalności wynosi 0,07/100 000 mieszkańców. Najwięcej zakażonych ludzi stwierdzono w Grecji, Portugalii i Hiszpanii, co stanowiło 63,9% wszystkich potwierdzonych przypadków brucelozy w 2011 r. (średni współczynnik zapadalności wynosi odpowiednio 0,81; 0,71; 0,09 na 100 000 mieszkańców). Spośród wszystkich potwierdzonych przypadków brucelozy u ludzi 60,8% było wywołanych przez *B. melitensis*, 21,6% przez *B. abortus*, pozostałe 17,6% przez inne gatunki *Brucella* (z wyjątkiem zakażeń *B. suis*, gdzie nie stwierdzono zgłoszeń). Zgodnie z wytycznymi unijnymi w 2011 r. 15 krajów członkowskich UE (Austria, Belgia, Czechy, Dania, Finlandia, Estonia, Francja, Holandia, Irlandia, Luksemburg, Niemcy, Polska, Słowacja, Słowenia i Szwecja) oraz Norwegię i Szwajcarię uznano za wolne od brucelozy. W latach 2009–2011 nastąpiła w krajach UE tendencja spadkowa zakażeń pałeczkami *Brucella*. Szczyt zachorowań nastąpił w 2008 r., gdzie w Grecji, na wyspie Thassos, na brucelozę zachorowało 98 osób. Prawdopodobnie było to spowodowane spożyciem produkowanego lokalnie surowego sera.

Charakterystyka pałeczek *Brucella*

Gatunki z rodzaju *Brucella* należą do mikroskopijnej wielkości (od 0,5 do 1,5 µm) Gram-ujemnych bakterii, o kształcie zaokrąglonym, wyglądzie ziarniakopałeczek i pałeczek ułożonych pojedynczo, rzadziej parami lub w krótkie łańcuszki. Nie posiadają otoczek, są nieurzęsione, nie mają zdolności ruchu i nie wytwarzają

przetrawników. Zarazki te wytwarzają katalazę i oksydazę cytochromową. Większość szczepów szybko hydrolizuje mocznik (ureaza). Mikroorganizmy te barwią się standardowymi metodami. Pałeczki *Brucella* w odróżnieniu od innych bakterii Gram-ujemnych, mają odmienną budowę lipopolisaccharydu (LPS), różnica dotyczy samego lipidu A, zawierającego więcej fosfolipidów, przez co wykazują odporność na odbarwianie słabymi kwasami. Dobrze wybarwiają się na czerwono metodą Macchiavello lub zmodyfikowaną metodą Ziehl-Neelsena (17).

Wszystkie *Brucella* spp. funkcjonują jako fakultatywne wewnątrzkomórkowe pasożyty. W warunkach dużej wilgotności, przy niskich temperaturach i braku światła słonecznego, drobnoustroje te mogą przetrwać do kilku miesięcy w wodzie, w poronionych płodach, oborniku, wełnie, sianie, na skażonym sprzęcie i ubraniach. W obecności materiału organicznego pałeczki *Brucella* wytrzymują wysuszenie i mogą przeżyć w glebie lub pyłe przez kilka miesięcy. Mikroorganizmy te zabijają suche gorące powietrze (160–170°C przez co najmniej 1 godzinę), autoklawowanie przez co najmniej 15 minut oraz gotowanie przez co najmniej 10 minut. Pałeczki te wykazują wrażliwość na promieniowanie gamma i proces pasteryzacji (6, 7, 8, 17). Gatunki *Brucella* mogą być inaktywowane przez promieniowanie gamma (np. w siarce) i proces pasteryzacji. Drobnoustroje te są również wrażliwe na środki odkażające, w tym roztwór podchlorynu sodu, 70% etanol, izopropanol, jodofory, formaldehyd, aldehyd glutarowy i ksylen, jednak materiał organiczny i niskie temperatury zmniejszają skuteczność tych substancji. Do dezynfekcji powierzchni zaleca się: 2,5% podchloryn sodu, 2–3% sodę kaustyczną, 20% zawiesinę świeżo gaszonego wapna lub 2% roztwór formaldehydu (przez 1 godzinę). Natomiast do odkażania zanieczyszczonej skóry z powodzeniem mogą być stosowane: etanol, izopropanol, jodofory, podstawione fenole lub rozcieńczone roztwory podchlorynu. Ksylen (1 ml/litr), cyjanamid wapnia (20 kg/m³) są polecane do odkażania gnojowicy (19).

