

*To the Library of  
the Royal University of  
the State of Rio de Janeiro  
it is hereby  
deposited  
Milton Thiago de Mello  
do Rio de Janeiro  
Bacteriologia*

**MONOGRAFIAS**  
**DO**  
**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

N.º 7

SETEMBRO, 1955

***BRUCELOSE***

Pelos Drs.

**GENESIO PACHECO**

MEMBRO DO COMITÉ DE PERITOS EM BRUCELOSE, DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE

CHEFE DA SECÇÃO DE BACTERIOLOGIA, INSTITUTO OSWALDO CRUZ

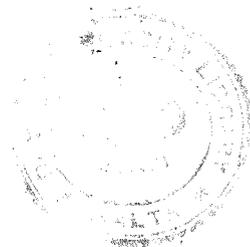
E

**MILTON THIAGO DE MELLO**

TENENTE CORONEL PROFESSOR, DO COLÉGIO MILITAR DO RIO DE JANEIRO

ASSISTENTE VOLUNTÁRIO DA SECÇÃO DE BACTERIOLOGIA, INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Com 8 estampas coloridas e 158 figuras no texto



RIO DE JANEIRO

SERVIÇO GRÁFICO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA

1956



## PREFÁCIO

*A brucelose é uma das mais estudadas doenças do mundo atual. Sua importância, para o Brasil, sob os pontos de vista sanitário e econômico, é das maiores.*

*Contudo, grande número de clínicos desconhece as mais frequentes manifestações dessa zoonose extremamente disseminada por toda parte, estando, por isso, impossibilitado de reconhecê-la e diagnosticá-la.*

*Não existindo, em português, um livro que aborde os vários aspectos dessa doença, escrevemos esta Monografia, por meio da qual se verá que a brucelose apresenta número considerável de sintomas e formas clínicas, por vezes tão esdrúxulos, que não poderá pensar na sua existência quem não estiver familiarizado com suas manifestações. Resulta que muitos brucelosos passam pelas mãos dos clínicos, sem que nem ao menos tenham sido diagnosticados.*

*Cuidando do assunto há regular número de anos, incluímos dados pessoais, sobre o que nos tem sido possível observar no Brasil, para conceder ao livro caráter um tanto regional.*

*Embora não nos tenha sido possível, até agora, organizar um "Centro de Estudos da Brucelose", de âmbito nacional e com a extensão que planejamos desde muito — tal como existem em outros países até com muito menores recursos que o nosso — alguma coisa temos feito nesse sentido.*

*Esperamos que o nosso esforço possibilite o conhecimento da disseminação e dos aspectos da brucelose no Brasil, contribuindo para a solução dêsse problema de alto alcance social e econômico para todos os países, particularmente para os que têm a ventura de possuir uma grande pecuária, como o nosso.*

*Nem de longe pretendemos que este trabalho seja um repositório completo de todas as verificações realizadas sobre a doença e seu agente etiológico. Contém, entretanto, as referências mais significativas para torná-lo acessível às classes médica e veterinária, bem como aos demais estudiosos do assunto, e dados que facultem o melhor conhecimento da brucelose.*

*Da bibliografia de cada capítulo constam os trabalhos citados no texto. Em raros casos são feitas referências a pesquisadores cujos*

trabalhos não figuram nessas listas; trata-se de informações colhidas em obras clássicas, constantes da bibliografia geral (Capítulo XIV).

Há, no texto da Monografia, repetições de fatos e de assuntos, que se fizeram necessárias para o encadeamento da exposição. Também não está ela isenta de falhas, como toda obra humana, apesar do cuidado que tivemos na sua confecção. Esperamos que as mesmas sejam corrigidas e relevadas pelos leitores.

Aqui deixamos nossos agradecimentos a todos os cientistas e demais pessoas que tiveram a gentileza de nos fornecer separatas de trabalhos, fotografias, observações e dados estatísticos inéditos.

À nossa colaboradora, Dra. NÍBER DA PAZ M. SILVA, agradecemos a dedicação com que realizou o exaustivo trabalho de ler, por várias vezes, os originais, sugerindo modificações na redação que muito melhoraram a apresentação da Monografia.

À Sra. GUIOMAR VIEIRA FERNANDES e à Srta. OFÉLIA DE BRITO, que executaram pacientemente os trabalhos datilográficos e de revisão da bibliografia, também agradecemos a cooperação.

Os autores são especialmente gratos às seguintes pessoas e editôres por terem consentido na reprodução de figuras que constam da presente Monografia. Para referências completas sobre as mesmas, consultar a bibliografia relativa a cada uma.

\* \* \*

- Dr. JOHN W. FOSTER, Athens, Georgia, U.S.A. — Figuras 13 e 14 (n.º 4).  
Dr. D'ANTUONO GIUSEPPE, Bologna — Figura 65 (b).  
The Journal of the Bone and Joint Surgery, Boston, Massachusetts, U.S.A. —  
Figuras 107 e 108.  
OLIVER & BOYD, Ltd., London, Inglaterra — Figuras 12 e 53.  
Casa Editrice Libreria V. Idelson di Ernesto Gnocchi & F.º, Napoli, Italia —  
Figuras 62, 65 (a) e 67.  
Istituto Superiore di Sanità, Roma, Itália — Figuras 8 e 15.  
Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, U.S.A. — Figuras 9, 48,  
56 e 61.  
Society for Experimental Biology and Medicine, New York City, New York, U.S.A.  
— Figuras 19 (5 e 8) e 25.  
Springer-Verlag, Heildeberg, Alemanha — Figuras 77 e 116.  
Lea & Febiger, Publishers of the American Journal of the Medical Sciences,  
Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A. — Figura 150.  
American Medical Association, Chicago, Illinois, U.S.A. — Figura 134.  
J. F. Bergmann-Verlagsbuchhandlung, München, Alemanha — Figura 79.  
The Rockefeller Institute for Medical Research, New York City, New York, U.S.A.  
— Figuras 17, 18 (1 e 3) e 19 (4).  
Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, Inglaterra — Figura 5.

- 
- Revista de Investigación Clínica, Mexico D.F., Mexico — Figura 94.  
GUSTAV FISCHER VERLAG, Stuttgart, Alemanha — Figura 46.  
Salvat Editora S.A., Barcelona, Espanha — Figuras 59, 93, 115.  
The C. V. Mosby Company, Saint Louis, Missouri, U.S.A. — Figuras 54 e 144.  
The Journal of Clinical Investigation, New York City, New York, U.S.A. — Figuras 74, 75 e 151.  
University Press Cambridge, London, Inglaterra — Figuras 55.  
American Veterinary Medical Association, Chicago, Illinois, U.S.A. — Figuras 14 (3), 27, 28 e 134 (A).  
BAILLIÈRE, TINDALL & COX Ltd., London, Inglaterra — Figura 155.  
PAUL B. HOEBER, Inc., New York City, New York, U.S.A. — Figuras 6 e 109.  
Institut Pasteur, Paris, França — Figuras 38, 47 e 86.  
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, Maryland, U.S.A. — Figuras 22, 24, 26, 32, 51, 58, 66-A, 91, 103, 141 e 148.  
Dr. AXEL THOMSEN — Statens Veterinære Serumlaboratorium, Copenhagen, Dinamarca — Figs. 1, 2 e 3.  
Dr. M. RUIZ CASTAÑEDA — Departamento de Investigaciones Médicas, Hospital General, México, D.F., México — Figs. 18 (n.º 2) e 19 (ns. 1, 2 e 3).  
Dra. ALICE EVANS — Bethesda, Maryland, U.S.A. — Fig. 4.  
Dr. TOMÁS VILLAFANE LASTRA — Universidad de Córdoba, República Argentina — Figs. 112, 113, 114, 117, 118 (a e b), 119 e 120.  
Dr. E. A. MOLINELLI — Servicio Nacional de Estudios de la Brucelosis, Velez Sarsfield 563, Buenos Aires, República Argentina — Figs. 63, 104 e 146.  
KEWAUNEE MFG. COMPANY — Adrian, Michigan, U.S.A. — Fig. 66.  
Revista de Medicina Experimental — Lima, Peru — Fig. 71.  
Medicina, Revista Mexicana — México, D.F., México — Figs. 34 (b) e 149.

GENESIO PACHECO  
MILTON THIAGO DE MELLO

*Instituto Oswaldo Cruz, setembro de 1955.*

---



## SUMÁRIO

	<i>Página</i>
PREFÁCIO .....	III
SUMÁRIO .....	VII
Capítulo I — INTRODUÇÃO .....	1
Capítulo II — ETIOLOGIA. BACTERIOLOGIA DA BRUCELOSE .....	11
Capítulo III — DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA .....	177
Capítulo IV — EPIDEMIOLOGIA .....	233
Capítulo V — IMPORTÂNCIA ECONÔMICA .....	277
Capítulo VI — PATOLOGIA .....	285
Capítulo VII — CLÍNICA .....	311
Capítulo VIII — FORMAS CLÍNICAS COM LOCALIZAÇÕES ESPECIAIS .....	339
Capítulo IX — BRUCELOSE NA INFÂNCIA .....	445
Capítulo X — DIAGNÓSTICO .....	453
Capítulo XI — TRATAMENTO .....	553
Capítulo XII — PROFILAXIA .....	575
Capítulo XIII — BRUCELOSE ANIMAL .....	581
Capítulo XIV — BIBLIOGRAFIA .....	659
ÍNDICE GERAL .....	721

---



# CAPÍTULO I

---

## Introdução

### A — NOTÍCIA HISTÓRICA

Três etapas marcam a história da brucelose: a primeira, desde HIPÓCRATES; a segunda, começa com BRUCE e BANG; a terceira, de ALICE EVANS até hoje.

I) O período hipocrático vai dos tempos nebulosos do passado, desde HIPÓCRATES, em que as febres eram reconhecidas pelo aumento da temperatura do corpo, e se confundiam, quando prolongadas, com as de numerosas doenças, hoje consideradas infectuosas. Distinguia o pai da medicina, entre os diferentes tipos febris, certas febres prolongadas, irregulares, acompanhadas de suores profusos e outros sintomas, perfeitamente enquadráveis na brucelose, tanto mais quanto esta doença é endêmica nos países mediterrâneos, entre os quais se inclui a Grécia, onde pontificava o mestre da medicina.

CLEGHORN, conta EVANS, referindo-se à descrição de HIPÓCRATES, assinala que êle falava de febres consumptivas em doentes que pioravam progressivamente.

DALTON assinala que HIPÓCRATES refere a existência, no verão e no outono, de febres de tipo contínuo, mas não violentas, atacando pessoas que ficavam indispostas durante muito tempo, mas não tornadas doentes com gravidade. As recaídas eram freqüentes. Outras vezes, os pacientes permaneciam com a doença até o inverno. Convém salientar que a brucelose é mais freqüente no verão, conforme mostraram os estudos epidemiológicos.

CASTAÑEDA aponta como das mais antigas descrições da doença, a de CLEGHORN, em 1875, embora tenha sido na guerra da Criméia, em 1854, que apareceram casos em número suficiente para chamar a atenção dos clínicos para ela. Nessa época, vários médicos publicaram observações sobre brucelose, concedendo-lhe diversas denominações, conta-nos BRUCE: MARSTON, em 1861; CHARTRES, em 1865; BOILEAU, em 1866; GIULIA, em 1871; DONALDSON, em 1876; BORELLI, em 1877; VEALE, em 1879; TOMASELLI, em 1880.

Entretanto, parece ter sido MARSTON quem, em 1859, caracterizou-a como entidade nosológica autônoma, separando-a das demais pirexias com que ela se confundia até então. Êle, que fôra atacado de brucelose na ilha de Malta, descreveu-a sob o nome de "febre gástrica remitente", como uma doença febril, iniciando com dispepsia subaguda, anorexia, náuseas, cefaléia, sensação de fadiga, incapacidade física e mental, apresentando os doentes, ainda, outros sintomas: mialgias; febre precedida de calefrios, durante 5 a 10 semanas, com exacerbações e remis-

sões irregulares; hipersensibilidade gástrica e esplenomegalia; tendência à recidiva; convalescença prolongada, freqüentemente complicada com reumatismo.

Até êsse tempo, várias hipóteses e teorias haviam sido aventadas para sua etiologia:

- 1) emanções da matéria orgânica decomposta;
- 2) processos de putrefação interna do organismo;
- 3) microrganismos;
- 4) efeitos da intermação ou do frio.

Como se vê, muitas dessas teorias estavam de acôrdo com a época em que os micróbios não eram conhecidos ou o eram poucos dêles.

II) Assim permaneciam as coisas, até que a doença começou a castigar demais as tropas aquarteladas na base naval inglêsa de Malta. Ali, em 1886, conseguiu DAVID BRUCE (Fig. 1), que fôra chefiando uma Comissão Médica para estudá-la, isolar do baço de doentes, mortos com a febre por êle chamada "febre de Malta", uma bactéria a que HUGHES denominou *Streptococcus melitensis* e que BRUCE chamou de *Micrococcus melitensis*, tomada por um coco, tão curta é.

HUGHES dera à doença o nome de "febre do Mediterrâneo", e depois chamou-a "febre ondulante". Estudou-a detalhadamente e descreveu 4 tipos: maligno, ondulante (com referência ao tipo febril), benigno (do tipo intermitente) e irregular ou misto, entre ondulante e intermitente.

Comenta ALICE EVANS que HUGHES não se referiu ao tipo crônico, mas a descrição da duração até 90 dias ou, mesmo, até de anos, diz bem que êle teve em mãos casos crônicos. Em 275 de 844 casos observados por êle, muitos recidivaram, mas HUGHES considerou-os casos novos ou de reinfeção. Certo, concorreu para não admitir a forma crônica o fato dos doentes prolongados serem regularmente transferidos do seu hospital, comenta ainda EVANS.

Dez anos após a descrição de BRUCE, em 1897, BANG (Fig. 2), veterinário dinamarquês, em companhia de STRIBOLT (Fig. 3), descobriram, na Dinamarca, que o abôrto infeccioso bovino, afecção conhecida havia muito no norte europeu e admitida como contagiosa para o gado, era causada por um germe por êles isolado de fetos de vacas abortadas. Segundo HUTYRA & MAREK, o caráter contagioso da doença no gado fôra admitido por LÄHNERT, em 1878, e, 2 anos depois, por BRÄNER; a suspeita de um agente infeccioso para o abôrto bovino, porém, havia sido dada por PATERSON, veterinário sueco, em 1860, confirmada por HAMMARSTRAND e por VENESBORG, em 1875, também na Suécia. A transmissão experimental seguida de provocação do abôrto em vacas foi conseguida por WOODHEAD e por outros, acrescentam.

Da Comissão enviada à ilha de Malta, em 1904, pelo Govêrno inglêso, dirigida por BRUCE, fazia parte ZAMMIT, o qual verificou a presença do germe de BRUCE nas cabras da Ilha, assim como no leite por elas produzido quando infectadas. Com isto, descobriu, ao mesmo tempo, o "depositário do virus" e o modo de contaminação humana freqüente

na Ilha. Essa verificação teve, posteriormente, grande importância na profilaxia e na epidemiologia da brucelose.



Fig. 1 — David Bruce

Interessante foi a oportunidade dessa descoberta. Necessitando ZAMMIT de animais para provas experimentais de inoculação do germe por êle isolado do sangue dos doentes, e não havendo outros animais na ilha de Malta, além de cabras, procurou verificar, primeiro, se o sangue das mesmas não aglutinava o germe. Com surpresa constatou que sim, e em grau elevado. O germe foi logo encontrado por êle no leite das cabras examinadas.

Enquanto não se determinara que o germe do boi contaminava também o homem, a brucelose ficou sendo somente “febre de Malta”, que, com vários nomes, na Itália e em outras regiões mediterrâneas, assolava suas populações endemo-epidemicamente, justificando a feitura de numerosos trabalhos nos países por ela devastados.

O *Micrococcus melitensis*, de BRUCE, permaneceu durante muitos anos como o agente causal da "febre de Malta". Graças aos trabalhos acima referidos, tornaram-se conhecidos em detalhes, desde as propriedades bioquímicas e patogênicas do germe, até o diagnóstico da doença no homem.

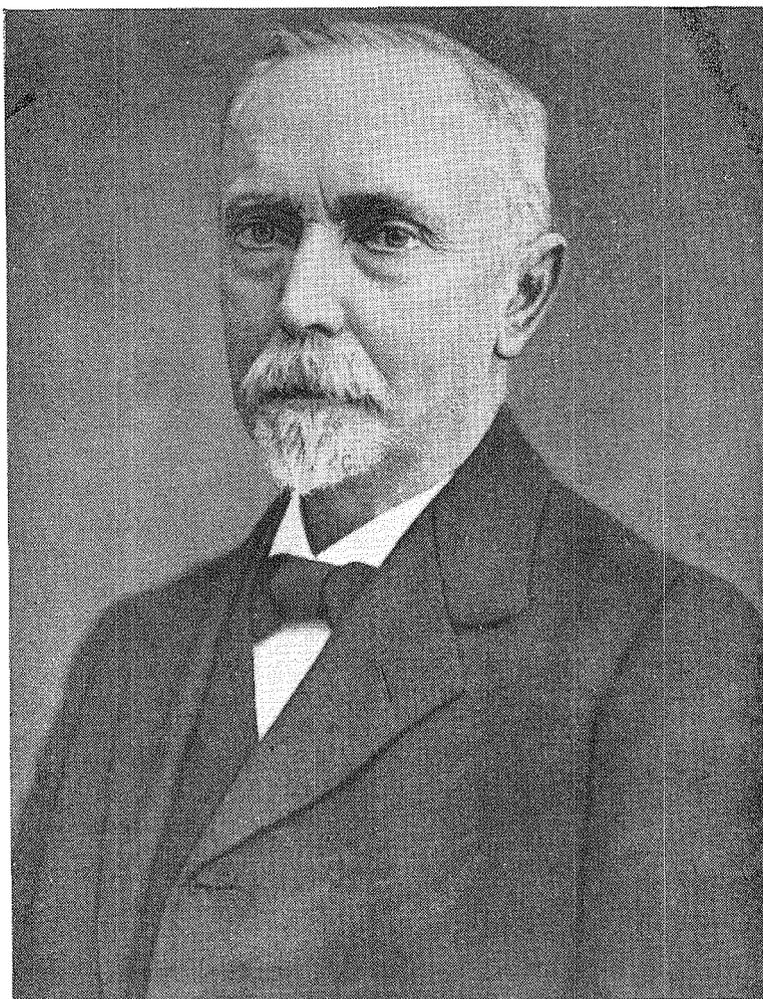


Fig. 2 — Bernard Bang

III) Não se suspeitara, jamais, que o agente do abôrto infeccioso das vacas contaminasse também o homem. Esta importante verificação foi feita por ALICE EVANS (Fig. 4), notável bacteriologista americana, a quem se deve tão grande avanço no estudo da brucelose, marcando uma era no seu conhecimento. Muito contribuiu para demorar essa verificação a errônea denominação de *coco* para o germe de BRUCE e

de bacilo para o encontrado por BANG. Foi cotejando os dois germes que a aproximação pôde ser feita.

Em 1918, encontrou ela, no sangue de um doente, um germe indistinguível da brucela da cabra, sem poder correlacioná-lo à infecção caprina, por não se ter originado dêsse animal, mas apresentando comemorativos de contágio bovino.



Fig. 3 — V. Stribolt

A comparação bacteriológica dos dois germes, bovino e caprino, então levada a efeito por EVANS, mostrou tais analogias entre êles, que os tornavam indiferenciáveis. Essa verificação suscitou interêsse pelas conseqüências sôbre a patologia da brucelose, e marcou o início da era atual, em que observações de tôda ordem se foram sucedendo, até conceder à doença papel preponderante na patologia humana.

Foi assim que a contaminação do homem pelo germe do boi foi vista mais espalhada no mundo que pelo da cabra, o grau de contaminação bovina tão elevado como o da cabra, e o papel disseminador do boi e do porco muito maior, graças à sua difusão por tóda parte. Tal



Fig. 4 — Alice Evans

como na cabra, foi visto por SCHROEDER & COTTON, em 1911, que o germe bovino era eliminado pelo leite de vaca, tornando as possibilidades de contaminação por via digestiva extraordinariamente frequentes.

ALICE EVANS mostrou, ainda, a existência de formas clínicas inusitadas na brucelose, que fazem desta doença, talvez, a mais curiosa de todas conhecidas, e de conseqüências ainda indeterminadas, pela extensão que poderá alcançar e pelas alterações que ocasiona na saúde das populações.

Antes mesmo das importantes verificações de EVANS, TRAUM conseguiu isolar do porco, em 1914, uma brucela que se distinguia das demais por certas propriedades bioquímicas e antigênicas. A infecção que determina nesse animal é caracterizada também pelo abôrto, o que já fôra estudado, em 1909, por HUTYRA.

Em 1920, MEYER & SHAW, à vista das analogias entre o germe da "febre de Malta", do abôrto infeccioso bovino e do abôrto porcino, todos três capazes de infectar o homem, propõem reuni-los num gênero único, sob o nome de *Brucella*, em homenagem a BRUCE, o descobridor do primeiro deles conhecido. A proposição foi logo aceita e se generalizou o termo Brucelose, para designar a doença no homem e nos animais.

Conheciam-se dela as localizações ou os processos viscerais, admitidos como complicações. Atualmente, êstes processos vão tornando-se preponderantes na patologia da brucelose, e a doença tende a tornar-se uma doença visceral, com múltiplas formas dependentes das localizações do germe.

Curioso é que esta evolução no conceito da brucelose observa-se inclusive com a brucelose de origem caprina, provocada pela mais febrilizante das brucelas, assinalam PONS & VALENTÍ. Originariamente, a idéia de doença febril era a dominante nas infecções de origem caprina, o que não se dá atualmente. A concepção da febre como sintoma dominante na brucelose está sendo abandonada.