Obraz choroby u ludzi

Bruceloza jest chorobą przewlekłą i wyniszczającą. U ludzi wywołują ją głównie: *B. melitensis* jako najbardziej patogenny gatunek, miejsce pośrednie zajmuje *B. suis*, zaś *B. abortus* i *B. canis*, wywołują najłagodniejszą odmianę brucelozy (1, 3, 4, 10). Ludzie mogą zarazić się na trzy sposoby: przez spożywanie pokarmów i picie napojów zawierających bakterie *Brucella* (szczególnie niepasteryzowane mleko i ser mięski), wdychając zarazki w postaci aerozolu

lub gdy bakterie dostają się do organizmu przez uszkodzoną skórę. Odnotowano również przypadki transmisji pałeczek *B. melitensis* z człowieka na człowieka w wyniku transfuzji krwi, przeszczepu szpiku kostnego, a także podczas kontaktów seksualnych między zakażonymi pracownikami laboratorium i ich współmałżonkami. Zdarzają się także wrodzone zakażenia noworodków spowodowane transmisją poprzez łożysko lub po spożyciu zakażonego mleka. Do zakażenia może również dojść w trakcie porodu, jeśli dziecko jest narażone na działanie drobnoustrojów obecnych we krwi matki, w moczu lub kale. U dzieci z wrodzoną brucelozą występuje niska waga urodzeniowa, zatrzymanie rozwoju fizycznego, żółtaczką, gorączką, powiększenie wątroby i śledziony. U niektórych noworodków zarażonych brucelozą może występować ciężka niewydolność oddechowa, niedociśnienie tętnicze, wymioty, a także objawy posocznicy (11, 17, 20).

Przebieg zakażenia zależy od biotypu bakterii powodującej chorobę oraz miejsca wnikięcia bruceli do organizmu. Po wnikięciu do organizmu gospodarza brucelle są fagocytowane przez komórki układu odpornościowego (głównie makrofagi). W przeciwieństwie do innych zakażeń sfagocytowane brucelle nie ulegają zniszczeniu, lecz namnażają się wewnątrz makrofaga, po czym trafiają do węzłów chłonnych, a następnie przewodem piersiowym do krwi i narządów miękkich oraz stawów. Okres inkubacji choroby jest bardzo zmienny i wynosi od 5 dni do kilku miesięcy, jednak u większości pacjentów objawy choroby pojawiają się w ciągu dwóch do czterech tygodni po ekspozycji. Bruceloza jest zakażeniem ogólnoustrojowym, które może dotyczyć dowolnego narządu lub układu narządów (1, 5, 6, 10). W przypadku ostrej postaci choroby, czas trwania objawów klinicznych może się wahać od kilku tygodni lub miesięcy do okresowych nawrotów nawet przez kilka lat. Charakterystyczną cechą u wszystkich pacjentów jest występowanie nieregularnej gorączki o zmiennej długości (gorączka falująca). Ostra postać zakażenia (<8 tyg. od początku choroby) charakteryzuje się nieswoistymi lub grypopodobnymi objawami, obejmującymi gorączkę, poty nocne, osłabienie, złe samopoczucie, bóle mięśniowe, bóle głowy, stawów i pleców. Ze strony układu pokarmowego u osób dorosłych, rzadziej u dzieci, występuje brak łaknienia, nudności, wymioty, biegunka, zaparcia oraz utrata masy ciała. U około 15–25% zakażonych osób pojawia się kaszel i ból w klatce piersiowej. Występuje powiększenie węzłów chłonnych, wątroby i śledziony. Powikłania obejmujące kości i stawy (zesztywniające zapalenie stawów kolan i skokowych) obserwowane są

u 20–60% pacjentów z klinicznymi objawami brucelozy (5, 6, 10, 21). Najczęstszymi powikłaniami choroby są: zapalenie wsierdza, zmiany skórne, zapalenie nerek oraz zapalenie jąder i najądrzy, które mogą prowadzić do niepłodności. Powikłania neurologiczne występują w 5% przypadków (obejmują one zmiany osobowości, zapalenie opon mózgowych, neuropatie obwodową, zapalenie błony naczyniowej oka i zapalenie nerwu wzrokowego). Bruceloza rzadko kończy się zgonem, u osób nieleczonych śmiertelność waha się w granicach 2 do 5%. Zgony są zwykle spowodowane zapaleniem wsierdza lub zapaleniem opon mózgowych (1, 5, 7, 10).