NICOLLE & CONSEIL verificaram a tolerância da cabra à infecção brucelosa; FABYAN, a reação escrotal, em 1912; EYRE e colaboradores, a formação de granulomas nas vísceras.

Dos trabalhos de BRUCE até nossos dias, não pararam as investigações sobre a brucelose, demonstrando sua difusão e sua importância. A infecção por brucelas já foi verificada na maioria dos animais domésticos: boi (BANG, 1896), cabra (ZAMMIT, 1905), cão (EYRE, 1904), porco (HUTYRA, 1909; TRAUM, 1914), galinha (FIORENTINI, 1907), cavalo (MACNUTT & MURRAY, 1924), animais silvestres (VERGE e outros), insetos (MANCERA).

WRIGHT & SEMPLE encontraram aglutininas no sangue dos doentes, em 1897, e fizeram sua aplicação ao diagnóstico da doença. GRINSTED demonstrou a presença desses anticorpos em sangue de bovinos infectados.

Em 1922, BURNET utilizou o filtrado de culturas de brucelas, a que chamou "brucelina", na prova diagnóstica intradérmica.

A eliminação do germe pelo leite e pelos dejectos, a facilidade de sua penetração por diferentes vias, sua conservação nos alimentos, sobretudo em produtos de leiteria, sua persistência no organismo, prolongando a infecção e fazendo demorar a precisão diagnóstica, são fatos

essenciais na patogenia da brucelose, decorrentes dos trabalhos de uma coorte de pesquisadores, a maioria dos quais é referida nos capítulos seguintes.

Cumpre assinalar, entretanto, que a brucelose, embora muito disseminada no homem, é essencialmente uma doença animal ou uma zoonose. Só poderá deixar de existir, no homem, quando fôr erradicada nos animais.

---

As seguintes datas históricas da brucelose foram coligidas dum trabalho publicado no Boletim do Colégio Médico de Camaguey (Vol. 7, ns. 1 e 2).

- 1859 — J. A. MARSTON descreve a enfermidade que o acometeu.  
1886 — D. BRUCE isola a brucela do sangue e do baço de doentes e de cadáveres, em Malta.  
1897 — M. L. HUGHES dá a denominação de “febre de Malta” ou “febre ondulante”.  
1897 — B. BANG isola, na Dinamarca, a brucela do abôrto infeccioso e WRIGHT & SEMPLE verificam a presença de aglutininas no sôro dos doentes.  
1905 — T. ZAMMIT encontra o germe da “febre de Malta” no leite de cabras.  
1914 — J. TRAUM isola a brucela em porcos.  
1917 — A. EVANS aproxima estreitamente os germes de cabra e do boi.  
1920 — K. F. MEYER & E. B. SHAW propõem a denominação de *Brucella* para este gênero de bactérias.  
1922 — ET. BURNET utiliza a prova cutânea alérgica para diagnóstico.

---

## B — CONCEITO DA DOENÇA

Considera-se a brucelose uma doença febril, causada por bactérias do gênero *Brucella*, entre cujos sintomas, em geral, predominam febre, suores profusos, adinamia, dores musculares e articulares e outros menos freqüentes. Este conceito foi modificado, caracterizando-a, simplesmente, sua etiologia. Assim, brucelose seria a *infecção por brucelas*.

Comenta EVANS que a expressão “febre ondulante” concorreu muito para atrasar o conhecimento da brucelose e que este termo deve ser abandonado. Realmente, se está apurando que mais vêzes a doença evolui no homem e nos animais, sem aparecimento da febre em qualquer tempo ou fase da infecção. A predominância de localização visceral das brucelas é cada vez mais vista e admitida, onde elas provocam sintomas justificativos das múltiplas formas clínicas e conseqüente sintomatologia, de tal jeito, que a definição com o sentido acima — infecção por brucelas — é a que melhor lhe cabe. A fase septicêmica é transitória, diz BELGRANO, havendo acentuada tendência da doença em se tornar enfermidade visceral.

---

## C — SINONÍMIA

Poucas doenças se apresentam tão ricas de denominações como a brucelose. Deriva a abundância de nomes da ignorância inicial de sua origem, não obstante sua freqüência.

Quase não há trabalho anterior à descoberta de BRUCE — e mesmo alguns anos depois disso — que não lhe tenha dado uma denominação, de preferência sintomática ou eponímica. *Febre mediterrânea* era denominação corrente em 1814, tendo BURNET escrito sobre a “*febre mediterrânea* ou descrição prática da chamada febre remitente”, em 1810; *febre gástrica remitente*, chamou-a MARSTON, em 1861; *febre gástrica remitente do Mediterrâneo* foi a denominação de CHARTRES, em 1865, e de BOILEAU, 1866; *Febre de Malta*, OSWALD-WOOD, 1876; *febre tifóide intermitente*, chamou-a CANTANI; *febre complicada*, VEALE, 1879; *febre sudoral*, TOMASELLI, 1880, GALLAZI, 1895; *febre de Nápoles*, FAZIO; *febre tifóide intermitente*, BORELLI, 1877; *febre de Constantinopla*, PATERSON; *adenotifóide*, CANTANI; *febre de Creta*, CAPETANAKIS; *tifomalária*, DONALDSON, 1876; forma sudoral da febre tifóide, JACCOUD; *deni-irki* (ou febre fraca, em língua malteza); *febre de Malta*, BRUCE, 1889, 1893; *febre gastrobiliosa*, GIÚLIA, 1871, SCHOULL, NICOLLE, HUGHES, 1896; *melitococcia* (de “Melita” nome latino da ilha de Malta), WIDAL; *febre caprichosa*, NICOLLE; *enfermidade das cem formas*, CANTALOUBE, 1911; *melitosis*, CHAUFFARD; *melitensis septicoe*, EYRE, além de numerosos outros nomes localísticos, tais como febre malaguenha, cartagena, granadina, de Nápoles, de Constantinopla, de Creta.

Nos animais, a brucelose não chegou a tomar denominações particulares, a não ser no “abôrto infeccioso das vacas” ou “doença de BANG”. Apenas se lhe ajunta o nome da espécie animal: brucelose bovina, caprina, porcina, eqüina e assim por diante.

## BIBLIOGRAFIA

- BANG, B.  
1897. Ztschr. Tiermed., 1:241-278.
- BELGRANO, C. R.  
1948. Semana médica, 55(2822):245-255.  
1948. Rev. Med. Ciencias Afines, 10(5):210-219
- BRUCE, D.  
1887. Practitioner, 39:161-170.  
1889. Brit. Med. J., 1:1101-1105.  
1893. Ann. Inst. Pasteur, 7:289-304.
- BURNET, E.  
1922. Arch. Inst. Pasteur Afr. Nord, 2:165-211.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis, México: 253 pp.
- DALTON, F. J. A.  
1903. Practitioner, 70:471.

- EVANS, A.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946:131-142.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:1-3.
- EYRE, J. W. H.  
1907. Em Huddleson.
- FABYAN, M.  
1912. J. Med. Res., 26:441-487.
- FIorentINI, P.  
1907. Lav. Inst. Clin. Med. Gen., 2:43. Em Harris.
- GRINSTED-BROUST, P.  
1909. Berl. Tierärztl. Woch., 25:831.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals, Rev. ed., New York: 379 pp.
- HUGHES, M. L.  
1892. Medit. Naturalist, 2:325-327.  
1897. Mediterranean, Malta or Undulant Fever, London.
- HUTYRA, F.  
1909. Em Hutyra, Marek & Manninger.
- HUTYRA, F. & COLS.  
1938. Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals, 4th engl. ed., Vol. I, London: 793-824.
- MARSTON, J. A.  
1861. Em Huddleson.
- McNUTT, S. H. & MURRAY, C.  
1924. Em Huddleson.
- MEYER, K. F. & SHAW, E. B.  
1920. J. Inf. Dis., 27:173-184.
- NICOLLE, C. & CONSEIL, E.  
1909. C. R. Soc. Biol., 61,2:267-269.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 pp.
- SCHROEDER, E. C. & COTTON, W. E.  
1911. Ann. Rep., Bureau Animal Industry: 139. Em Huddleson.
- TRAUM, J.  
1914. Ann. Rep., Bureau Animal Industry, 30:86.
- VERGE, J.  
1946. Rec. Méd. Vét. Alfort, 122(3):97-114.
- WRIGHT, A. E. & SEMPLE, D.  
1897. Brit. Med. J., 1:1214. Em Harris.
- WRIGHT, A. E. & SMITH, F.  
1897. Lancet, 1:656-659.
- ZAMMITT, T.  
1905. Rep. Comm. Medit. Fever, Part III:83.  
1906. Rep. Comm. Medit. Fever, Part IV:96.
-

## CAPÍTULO II

---

# Etiologia -- Bacteriologia da brucelose

O agente etiológico da brucelose é representado por bactérias que infectam várias espécies animais, reunidas num gênero único por MEYER & SHAW, sob o nome de *Brucella*. Boa revisão sobre a biologia das brucelas e outros aspectos da brucelose, contendo as mais importantes contribuições da bacteriologia italiana, foi publicada, em 1949, por MAZZETTI & TESI.

### A — HISTÓRICO

Em 1887, DAVID BRUCE, médico militar inglês, servindo na ilha de Malta, isolou do baço de um soldado que morrera em conseqüência da doença que grassava nessa Ilha, um pequeno germe a que mais tarde deu o nome de *Micrococcus melitensis*. Durante muitos anos foi o germe considerado um coco, pois a sua morfologia bastante se assemelhava à desse tipo de micróbio. Tempos depois, se verificou que o germe de BRUCE era o agente da doença que dizimava as tropas e a população civil da Ilha e, ainda mais, que os reservatórios naturais do mesmo eram as cabras, muito abundantes na região.

Somente dez anos mais tarde, o segundo representante do atual gênero *Brucella* foi descoberto. BANG e STRIBOLT, veterinários dinamarqueses, isolaram, de vacas que sofriam de aborto epizootico, um pequeno bacilo a que foi dado o nome de *Bacillus abortus bovis*, durante muito tempo chamado "bacilo de Bang". A participação desse germe no aborto contagioso ou epizootico das vacas ficou então demonstrada.

HUTYRA, na Hungria, em 1909, descreveu uma doença em suínos, caracterizada por abortos, cujo agente etiológico, no entanto, somente foi descrito em 1914, nos Estados Unidos, por TRAUM que o isolou dum feto de porca. Esse germe foi chamado, durante muito tempo, de *Bacillus abortus suis*.

A respeito das outras bactérias que de vez em quando são incluídas no atual gênero *Brucella*, não serão feitos maiores comentários, porque as mesmas não são causadoras da doença humana ou animal conhecida como brucelose (*Br. tularensis*, *Br. bronchiseptica*, *Br. mallei*).

As três espécies que referimos inicialmente, são capazes de determinar infecção no homem. Nos animais, cada uma tem certa preferência por determinada espécie doméstica; por isto mesmo, chegaram a ser consideradas como peculiares a tais animais que seriam seus únicos reservatórios. A brucela descoberta por BRUCE infecta principalmente a cabra, a descoberta por BANG e STRIBOLT, os bovinos, e a descrita por TRAUM,

os suínos. Infecções de outras espécies domésticas por qualquer dessas brucelas são freqüentemente encontradas, como se pode ver no capítulo da Epidemiologia.

## B — NOMENCLATURA E POSIÇÃO SISTEMÁTICA

Sem entrar em detalhes sobre os numerosos trabalhos publicados a respeito da nomenclatura e da classificação das brucelas, convém ressaltar que, durante muitos anos, as duas primeiras brucelas descobertas foram consideradas germes completamente distintos um do outro. Em 1918, porém, ALICE EVANS, estudando comparativamente os dois germes, concluiu pela sua semelhança, com base na morfologia, nos caracteres das culturas e na sorologia. Bom histórico sobre os primeiros estudos com brucelas encontra-se no trabalho recente de EVANS.

Fundamentados nos estudos de ALICE EVANS e em seus próprios, MEYER & SHAW, em 1920, criaram o gênero *Brucella*, em homenagem a DAVID BRUCE, para englobar as brucelas da cabra, do boi e do porco, as quais passaram a denominar-se, respectivamente, *Br. melitensis*, *Br. abortus* e *Br. suis*.

De vez em quando, desde a criação do gênero até hoje, surgem na literatura especializada trabalhos no sentido de apenas considerar uma espécie de brucela, com três variedades diferenciáveis por certas características (insuficientes, contudo, para uma distinção específica), enquanto outros trabalhos propõem a inclusão de espécies outras no gênero, além das três referidas.

A impossibilidade de estabelecer uma prova ou uma série de provas que permitam separar a totalidade das amostras tem servido de argumento, quer para os partidários da espécie única apresentando variedades, quer para os que acham que o gênero deve ser desdobrado em maior número de espécies.

PACHECO, em 1933, criou a denominação de *Br. Evansi* para as brucelas isoladas do úbere de vacas e que ALICE EVANS não pudera identificar; é provável que esse grupo fosse constituído por mais de uma espécie, porque as suas características bacteriológicas eram diferentes de uma para outra amostra.

Recentemente, PACHECO reitera sua proposta feita em 1933, de inclusão no gênero *Brucella*, do bacilo do mormo, pelas muitas características que este germe apresenta em comum com as brucelas, passando a denominar-se *Br. mallei*.

RENOUX, em 1952, propõe uma nova classificação do gênero *Brucella*, com 3 espécies: a espécie tipo seria *Br. brucei*, apresentando 5 variedades: *Br. brucei* var. *melitensis* (= *Br. melitensis*), *Br. brucei* var. *abortus* (= *Br. abortus*), *Br. brucei* var. *suis* (= *Br. suis* tipo americano), *Br. brucei*, var. *thomseni* (= *Br. suis* tipo dinamarquês), *Br. brucei* var. *Lisbonnei* (= amostras que se cultivam em meios com tionina e fucsina, mas produzem abundante H<sub>2</sub>S durante 2 dias ou mais). As outras duas espécies seriam *Br. bronchiseptica* e *Br. tula-*

*rensis*. Em seguida, num estudo de amostras de brucelas isoladas na Tunísia, RENOUX encontrou 18 que eram *Br. melitensis* pelas provas dos corantes e do di-etil carbamato, e aproximavam-se de *Br. abortus* pela atividade ureásica, sendo iguais a esta última espécie pelas características antigênicas. RENOUX acentua que amostras com êsse mesmo comportamento já haviam sido observadas por WILSON em brucelas isoladas no sul da França. Para elas propõe a designação de *Br. intermedia* ou melhor, *Br. brucei* var. *intermedia*.

Foram completamente banidas da literatura as denominações de *Br. paramelitensis*, *Br. para-abortus* e *Br. parasuis* porque ficou demonstrado que se tratava de amostras rugosas, pertencentes, em geral, às espécies *melitensis*, *abortus* e *suis*, respectivamente.

Em resumo, até 1918, foram as brucelas estudadas como individualidades e, depois, reunidas num só grupo — o gênero *Brucella*. Duas teorias, a unicista e a pluralista, admitem uma só espécie com vários tipos, ou várias espécies distintas.

A tendência atual é manter as três espécies: *melitensis*, *abortus* e *suis*, sômente.

O gênero *Brucella* está colocado, atualmente, pelo Manual de Bergey, na tribo *Brucelleae*, da família *Parvobacteriaceae* como gênero único. Os principais representantes dessa família são as pasteurelas, o bacilo do mormo e os hemófilos. O Manual de Bergey inclui entre as brucelas a espécie *Br. bronchiseptica*, isolada de cão, nos Estados Unidos, em 1911, por FERRY, que julgou ser o bacilo o agente da cinomose, ou doença dos cães novos (“distemper” ou “staupe”), dando-lhe o nome de *Bacillus bronchicanis*. A inclusão dêste germe no gênero *Brucella* está completamente em desacôrdo com as características do gênero; trata-se dum bacilo móvel e que seria melhor colocado no gênero *Alcaligenes*, ao qual deve voltar, conforme fôra proposto, em 1920, pela Comissão Americana de Bacteriologistas, segundo trabalho de HOLLAND, e consta da 1.<sup>a</sup> edição do Manual de Bergey, no que está de acôrdo PACHECO, em seu recente trabalho citado acima. Segundo nos informou MARGARET PITTMAN, essa espécie passará para o gênero *Bordetella*, juntamente com *Haemophilus pertussis* e *Bacillus parapertussis*, na próxima edição do Manual.

Transcrevemos as diagnoses constantes do Manual de Bergey, em sua última edição, página 545:

“Família *Parvobacteriaceae* Rahn, 1937 (Zent. Bakt. II Abt. 96: 281). Bastonetes pequenos, móveis ou imóveis. Gram negativos. Alguns crescem em meios comuns mas a maioria exige ou cresce melhor em meios contendo líquidos orgânicos ou substâncias que estimulam o crescimento. Alguns invadem os tecidos vivos. Geralmente não liquefazem a gelatina. Nenhum gás visível é formado pela fermentação dos hidratos de carbono. A infecção, em alguns casos, se dá pela penetração dos germes através das mucosas ou da pele. Parasitos ou patogênicos para animais de sangue quente, inclusive o homem. Quatro tribos: *Pasteurellae*, *Brucelleae*, *Bacterioideae* e *Hemophilillae*.

Tribo *Brucelleae* Bergey, Breed & Murray, 1938 (Manual, 5th ed.). Bastonetes pequenos, móveis ou imóveis ou cocóides, que crescem em meios especiais. Um só gênero: *Brucella*.

Gênero *Brucella* Meyer & Shaw, 1920 (J. Inf. Dis. 27:173).

Bastonetes curtos com muitas células cocóides, medindo 0,5 por 0,5 a 2 micra; imóveis; capsulados; gram negativos; não liquefazem a gelatina; não produzem ácido nem gás a partir de hidratos de carbono; utilizam a uréia; parasitos, invadindo todos os tecidos animais, produzindo infecção dos órgãos genitais, da glândula mamária e dos aparelhos respiratório e digestivo; patogênicos para várias espécies de animais domésticos e o homem.

Espécie tipo: *Br. melitensis* (Hughes) Meyer & Shaw".

A chave para identificação das espécies, apresentada no Manual de Bergey é a seguinte:

"I — Imóveis:

A — Crescem em meios especiais, contendo fucsina básica.

1 — Cresce em meios contendo tionina .. *Br. melitensis*

2 — Não cresce em meios contendo tionina .....

..... *Br. abortus*

B — Não crescem em meios contendo fucsina básica. Crescem

em meio contendo tionina .....

..... *Br. suis*

II — Móvel .....

*Br. bronchiseptica*"

Conforme será visto adiante, algumas das características citadas no Manual de Bergey, como importantes, não possuem grande significação como, por exemplo, as seguintes: "não apresentam coloração bipolar", "não fermentam hidratos de carbono".

As três espécies de brucelas tiveram os seguintes principais sinônimos, segundo o Manual:

*Brucella melitensis* (Hughes) Meyer & Shaw, 1920; *Streptococcus melitensis* (sic) Hughes, 1892; *Micrococcus melitensis* Bruce, 1893; *Bacterium melitense* Saisawa, 1912; *Bacillus melitensis* Holland, 1920; *Alcaligenes melitensis* Bergey et al., 1923; *Brucella melitensis* var. *melitensis* Evans, 1923.

*Brucella abortus* (Schmidt & Weis) Meyer & Shaw, 1920; *Bacilo do abôrto* Bang, 1897; *Bacterium abortus* Schmidt & Weis, 1901; *Bacterium abortivum* Chester, 1901; *Corynebacterium abortus endemeci* Preisz, 1902; *Bacillus abortus* Evans, 1915; *Alcaligenes abortus* Bergey et al., 1923; *Brucella melitensis* var. *abortus* Evans, 1923.

*Brucella suis* Huddleson; *Germe parecendo Bacillus abortus* Traum, 1914 (A descrição do bacilo, com esta denominação, apareceu num trabalho anônimo que TRAUM, em 1920, declarou ser de sua autoria.); *Bacillus abortus* Good & Smith, 1916; *Brucella melitensis* var. *suis* Hardy, Jordan, Borts & Hardy, 1930; *Bacillus abortus suis* Meyer, 1931.

## C — MORFOLOGIA \*

As brucelas são bacilos muito pequenos, de extremidades arredondadas, lados paralelos e ligeiramente convexos. Seu tamanho, em geral, não excede de 2 micra; são, por vêzes, tão curtas, que aparentam cocos, donde o engano dos primeiros bacteriologistas que lhes chamaram *Streptococcus* (Hughes) ou *Micrococcus* (Bruce), esta última denominação tendo permanecido durante muitos anos na literatura. Mais propriamente poderiam ser consideradas coco-bacilos. A predominância da forma cocóide ou bacilar depende de vários fatores, variando de amostra para amostra. Em geral, a *Br. melitensis* apresenta uma tendência para a forma cocóide, enquanto as outras duas tendem à forma bacilar. (Fig. 5).