Leczenie

Światowa Organizacja Zdrowia w przypadku ostrej brucelozy dorosłych zaleca leczenie doksycykliną (2 do 4 mg/kg m.c. na dzień, maksymalnie 200 mg/dziennie, w dawkach podzielonych oraz ryfampicyną (15 do 20 mg/kg m.c. dziennie, w 1 lub 2 dawkach podzielonych, maksymalnie 600 do 900 mg/dziennie) przez okres sześciu tygodni. Z powodu potencjalnego pojawienia się antybiotykooporności monoterapia ryfampicyną nie jest zalecana. Dla dzieci poniżej 8 roku życia, zaleca się trimetoprim i sulfametoksazol (trimetoprim 10 mg/kg m.c. na dzień, maksymalnie 480 mg/dziennie, a sulfametoksazol 50 mg/kg m.c. na dzień, maksymalnie 2,4 g/dziennie) przez cztery do sześciu tygodni (22).

Aby zmniejszyć częstość nawrotów choroby u osób dorosłych, wielu ekspertów zaleca terapię skojarzoną: potrójną (doksycyklina + ryfampicyna + aminoglikozyd) albo podwójną (doksycyklina + aminoglikozyd lub doksycyklina + ryfampicyna, lub chinolon + ryfampicyna).

Nawroty choroby nie są wynikiem rozwoju antybiotykooporności, ale raczej przedwczesnego przerwania antybiotykoterapii.

Obraz choroby u zwierząt

Do naturalnego zakażenia pałeczkami z rodzaju *Brucella* u zdrowych zwierząt dochodzi najczęściej poprzez: kontakt z zakażonymi lub chorymi osobnikami, spożycie zanieczyszczonej bakteriami paszy, spożycie błon płodowych lub kontakt z płodem pochodzącym od zwierząt zakażonych. Do zakażenia może dojść także podczas krycia, jak i zabiegów unasienniania. U zwierząt drobnoustroje te powodują przewlekły stan zapalny, prowadzący najczęściej do zaburzeń w funkcjonowaniu układu rozrodczego u obu płci, w efekcie czego dochodzi do poronień, patologii płodu, zapalenia jąder, najądrzy, węzłów chłonnych i bezpłodności. Typowe dla brucelozy są

również zapalenia stawów, najczęściej stawów kończyn (15, 20, 21, 22, 23). Pałeczki *Brucella*, szczególnie *B. suis*, cechuje osteotropizm, przez co proces chorobowy rozwija się w kościach, a następnie w stawach kończyn, prowadząc do kulawizny, porażeni i obrzęków. W wielu przypadkach brucelloza ma charakter bezobjawowy (15, 21, 23). Zwierzęta drapieżne są odporne na zakażenie brucelami, jednak mogą stanowić wektor rozprzestrzeniania się choroby (2, 16).

Brucelloza u bydła

U bydła najważniejszym objawem zakażenia *B. abortus* są roniecia i rodzenie martwych płodów. Poronienia występują przeważnie pomiędzy 5 a 8 miesiącem ciąży. Po pierwszym poronieniu kolejne ciąży są zazwyczaj donoszone, jednak cielęta są słabsze i bardziej wrażliwe na chorobę. W przypadkach poronień pojawia się obrzęk warg sromowych, zaczerwienienie błony śluzowej oraz śluzowaty wyciek z pochwy. Wody płodowe są mętne, brudnoczekoladowe, błony płodowe są obrzękłe, przekrwione, galaretowate, pokryte włóknikiem lub śluzowo-ropnym wysiękiem, występując w nich liczne wybroczyny oraz szarozółte ogniska martwicze. U poronionych płodów na błonach śluzowych trawieńca, pęcherza moczowego i pod błonami surowiczymi występują wybroczyny. W wątrobie, śledzionie i węzłach chłonnych mogą pojawiać się ogniska martwicze. U nieciężarnych samic, zakażenia są zazwyczaj bezobjawowe. U zakażonych buhajów może dojść do zapalenia najądrza, zapalenia i ropni jąder. Sporadycznie u obu płci, z powodu zapalenia jajowodów i macicy lub zapalenia jąder i najądrzy, występuje niepłodność. Przy długotrwałych zakażeniach może dojść do zapalenia stawów. W zakażeniach bez powikłań nie występują objawy ogólnoustrojowe, a poronienia i padnięcia noworodków są sporadyczne. Podobne objawy występują u innych przeżuwaczy, w tym u wielbłądów, żubrów i bawołów (20, 22, 23).