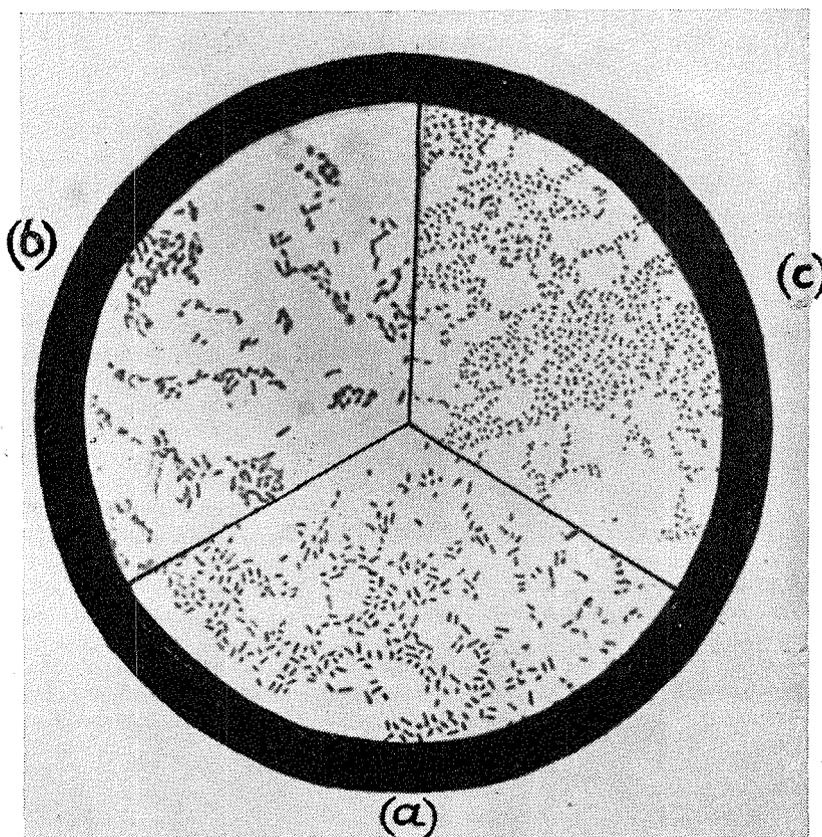


Fig. 5 — Morfologia de *Br. abortus* e *Br. melitensis*. a) — *Br. abortus* amostra humana da Rodésia; b) — *Br. abortus*, amostra bovina; c) — *Br. melitensis*, amostra de Malta. Culturas de 18 horas em meio de Fildes. Segundo DUNCAN.

\* Parte d'êste tópico foi publicada em "Brasil-Médico", 1955, 69(6-9):63-71, por G. PACHECO & M. THIAGO DE MELLO.

A microscopia eletrônica tem revelado que, embora predominem nos cultivos de *Br. melitensis* as formas cocóides, algumas amostras de *Br. suis* e de *Br. abortus* apresentam forma ovóide ou cocóide, assim como *Br. melitensis* pode apresentar-se alongada (von BORRIES & COLS.; LEMBKE; MALFATTI & ITHURRALDE; SCANGA; PACHECO & THIAGO DE MELLO). (Figs. 6, 7, 8).

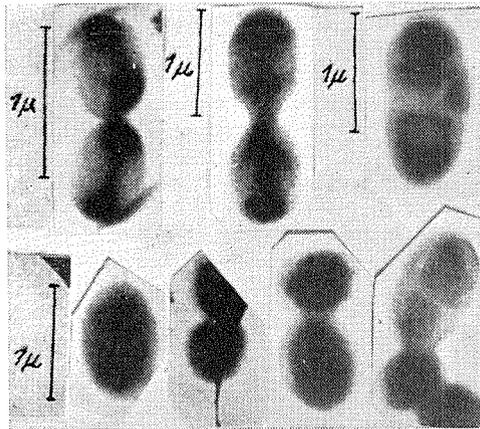


Fig. 6 — Microscopia eletrônica de *Br. abortus*. Segundo von BORRIES & COLS., em HARRIS.

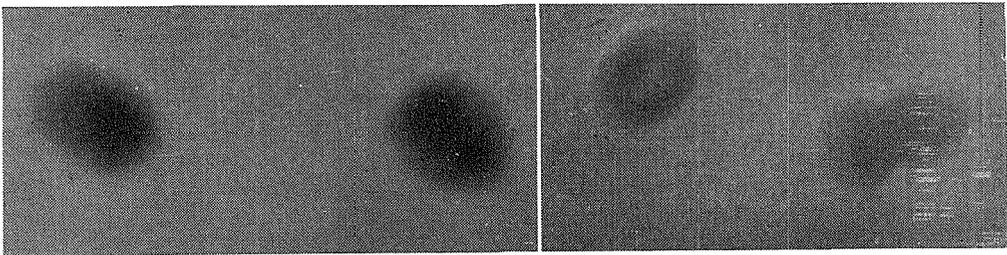


Fig. 7 — Formas cocóides de brucelas. À esquerda: *Br. suis*, cultura de 48 horas, 21 000 X. À direita: *Br. abortus*, cultura de 48 horas, sombreamento com cromo A = 7.5.º, 15.400 X. Fotografias por H. Muth, ao microscópio eletrônico. Original.

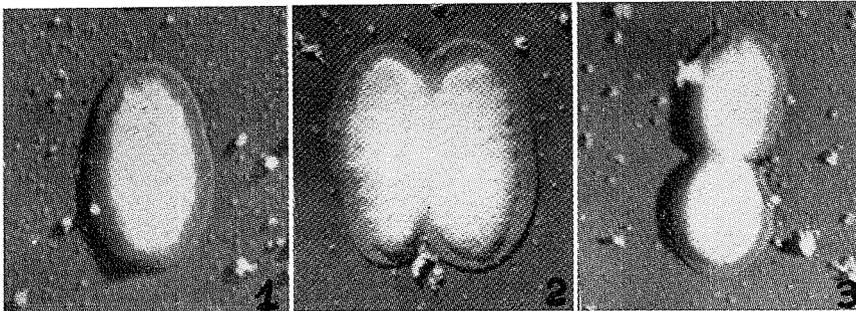


Fig. 8 — Formas de *Br. melitensis* observadas ao microscópio eletrônico; culturas em caldo, de 48 horas. 1 — Célula normal, alongada; 2 — Células normais, lado a lado; 3 — Células em divisão. Segundo SCANGA.

Nas culturas em caldo é freqüente alguns dos germes se alongarem. Em quaisquer culturas antigas, as brucelas apresentam certo pleomorfismo. Essas alterações, não raro, correspondem à transformação rugosa da cultura e seu conhecimento tem importância quando se utiliza a amostra no preparo de antígenos.

Quase como regra, quando cultivadas em meio sólido, a *Br. melitensis* apresenta formas curtas, cocóides, enquanto a *Br. abortus* e a *Br. suis* mostram elementos mais alongados. Contudo, a própria *Br. abortus*, que tem maior tendência a mostrar formas alongadas, pode apresentar-se cocóide, mesmo no isolamento inicial, em cultivos recentes, não dissociada e ainda exigindo gás carbônico para seu desenvolvimento, conforme observaram THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA.

DUNCAN, em 1928, verificou, em *Br. abortus*, formas bastante alongadas, quando cultivadas em meios relativamente ricos, como o meio de FILDÉS, de agar com digesto péptico de sangue; neste meio, entretanto, a *Br. melitensis*, em geral, conservou sua forma cocóide. (Fig. 5).

BABÉS & SALVATI descreveram formas alongadas de *Br. melitensis*, medindo até 5 micra de comprimento. No livro de HUDDLESON são figuradas formas de *Br. melitensis* alongadas e, mesmo, grandes filamentos, correspondentes à variação para rugoso. (Fig. 9).

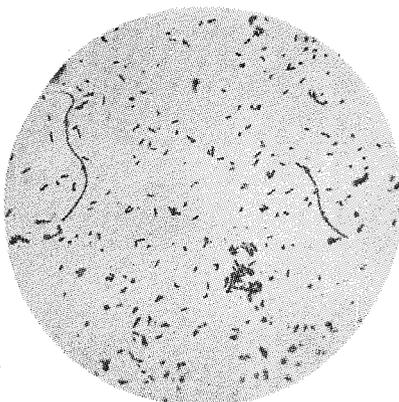


Fig. 9 — Formas filamentosas de *Br. melitensis* correspondentes à variação rugosa. Segundo HUDDLESON.

No decurso de passagens em série de uma amostra de *Br. abortus* em embriões de pinto, PACHECO & THIAGO DE MELLO observaram alterações morfológicas dos germes que haviam sido cultivados a partir de material de membrana cório-alantóide, depois da 7.<sup>a</sup> passagem. As brucelas tornaram-se mais alongadas, filamentosas, mesmo, e apresentaram muitas outras alterações morfológicas. Na 11.<sup>a</sup> passagem de ovo a ovo, a maioria das células estavam alongadas, filamentosas, algumas delas com as extremidades em clavias. (Fig. 10). Com o objetivo de observar se essas alterações morfológicas eram devidas à ação prolongada da lisosima da clara de ovo ou à ação dos líquidos embrionários, os autores cultivaram a mesma amostra em caldo triptose, adicionado de

quantidades crescentes de clara de ovo ou de mistura de líquido da membrana córioalantóide e conteúdo do saco vitelino de embriões de pinto de 11 dias. As culturas foram observadas com 2 e 5 dias. Nos tubos em que a concentração de clara de ovo permitiu o crescimento, os germes tinham aspecto normal. Na série com líquidos embrionários, houve crescimento em todos os tubos (até 4 partes de líquidos embrionários para uma de caldo triptose) mas as brucelas apresentaram muitas formas irregulares: alongadas, cocóides, com barras, em forma de clavas, redondas, ovóides, vacuoladas, pequenas granulações, deprimidas no centro, e outras. (Fig. 10).

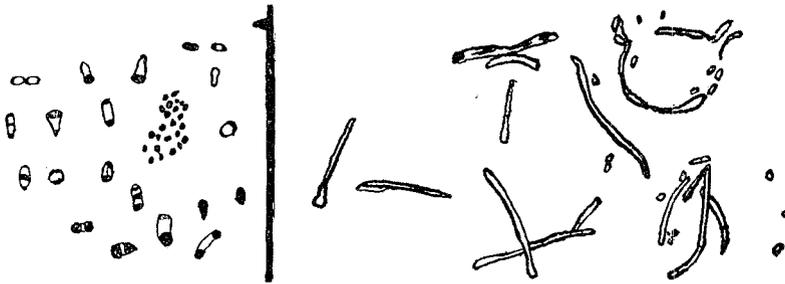


Fig. 10 — Alterações morfológicas em *Br. abortus*. À esquerda, cultura de 5 dias em caldo contendo líquidos embrionários; à direita, formas filamentosas da mesma amostra em líquido de membrana cório-alantóide de embrião de pinto, na 12.ª passagem. Desenhos esquemáticos em câmara clara. Original.

NELSON & PICKETT, em 1951, observaram formas L de brucelas isoladas de sangue humano. Para a observação dessas formas, recolhiam o sangue com anticoagulante, centrifugavam, desprezavam o plasma e tratavam o sedimento com água destilada, semeando-o em seguida em meio com tioglicolato. Ao microscópio, as formas L são comparáveis às das outras espécies bacterianas, pelo seu grande pleomorfismo: bastonetes, cocos, cadeias, formas ramificadas, formas intermediárias bizarras, restos de bactérias e formas gigantes típicas. (Fig. 11). Atribuem a existência da forma L à presença de bacteriófagos.