Brucelloza u owiec i kóz

U tych gatunków zwierząt *B. melitensis* wywołuje głównie roniecia i zapalenie wymion, natomiast bardzo rzadko powoduje zapalenie jąder u kozłów. Zakażenie zwykle następuje drogą doustną oraz przez drogi nosowe, rzadziej przez uszkodzoną skórę. Po wnikięciu do organizmu drobnoustroje przedostają się do węzłów chłonnych i wraz z krwią, są przenoszone do narządów wewnętrznych. U ciężarnej samicy zarazki umiejscawiają się w łożysku, gdzie powodują stan zapalny, prowadzący do upośledzenia odżywiania płodu

i w konsekwencji do poronienia bądź urodzenia słabego potomstwa. Głównymi objawami choroby są poronienia, stwierdzone u 5–10% ciężarnych samic, oraz stany zapalne wymion. Poronienia u owiec i kóz występują głównie w 3–4 miesiącu ciąży. Po poronieniu pałeczki *Brucella* umiejscawiają się w węzłach chłonnych wymienia lub w samym wymieniu, gdzie pozostają przez wiele miesięcy, a nawet lat. U owiec odsetek poronień jest niższy niż u kóz. U niektórych osobników stwierdza się jedynie wycieki z dróg rodnych, jako kliniczny objaw zakażenia. Często obserwuje się łagodne zapalenie wymienia oraz pogorszenie kondycji, sporadycznie występuje zapalenie rogówki, stawów i oskrzeli, a u samców zapalenie jąder. Ostre zapalenie jąder i najądrzy u samców prowadzi do bezpłodności. Zakażenia u nieciężarnych owiec i kóz są zazwyczaj bezobjawowe (15, 16, 17, 19, 20).

Brucella ovis jest przyczyną bezpłodności u samców owiec. Organizm ten może powodować u baranów jednostronne lub obustronne zapalenie najądrzy oraz zapalenie jąder. Początkowo występuje słaba jakość nasienia, później wyczuwalne zmiany pojawiają się w najądrzach i mosznie. Może również dojść do zaniku jąder. Niektóre barany mogą przechodzić zakażenie *B. ovis* bez objawów klinicznych. U samic poronienia i śmiertelność okołoporodowa są rzadkie. U zakażonych jeleni notowano obniżenie jakości nasienia byków, natomiast nie obserwuje się ronień u łań (15, 17, 20).

Brucelloza u świń

Zakażenie *B. suis* jest przyczyną długotrwałej bakteriemii u świń. Podczas zakażenia lokalizacja tego drobnoustroju może zmieniać się, podobnie jak i objawy kliniczne. Najczęstszymi objawami są roniecia, które mogą pojawić się w dowolnym momencie ciąży oraz rodzenie słabych lub martwych prosiąt. Podobnie jak u krów, przy ronieciach wody płodowe są mętne, o brunatnoczekoladowej barwie. Błony płodowe są zgrubiałe i pokryte wybroczynami. Kosmki wykazują ogniska martwicze. Ogniska takie mogą występować także w macicy. Poronienia występujące na początku ciąży są niezauważalne, upławy są minimalne, a brak potomstwa często mylony jest z bezpłodnością. U knurów może występować przejściowe lub długotrwałe zapalenie jąder, prowadzące do bezpłodności. Czasami knury przechodzą zakażenie bezobjawowo, wydalając brucelle z nasieniem. Innymi objawami brucellozy pojawiającymi się u obu płci są: obrzęk stawów i ścięgien z towarzyszącą im kulawizną, brak koordynacji ruchów, porażenia, zeszywniające zapalenie stawów

kręgosłupa i ropnie w różnych narządach. *Brucella suis* biowar 2 wywołuje zakażenia u zajęcy i charakteryzuje się występowaniem ropnych guzków w narządach wewnętrznych, szczególnie w narządach rozrodczych, jak również w tkance podskórnej i w mięśniach. *Brucella suis* biowar 4 może powodować poronienia, zatrzymanie łożyska, zapalenie macicy i zapalenie gruczołów mlecznych u karibu i reniferów. U samców może dojść do zapalenia jąder. U obu płci mogą występować zapalenia stawów, zapalenia kaletki maziowych, a także zapalenia pochewek ścięgowych oraz ropnie podskórne (4, 23).

Brucelloza u psów

Brucelloza psów może mieć postać subkliniczną lub kliniczną, charakteryzującą się zarówno objawami swoistymi, jak i mało swoistymi. Wiele z zakażonych zwierząt nie wykazuje żadnych symptomów choroby, jednak nosiciele przez wiele miesięcy mogą zakażać inne zwierzęta. Objawy kliniczne zasadniczo występują u psów dojrzałych płciowo i dotyczą przede wszystkim narządów rozrodczych. Psy są podatne na zakażenia *B. melitensis*, *B. abortus* i *B. suis*, ale główną przyczyną ronień jest *B. canis*. U psów roniecia występują w ostatnim trymestrze ciąży (siódmy do dziewiątego tygodnia ciąży), ale notowano je również przy ciążach 2–3 tygodniowych. U poronionych, martwych i uległych częściowej autolizie płodów, stwierdza się obrzęk tkanki podskórnej brzucha oraz liczne wybroczyny. Po poronieniach u suk pojawiają się długotrwałe (1–6 tygodni) zielonoszare wycieki z dróg rodnych. Niektóre szczenięta rodzą się żywe, ale są bardzo słabe i większość pada wkrótce po urodzeniu. U samców dochodzi do obrzęku moszny, zapalenia najądrzy i jąder oraz gruczołu krokowego i słabej jakości nasienia. W nasieniu stwierdza się do 90% wadliwych plemników, czasami pies może całkowicie utracić zdolność wytwarzania plemników (aspermia). W przewlekłych zakażeniach może wystąpić zanik jednego lub obydwu jąder. Objawem wspólnym dla wszystkich zakażonych psów jest zapalenie węzłów chłonnych. Czasami pojawia się senność lub zmęczenie, nietolerancja wysiłku, zmniejszenie apetytu, utrata masy ciała i psychiczne nieprawidłowości (utrata czujności, nieprawidłowe wykonywanie poleceń). Notuje się również gorączkę, zapalenie błony naczyniowej oka, zapalenie gałek ocznych, zapalenie skóry, kłębuszkowe zapalenie nerek, zapalenie wsierdzia, zapalenie opon mózgowych, zapalenie stawów oraz zapalenie krążków międzyskręgowych, powodujące bolesność i sztywność ruchów, a także kulawizny (4, 16, 21, 24).

Brucelozę u koni

Brucelozę koni występuje sporadycznie. Przyczyną zakażenia są pałeczki *B. abortus* i *B. suis*. Zakażenie następuje w wyniku kontaktu z zakażonym bydłem lub trzodą chlewną, spożycia zakażonej paszy i wody oraz poprzez penetrację zarazka przez skórę lub błony śluzowe. Zakażenie zazwyczaj przebiega z łagodną gorączką, bez objawów klinicznych. U osobników dorosłych *B. abortus* i *B. suis* jest przyczyną występowania ropni w okolicach kłębu. Ropnie te wypełnione są z przejrzystym, lepkiem wysiękiem o słomkowej barwie. Często pękają, co prowadzi do wtórnych zakażeń. W przypadkach przewlekłych, w pobliżu więzadła grzbietowego dochodzi do martwicy kręgow. W przebiegu brucelozy u koni rzadko występują ronienia. Obserwowane są ziarniniakowe zmiany w płucach, wątrobie, jądrach i błonie maziowej w obrębie kaletek na poziomie obu stawów śródrečno-palcowych (4, 10).

Brucele lokalizują się w torebkach stawowych (powodując zapalenie kaletki maziowej), w pochewkach ścięgniowych (powodując septyczne zapalenie pochewki) i w stawach (powodując septyczne zapalenie stawów). Rzadko występują przypadki złamań kręgow, zapalenie kości i szpiku, ronienia oraz nieplodność u ogierów (25, 26).