Utilizando o sedimento de sangue bovino citratado, mantido a 37°C, misturado com água destilada, PACHECO & THIAGO DE MELLO observaram, microscòpicamente, a presença de germes pequenos, cocóides, gram negativos, dos quais não conseguiram culturas. Não pôde ser dada uma interpretação exata ao achado, ficando a suspeita de brucela; o trabalho de NELSON e PICKETT parece indicar a procedência de tal suspeita.

As pequenas dimensões das brucelas têm permitido o emprêgo de certas técnicas em que se procurou fazer a separação desses germes de materiais contaminados ou de misturas de outros germes maiores, por filtração.

PIJPER conseguiu obter o isolamento de *Br. abortus* misturada com estafilococos em suspensão nágua destilada. Num tubo estreito, de vidro, aberto nas duas extremidades, coloca-se uma certa quantidade

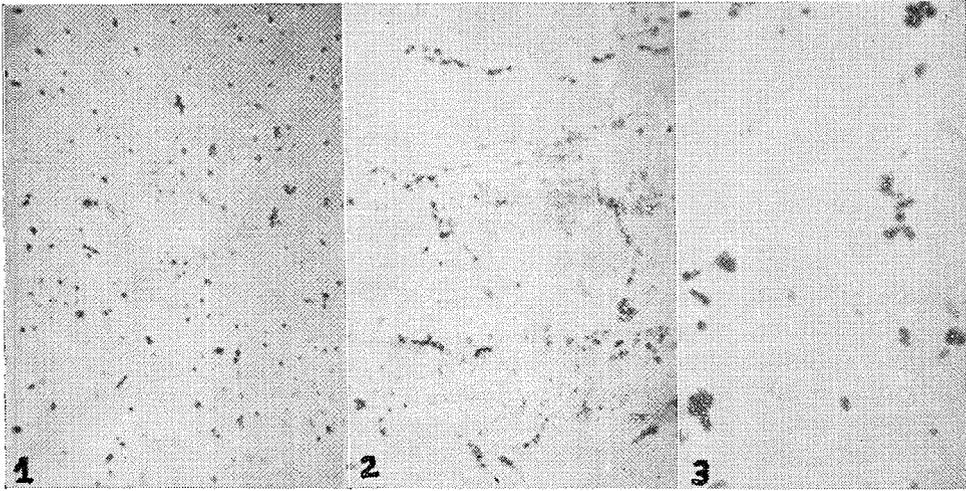


Fig. 11 — Formas de brucela: 1 — Pleomórficas e arredondadas, características do crescimento em caldo tioglicolato; 2 — Formas semelhantes às de pleuropneumonia, em caldo Albimi com tiamina, nicotínamida e digesto péptico; 3 — Pleomórficas de colônias L, no meio anterior, com 0,7% de agar. Segundo NELSON & PICKETT.

de algodão de vidro; a parte inferior do tubo é em bico de flauta e a superior apresenta uma virola; o tubo é colocado no interior de outro maior. (Fig. 12). O meio em que se faz a suspensão do material é,

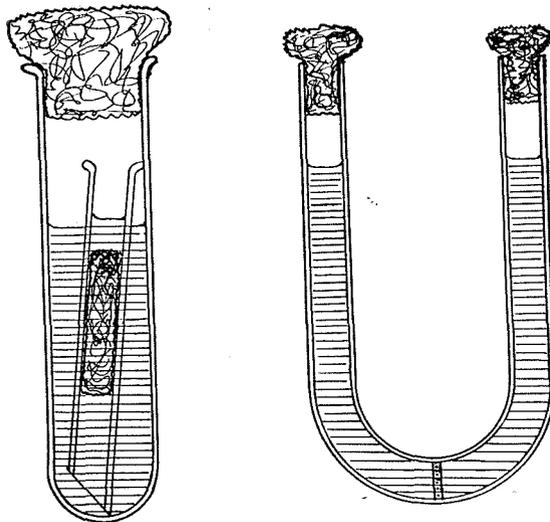


Fig. 12 — Dispositivos para filtração diferencial de bactérias, aplicáveis às brucelas. À esquerda, segundo PIJPER; à direita, segundo BRAUN & HOWELL. Explicação no texto.

em geral, o caldo, distribuído até a altura de cerca de 2 cm acima da rolha de algodão de vidro do tubo interno; o conjunto é autoclavado.

Semeia-se a mistura no tubo interno e periòdicamente examina-se o material do tubo externo. Quando a sementeira era feita com *Br. abortus* e estafilococos, em caldo, geralmente o estafilococo chegava primeiro ao tubo externo; sòmente muito tempo depois foi que PLEPER verificou que isto se dava porque os estafilococos em crescimento ativo matavam as brucelas. Quando usava salina, em vez de caldo, as brucelas chegavam primeiro. O método, mesmo com esta modificação, era demorado, necessitando de vários dias de observação.

O dispositivo de BRAUN & HOWELL baseia-se no mesmo princípio da filtração diferencial mas foi idealizado com o fito de separar amostras lisas de rugosas, quando misturadas numa suspensão. Consta de um tubo em forma de U, contendo na parte encurvada um disco filtrante de vidro; o aparelho é confeccionado com um tubo reto que contenha, na parte média, um disco filtrante F (de A. H. Thomas Co., Filadélfia) e que é, depois, encurvado em U. (Fig. 12). Ambos os ramos são cheios com caldo ou salina e o conjunto é autoclavado. Num dos ramos, coloca-se a mistura de brucelas lisas e rugosas. No fim de 16 a 90 horas, sòmente as formas lisas aparecem no outro ramo do tubo porque as rugosas, auto-aglutinando-se, não passam pelos poros do disco filtrante. As experiências foram feitas com misturas de *Br. suis* com células lisas e rugosas.

Livres nos meios de cultura, em esfregaços sòbre lâminas ou ao microscópio eletrônico, as brucelas se dispõem isoladamente ou aos pares, aproximadas pelas extremidades ou, mais raramente, uma ao lado da outra. (Figs. 5, 6, 7, 8, 13, 15). Às vèzes, são vistas em pequenos grupos, arranjadas sem ordem; êsses grupamentos podem conter numerosas células, parecendo verdadeiros grumos. Também podem ser observadas pequenas cadeias, donde a primitiva denominação de estreptococos; a diferenciação, no entanto, é fácil porque em geral os estreptococos se apresentam com o seu maior eixo transversal à direção da cadeia, enquanto nas brucelas os germes apresentam o maior eixo na mesma direção do eixo da cadeia. (Figs. 13, 16).

As brucelas coram-se facilmente pelos corantes usuais empregados em bacteriologia. São gram negativas. Uma observação curiosa é encontrada no trabalho de RITA & DELLA VIDA; as brucelas em fase rugosa apresentam, em geral, gram negatividade menos nítida do que as que se encontram em fase lisa; é um fato que necessita de confirmação. Não apresentam esporos nem cílios.

Freqüentemente são vistas coradas com mais intensidade nos polos, com o aspecto que, durante muito tempo, foi considerado característico das pasteurelas; a coloração bipolar é mais facilmente observada nos esfregaços de material patológico, ou naqueles de culturas que tenham sido fixados pelo álcool inflamado.

A estrutura interna das brucelas só recentemente tem sido estudada com maiores detalhes, graças ao auxílio prestado pelas técnicas citoquímicas e microscopia eletrônica.

Muitos autores têm observado a formação de cápsulas nas brucelas (HUDDLESON; MICKLE), enquanto outros contestam a presença dessa estrutura. Recentemente, GARGANI & SANTANI, em 1952, não conseguiram

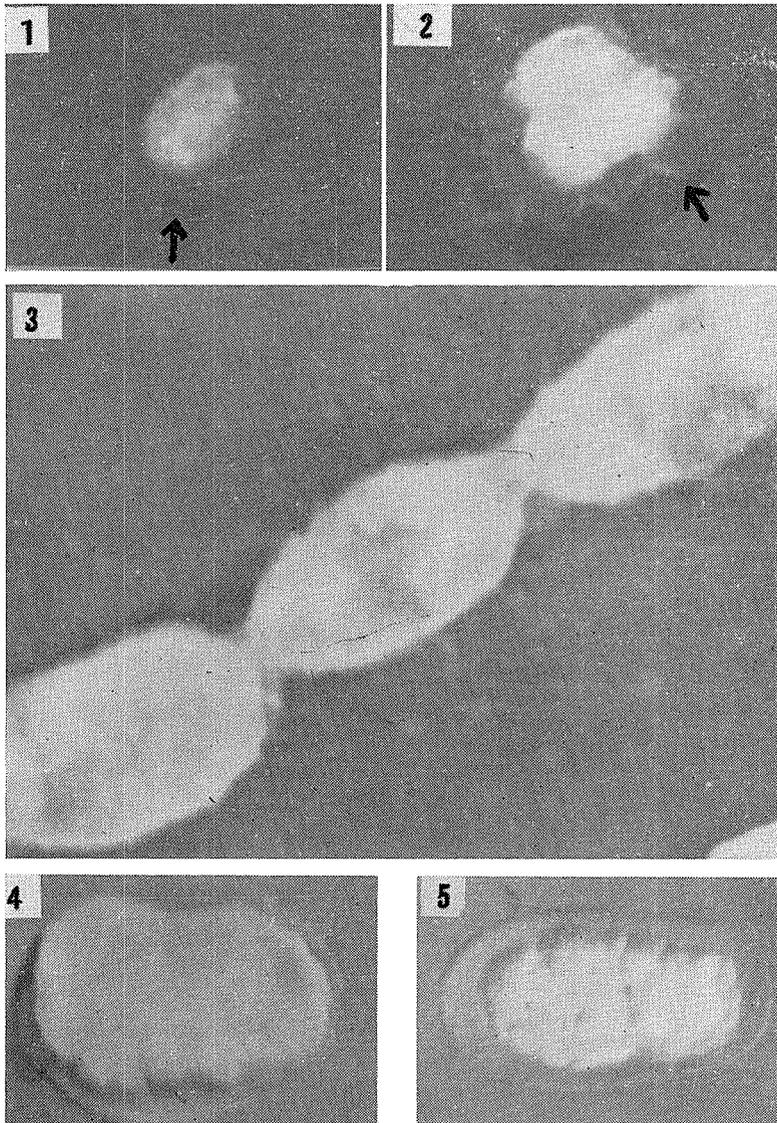


Fig. 13 — Microscopia eletrônica. Aspectos morfológicos de *Br. abortus* depois de vários tipos de extração de material capsular. 1 — extração em acetona a  $-60^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas a pH 5.2, em tampão de acetato; notar a dilatação da parede celular; 2 — extração em acetona a  $-60^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas; a parede celular dilatou-se e, depois, retraiu-se, durante o vácuo para a microscopia eletrônica; 3 — extração prolongada em acetona a  $-60^{\circ}\text{C}$ ; 4 — extração a pH 6.8, durante 48 horas, a  $4^{\circ}$  a  $6^{\circ}\text{C}$ , sem tampão; 5 — extração durante 48 horas a pH 9.0 em tampão de borato, a  $4^{\circ}$  a  $6^{\circ}\text{C}$ . Todos  $\times 30\,000$  exceto n.º 1 ( $\times 20\,000$ ). Gentileza de FOSTER.