Brucelozę u ssaków morskich

Niewiele jest informacji na temat skutków brucelozy ssaków morskich. Rozródność tych zwierząt jest trudna do oceny, jednak drobnoustroje z rodzaju *Brucella* wyizolowano z narządów rozrodczych niektórych gatunków. U dwóch żyjących w niewoli delfinów butlonosych odnotowano poronienia będące skutkiem zakażenia pałeczkami *Brucella*. Podobne ronienia odnotowano również u dzikiego jednostronnie białego delfina atlantyckiego. Ostatnio pałeczki zakaźnego ronienia wyizolowano z martwego noworodka delfina na Maui w Nowej Zelandii. Zwierzę urodziło się żywe, ale padło przed podjęciem pierwszego oddechu. U morświnów i płetwali karłowatych z podejrzeniem brucelozy odnotowano zapalenie najądrzy i jąder. Zakażenia brucelami powiązane z chorobą układową stwierdzono u kilku ssaków morskich. U hawajskich delfinów długoszczękich obserwowano zapalenie mózgu. Inne objawy ogólnoustrojowe, takie jak: martwicę wątroby i śledziony, zapalenie węzłów chłonnych i zapalenie sutka stwierdzono u białych delfinów atlantyckich. Pałeczki *Brucella* wyizolowano również z ropni podskórnych oraz narządów bez zmiany mikroskopowych u fok, delfinów, morświnów i lwów morskich (2, 15, 20).

Diagnostyka

Diagnostyka laboratoryjna brucelozy opiera się na wynikach ukierunkowanego badania bakteriologicznego (badanie mikroskopowe, izolacja i identyfikacja zarazka) oraz na wynikach ukierunkowanego badania serologicznego (wykrycie obecności i określenie miana swoistych przeciwciał). Materiałem diagnostycznym mogą być: krew, szpik kostny, płyn stawowy, mleko, wymazy z pochwy, szczególnie przydatne do diagnozowania u żywych zwierząt, materiał z poronionych płodów (zawartość żołądka), śledziona, płuca, węzły chłonne, łożysko i macica pobrane podczas sekcji. Pałeczki *Brucella* mogą być izolowane z nasienia, jąder lub najądrzy. Brucele należą do drobnoustrojów trudno hodujących się. Podłoża do hodowli powinny być wzbogacone surowicą cielęcą, wyciągiem z wątroby, wyciągiem drożdżowym, peptonem. Do izolacji i hodowli polecany jest agar *Brucella* z dodatkiem 5–10% krwi lub surowicy końskiej albo bydłeczej. Hodowle prowadzi się do 15 tygodni, w temp. 37°C, w obecności 5–10% CO₂. Jako podłoże selektywne stosuje się podłoże Farrella lub zmodyfikowane Thayer-Martina (16, 27). Przy podejrzeniu, że w materiale diagnostycznym znajduje się mała ilość zarazków, badane próbki należy posiać na bulion SDB (bulion z dodatkiem surowicy i dekstrozy) lub TSB (bulion tryptozowo-sojowy), uzupełnionych dodatkiem 1 µg/ml amfoterycyny B i 20 µg/ml wankomycyny. Pałeczki *Brucella* na agarze z krwią nie powodują hemolizy, na podłożach płynnych powodują delikatne zmętnienie. Na agarze z dodatkiem surowicy po 48 godzinach inkubacji widoczny jest słaby wzrost. Po 4 dniach kolonie osiągają wielkość 2–3 mm i są okrągłe, przezroczyste, wypukłe i połyśkujące. Zdarzają się również szczepy szorstkie, śluzowe i pośrednie. W świetle przechodzącym, kolonie gładkie wykazują zabarwienie miodowe, natomiast w świetle odbitym opalizują, przyjmując kolor niebieskoszary. Kolonie szorstkie są mniej przezroczyste, w świetle odbitym są perłowobiałe lub żółtawe. Różnicowanie gatunków *Brucella* opiera się zarówno na podstawie testów biochemicznych, jak i badaniu wzrostu w obecności barwników, aglutynacji z monospecyficznymi przeciwciałami oraz typowania fagowego (5, 9, 19, 20, 27).

W badaniach serologicznych pozwalających na wykrywanie przeciwciał pojawiających się w odpowiedzi na zakażenie stosuje się standardowy test aglutynacji, test aglutynacji ze zbuforowanym antygenem *Brucella* (test z różem bengalskim), odczyn wiązania dopełniacza (OWD) oraz zmodyfikowany odczyn Coombsa

(antyglobulinowy), oraz technikę ELISA i immunoblotting (Western blot; 5, 6, 7, 9, 16, 27).

Odczyn aglutynacji (Wrighta) wykrywa przeciwciała pojawiające się ok. 15–20 dnia choroby i utrzymujące się przez kilka, a czasem kilkanaście lat. Miano równe 1:160 lub większe jest uważane za wskaźnik aktywności choroby. W przewlekłej brucelozie miano aglutynin spada i jest niewykrywalny odczynem Wrighta. Odczyn wiązania dopełniacza uważa się za dodatni już w rozcieńczeniu surowicy 1:3. Przeciwciała wykrywane tym odczynem pojawiają się później niż aglutyniny 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. Testy serologiczne w kierunku *B. melitensis* nie są całkowicie swoiste i mogą dawać reakcje krzyżowe z innymi bakteriami, zwłaszcza *Yersinia enterocolitica* O:9, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O:157 i *Francisella tularensis*.

W niektórych laboratoriach do diagnostyki brucelozy wykorzystuje się techniki biologii molekularnej, takie jak: łańcuchowa reakcja polimerazy (polimerase chain reaction – PCR), polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (restriction fragment length polymorphism – PCR–RFLP), hybrydyzacja z sondą (hybrydyzacja typu Southern blot; 1, 6, 7, 27).

Śródskórny test alergiczny (odczyn Burneta) wykrywa stan nadwrażliwości zakażonego organizmu na antygeny pałeczek *B. abortus*. Odczyn ten jest dodatni zarówno w ostrej, jak i przewlekłej brucelozie oraz w przypadkach nierozpoznanych klinicznie (21, 27).

Szczepienia

Szczepienia są podstawą programów kontroli i zwalczania brucelozy zwierząt gospodarskich. Szczepionki dla zwierząt są powszechnie używane i wyeliminowały brucelozę w stadach zwierząt większości krajów. Na świecie z powodzeniem stosowane są szczepionki S19, RB51 (u bydła) i Rev 1 (u owiec i kóz), natomiast brak jest szczepionki dla ludzi, świń i dzikich zwierząt. Dostępne obecnie szczepionki mają pewne ograniczenia. Nadal trwają prace zmierzające do skonstruowania idealnej szczepionki przeciwko brucelozie. Taka szczepionka powinna spełniać następujące wymagania: wywoływać solidną i trwałą immunizację organizmu, ochronić przed zakażeniem gatunkami *Brucella* innymi niż typowe dla danego gospodarza, powinna być stabilna, łatwo dostępna i skuteczna w pojedynczej dawce, nie powinna zakłócać wyników serologicznych testów

diagnostycznych. Powinna być nieszkodliwa, niezależnie od stanu fizjologicznego zwierzęcia, a także nie powinna przenosić oporności na antybiotyki i być w pełni bezpieczna dla ludzi.

Zapobieganie

Stosowanie profilaktyki nabiera szczególnego znaczenia we współczesnej hodowli zwierząt gospodarczych, gdzie granice zacierają się, a postępująca globalizacja oraz nowoczesne środki transportu sprawiają, że przemieszczanie się, nie tylko ludzi, ale również zwierząt (zakup nowego materiału hodowlanego, krycia, wypożyczanie reproduktorów) nie nastęrcza żadnych problemów. Walka z brucelozą polega na stosowaniu zabiegów profilaktycznych zmierzających do ochrony stad zdrowych i uzdrowienia stad zakażonych brucelozą. Aby zminimalizować ryzyko zakażenia pałeczkami *Brucella*, zalecane jest: podnoszenie świadomości ludzi w zakresie bezpieczeństwa żywności, edukacja zalecająca unikanie spożywania niepasteryzowanego mleka i przetworów mlecznych zakażonych zwierząt, stosowanie higieny i właściwych środków ochrony osobistej przez myśliwych oraz ludzi z grupy wysokiego ryzyka (rzeźnicy, rolnicy, lekarze weterynarii), staranne obchodzenie się i unieszkodliwianie zakażonych płodów oraz wydzielin i wydalin

w przypadku poronienia, zabezpieczanie stad wolnych przed wprowadzeniem zakażonych zwierząt, zastosowanie sztucznego unasienniania krów lub używanie do krycia zdrowych, badanych buhajów, odosabnianie zwierząt podejrzanych o zakażenie, poddawanie ubojowi, a następnie utylizacji sztuk zakażonych brucelozą, okresowe badanie zwierząt w kierunku brucelozy, szczepienie stad, systematyczne odkażanie obór (4, 10, 16, 21).