ram observar cápsulas em 117 amostras de coleção, coradas pela técnica da tinta Nanquim. Por outro lado, as pesquisas de FOSTER parecem provar definitivamente a existência de cápsulas, desde que sejam empregados métodos adequados para sua evidenciação, inclusive à microscopia eletrônica (Fig. 13). Na realidade, as formas mucóides bem como

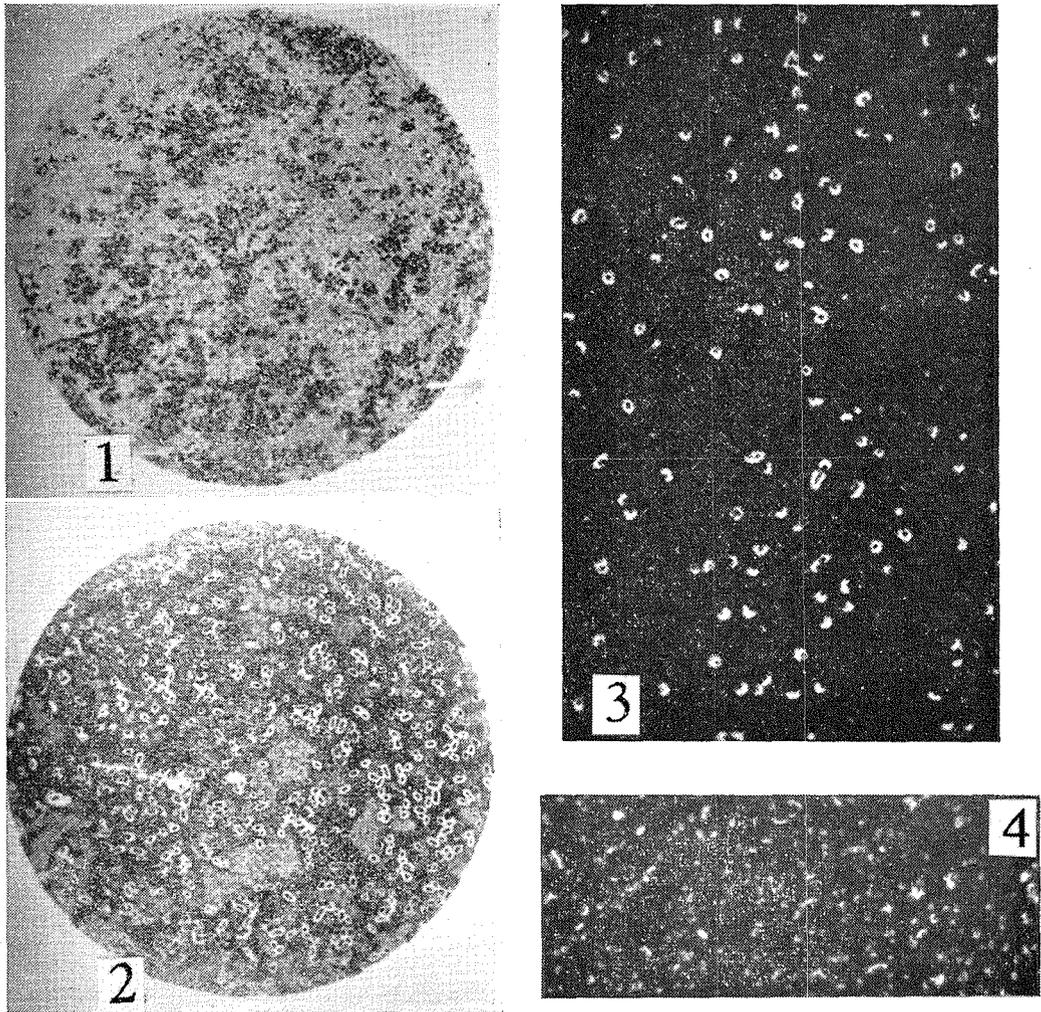


Fig. 14 — Cápsulas em brucelas. 1 — Amostra de brucela não capsulada, segundo MICKLE; 2 — Amostra capsulada, segundo MICKLE (1 e 2, método de HISS); 3 — Cápsulas de brucelas evidenciadas com o método da tinta nanquim, segundo HUDDLESON; 4 — Cápsulas de brucelas em suspensão aquosa de tinta nanquim, gentileza de FOSTER.

as lisas, em cultivos recentes, apresentam cápsulas nitidamente visíveis pela coloração negativa de Burri ou pela técnica de Churchman & Emelianoff, modificada por HUDDLESON, conforme pode ser visto nas fotografias de MICKLE, HUDDLESON e FOSTER, entre outras. (Fig. 14).

A microscopia eletrônica também permite demonstrar a presença da parede celular nitidamente diferenciada da membrana citoplasmática (SCANGA; FOSTER; PACHECO & THIAGO DE MELLO). (Figs. 8, 13, 15, 16).

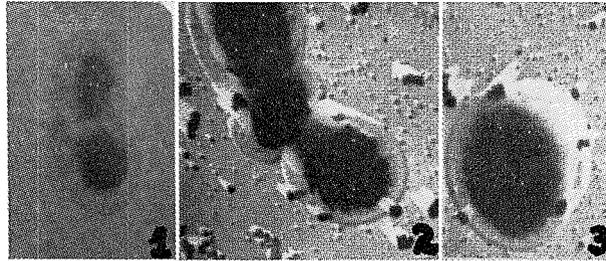


Fig. 15 — Parede celular e membrana citoplasmática em brucelas. 1 — *Br. abortus*, cultura de 48 horas; 15 000 x; fotografia por H. Muth; original. 2 e 3 — *Br. melitensis*, cultura de 48 horas tratada com aureomicina; segundo SCANGA.

As brucelas não são, geralmente, consideradas álcali e ácido resistentes. Este conceito, entretanto, deve ser modificado. Desde que se usem métodos mais brandos do que os utilizados para a coloração de

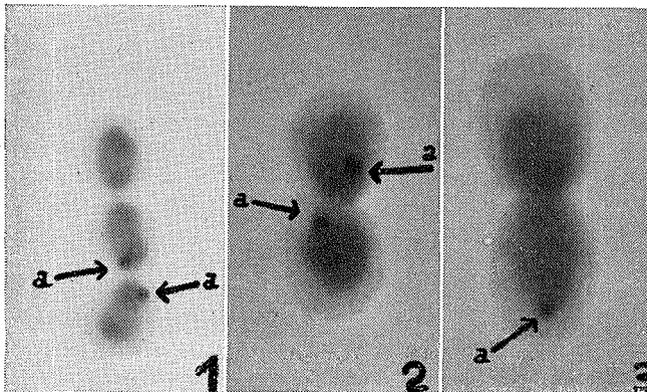


Fig. 16 — Estrutura de *Br. suis*, culturas de 48 horas, ao microscópio eletrônico. Observam-se: granulações polares, provavelmente mitocôndrias (a); condensações maiores, provavelmente massas nucleares; membrana citoplasmática e parede celular. 1 — 16 000 x; 2 — 21 000 x; 3 — 21 000 — Fotografias por H. MUTH. Original.

micobactérias, conseguem-se bons resultados. Aliás, CASTAÑEDA, em 1949, isolou de brucelas, por extração com clorofórmio, um componente químico semelhante ao que pode ser isolado de micobactérias, e dotado de ácido-álcool resistência.

A respeito da ácido resistência das brucelas, convém citar que o método de coloração de maior importância prática em relação a êsses

germes — o método de KÖSTER — baseia-se na relativa ácido resistência das mesmas. O método foi descrito por HANSEN & KÖSTER, em 1936 e, desde então, tem sido usado extensivamente, sobretudo nos países do norte da Europa, visando à evidencição microscópica de brucelas em material de abôrtos de bovinos, placentas, conteúdo estomacal de fetos, testículos, vesículas seminais, mucosa uterina, pus de mal de garrote de cavalos, etc. OLSON, em 1941, empregou-o com excelentes resultados; mais tarde, CHRISTOFFERSEN & OTTOSEN melhoraram-no bastante, tornando-o mais sensível, sem perda da especificidade. As modificações dêstes últimos pesquisadores foram recomendadas pelo Comitê de Peritos em Brucelose da Organização Mundial de Saúde, que transcrevemos a seguir:

“Método de coloração de Köster, modificado. Esta coloração é utilizada para o exame de materiais placentários bovinos. Durante as pesquisas efetuadas no Laboratório Nacional de Sorologia Veterinária de Copenhague (“Serumstaten Veterinariae Laboratorium”), constatou-se que com o método modificado de Köster o número de casos positivos identificados a partir de exames de placenta, aumentou de 10% em relação aos resultados obtidos com o método habitual de coloração com azul de metileno fenicado. *As brucelas são coradas em vermelho contrastando nitidamente com a coloração azul ou violeta do fundo.* Entre os bacilos comuns encontrados nos esfregaços de placenta, apenas *Brucella* e *Mycobacterium tuberculosis* coram-se em vermelho. A coloração é feita da seguinte maneira:

- 1 — Secar o esfregaço e fixá-lo na chama.
- 2 — Corar durante cêrca de 1 minuto com uma mistura de 2 partes de solução saturada de safranina e de 5 partes de solução normal de potassa. As soluções de safranina e de potassa devem ser misturadas imediatamente antes de seu emprêgo.
- 3 — Lavar em água corrente.
- 4 — Recobrir com uma solução a 0,1% de ácido sulfúrico durante 10 a 20 segundos.
- 5 — Lavar cuidadosamente.
- 6 — Fazer uma coloração de fundo com solução comum de azul de metileno fenicado, durante 2 a 3 segundos.
- 7 — Lavar, secar e examinar.”

Com o método de KÖSTER, as brucelas intracelulares também se coram perfeitamente e não se confundem com as estruturas celulares que, por sua vez, quase sempre estão alteradas devido à presença das brucelas, principalmente os núcleos que são recalçados para a periferia e apresentam sinais de destruição.

A presença de granulações nas brucelas tem sido freqüentemente assinalada, além das condensações verificadas nas extremidades e que lhes dão o aspecto de pasteurelas. O encontro de tais granulações levou BANG a chamar ao bacilo que descobrira, com STRIBOLT, de *Corynebacterium abortus infectiosi*, e PREISZ denominou-o *Corynebacterium abortus endemeci*.

A natureza das granulações observadas não está bem fixada mas existem evidências, pelos trabalhos de THIAGO DE MELLO & NIBER SILVA, de que pelo menos algumas delas sejam mitocôndrias.