Piśmiennictwo

- Pappas G., Akritidis N., Bosilkovski M., Tsianos E.: Brucellosis. *N. Engl. J. Med.* 2005, **352**, 2325-2336.
- Foster G., MacMillan A.P., Godfroid J., Howie F., Ross H.M., Cloeckaert A., Reid R. J., Brew S., Patterson I.A.: A review of *Brucella* spp. infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Vet. Microbiol.* 2002, **90**, 563-580.
- Pappas G.: The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats. *Int. J. An-timicrob. Agents* 2010, **36**, 8-11.
- Megid J., Mathias L.A., Robles C.A.: Clinical manifestations of brucellosis in domestic animals and humans. *The Open Vet. Scien. J.* 2010, **4**, 119-126.
- Cutler S.J., Whatmore A.M., Commander N.J.: Brucellosis-new aspects of an old disease. *J. Appl. Microbiol.* 2005, **98**, 1270-1281.
- Franco M.P., Mulder M., Gilman R.H., Smits H.L.: Human brucellosis. *Lancet Infect. Dis.* 2007, **7**, 775-86.
- Gwida M., Al Dahouk S., Melzer F., Rösler U., Neubauer H., Tomaso H.: Brucellosis-regionally emerging zoonotic disease? *Croat. Med. J.* 2010, **51**, 289-29.
- Ustawa o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. D. U. z dnia 11 marca 2004 r. nr 69, poz. 625 z późn.
- Sauret J.M., Vilissova N.: Human brucellosis. *J. Am. Board. Fam. Pract.* 2002, **15**, 401-406.
- www.who.int/entity/zoonoses/diseases/Brucellosissurveillance.pdf
- Pappas G., Panagopoulou P., Christou L., Akritidis N.: *Brucella* as a biological weapon. *Cell. Mol. Life Sci.* 2006, **63**, 2229-2236.
- Rotz, L.D., Khan, A.S., Lillibridge, S.R., Ostroff, S.M., Hughes, J.M.: Public health assessment of potential biological terrorism agents. *Emerg. Infect. Dis.* 2002, **8**, 225-230.
- Casadevall A., Pirofski L.A.: The weapon potential of a microbe. *Trends Microbiol.*, 2004, **12**, 259-263.
- Gyles, C.: Agroterrorism. *Revue Vet. Canad.* 2010, **51**, 347-348.
- www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/brucellosis.pdf . Brucellosis 2009.
- http://www.efsa.europa.eu
- Ovine and Caprine Brucellosis: *Brucella melitensis* 2009. www.cfsph.iastate.edu.
- Boschirolu M.L., Foulongne V., O'Callaghan D.: Brucellosis: a worldwide zoonosis, *Curr. Opin. Microbiol.* 2001, **4**, 58-64.
- Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E.V.: The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect. Dis.* 2006, **6**, 91-99.
- Corbel M.J.: Brucellosis in humans and animals. *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.* 2006, 22-35.
- Xavier M.N., Costa É.A., Paixão T.A., Santos R.L.: The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. *Ciencia Rural.* 2009, **39**, 2252-2260.
- Bovine Brucellosis: *Brucella abortus* 2009. www.cfsph.iastate.edu.
- Porcine and rangiferine brucellosis: *Brucella suis* 2009. www.cfsph.iastate.edu.
- Canine Brucellosis: *Brucella canis* 2012. www.cfsph.iastate.edu.
- Ocholi R.A., Bertu W.J., Kwaga J.K., Ajogi I., Bale J.O., Okpara J.: Carpal bursitis associated with *Brucella abortus* in a horse in Nigeria. *Vet Rec.* 2004, **30**, 155, 566-567.
- Cvetnic Z., Spicic S., Curic S., Jukic B., Lojick M., Albert D., Thiebaud M., Garin-Bastuji B.: Isolation of *Brucella suis* biovar 3 from horses in Croatia. *Vet. Rec.* 2005, **156**, 584-585.
- Poester F.P., Nielsen K., Samartino L.E., Yu W.L.: Diagnosis of brucellosis. *Vet. Scien. J.* 2010, **4**, 46-60.

Dr Lidia Mizak, Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych, ul. Lubelska 2, 24-100 Puławy