LEMBKE & Cols., em 1951, observaram, ao microscópio eletrônico, granulações em *Br. abortus* e declararam que, devido às suas pequenas dimensões (menos de 0,2 micron), elas só poderiam ser observadas ao microscópio ótico em preparações coradas pela prata; tais grânulos desprendem-se com facilidade das células mães e podem ser evidenciados isoladamente por meio de filtros Schott. Os autores chamam aos grânulos de formas menores "Minorformen", podendo ser enriquecidos pelo cultivo em humor aquoso do olho de coelho; não puderam, contudo, obter a reversão à forma primitiva. Descrevem a formação dos grânulos dizendo que as células que vão apresentá-los mostram primeiro condensações nos polos; a seguir, surgem granulações pequeníssimas, como poeiras, as quais, no fim de mais alguns dias, parecem transformar-se em grânulos maiores, em geral dois ou múltiplos de dois. Certos antibióticos, por exemplo, a patulina, agindo durante dois dias sobre as brucelas, fazem com que as células se apresentem circundadas por numerosos grânulos e, no fim de 7 dias, quase não se encontram mais células intactas havendo, por outro lado, grande número dessas granulações arredondadas que podem ser vistas isoladas, depois de ultracentrifugação. LEMBKE & COLS. concluem dizendo que não possuem dados sobre a constituição bioquímica dessas granulações.

MALFATTI & ITHURRALDE também observaram granulações internas, ao microscópio eletrônico, nas três espécies de brucelas: acham que *Br. abortus* apresenta duas granulações, uma em cada polo, enquanto *Br. suis* e *Br. melitensis* em geral apresentam uma só, embora algumas células também apresentassem duas.

Recentemente, THIAGO DE MELLO & NIBER SILVA observaram, em brucelas das três espécies, incubadas em presença duma solução de cloreto de trifeniltetrazólio a 1%, pequenas granulações coradas em vermelho, isoladas numa das extremidades, mais raramente em ambas; a evidenciação com o microscópio ótico torna-se mais fácil, quando usado o filtro verde. A observação, ao microscópio eletrônico, de suspensões dessas amostras de brucelas, antes de exposição ao tetrazólio, mostrou condensações nos polos (Fig. 16), semelhantes às das figuras existentes nos trabalhos de LEMBKE & Cols. e de MALFATTI & ITHURRALDE. Admitem THIAGO DE MELLO & NIBER SILVA que as granulações sejam mitocôndrias, pois o método utilizado foi o mesmo segundo o qual tais estruturas têm sido evidenciadas noutras bactérias e em certos tipos de células animais. A resultado idêntico chegaram, mais tarde, SHAFFER & Cols., evidenciando o mesmo tipo de granulações com neotetrazólio. (Fig. 17). A falta de destruição das granulações pelos antibióticos, como a patulina (LEMBKE & Cols.), parece mais uma evidência no sentido de serem as mesmas identificáveis às mitocôndrias, de acordo com as observações feitas por MUDD e colaboradores em outras bactérias.

Quanto à presença de núcleos em brucelas, não parece terem sido essas estruturas evidenciadas, até agora, mas é possível que as mesmas

existam nesses germes. Experiências feitas por THIAGO DE MELLO & NIBER SILVA com culturas de 24 horas, utilizando a técnica de SMITH, que tem fornecido bons resultados com outras espécies bacterianas, não permitiram mostrar núcleos nas brucelas examinadas, provavelmente devido ao tempo de incubação excessivo para a técnica empregada.

Outras estruturas observadas ao microscópio eletrônico ainda não foram convenientemente interpretadas; em geral são massas relativa-

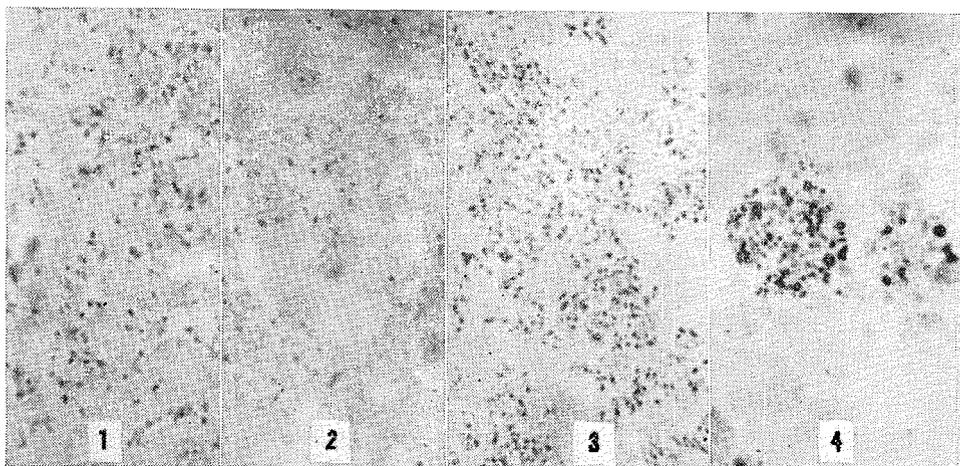


Fig. 17 — Granulações intracelulares em brucelas, coradas com tetrazólio (mitocôndrias?). 1 — Redução de neotetrazólio por cultura de 24 horas de *Br. suis*, em caldo; 2 — Suspensão de *Br. suis*, tratada durante 48 horas com estreptomicina (nenhuma célula viável); 3 — Redução de neotetrazólio, por *Br. suis* exposta durante 48 horas à cloromicetina (células viáveis); 4 — Redução de neotetrazólio por um leucócito que contém diversas brucelas no interior. Segundo SHAFER & COLS.

mente grandes, de maior opacidade aos elétrons e que poderiam ser consideradas núcleos, como admite SCANGA para outras bactérias.

Os aspectos morfológicos das brucelas nos materiais patológicos ou nos tecidos não são diferentes dos que se observam em cultivos, a não ser que as formas são bem menores, em geral 0,2 a 0,8 micron. Apresentam-se isoladas, aos pares, unidas pelas pontas (quando cocóides parecem diplococos no momento da divisão), ou em pequenos grupos.

Cabe assinalar que os germes podem ser vistos tanto fora como dentro de certas células, de preferência as que derivam do sistema retículo-endotelial. Desde o trabalho inicial de BANG, fôra feita essa observação, seguindo-se as realizadas em 1908, por NOVAK, em 1912, por FABYAN (Fig. 18) e, a seguir, por THEOBALD SMITH, em 1919 (Fig. 18). Freqüentemente eram publicadas ilustrações mostrando, com nitidez, células repletas de brucelas, como nos trabalhos de FRÖHNER & ZWICK e de HUDDLESON. Contudo, ficaram elas praticamente no olvido. Mesmo quando GOODPASTURE & ANDERSON, em 1937, e BUDDINGH & WOMACK, em 1941, fizeram observações idênticas em embriões de pinto,

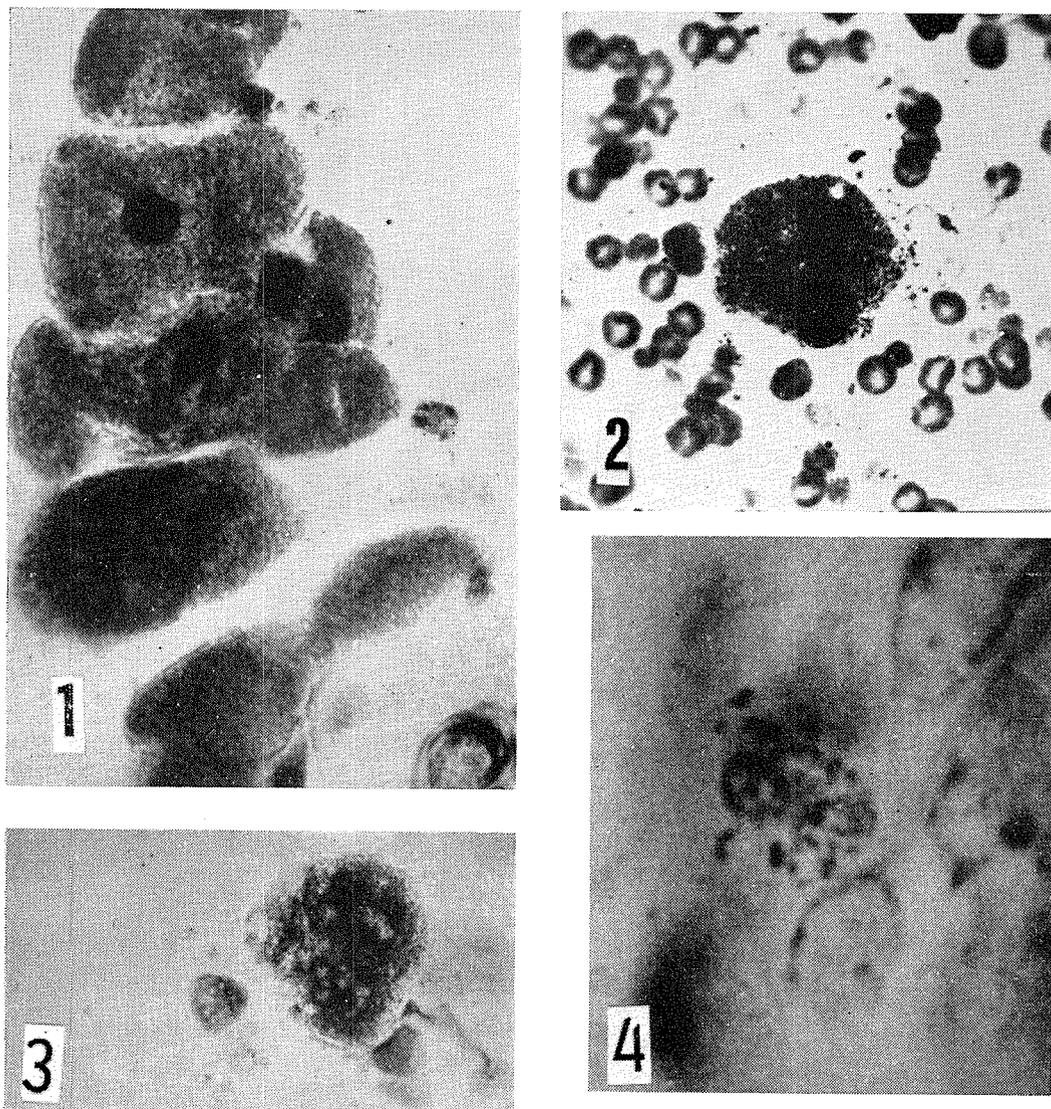


Fig. 18 — Colonização intracelular de brucelas. 1 — Placenta de vaca, segundo SMITH; 2 — Fagócito de pulmão de rato, gentileza de CASTAÑEDA; 3 — Célula de exsudato de placenta de vaca, segundo SMITH; 4 — Célula epitelióide de pulmão de cobaia, segundo FABYAN.

infectados com brucelas, não se deu maior importância ao fato. Somente depois do trabalho de MEYER, publicado em 1943, em que descreveu o parasitismo intracelular de brucelas, num caso humano de brucelose, por *Br. suis*, foi a atenção dos pesquisadores despertada para o assunto.

CASTAÑEDA e NYKA, ambos trabalhando no México, provaram de modo irrefutável o parasitismo intracelular das brucelas, em infecções

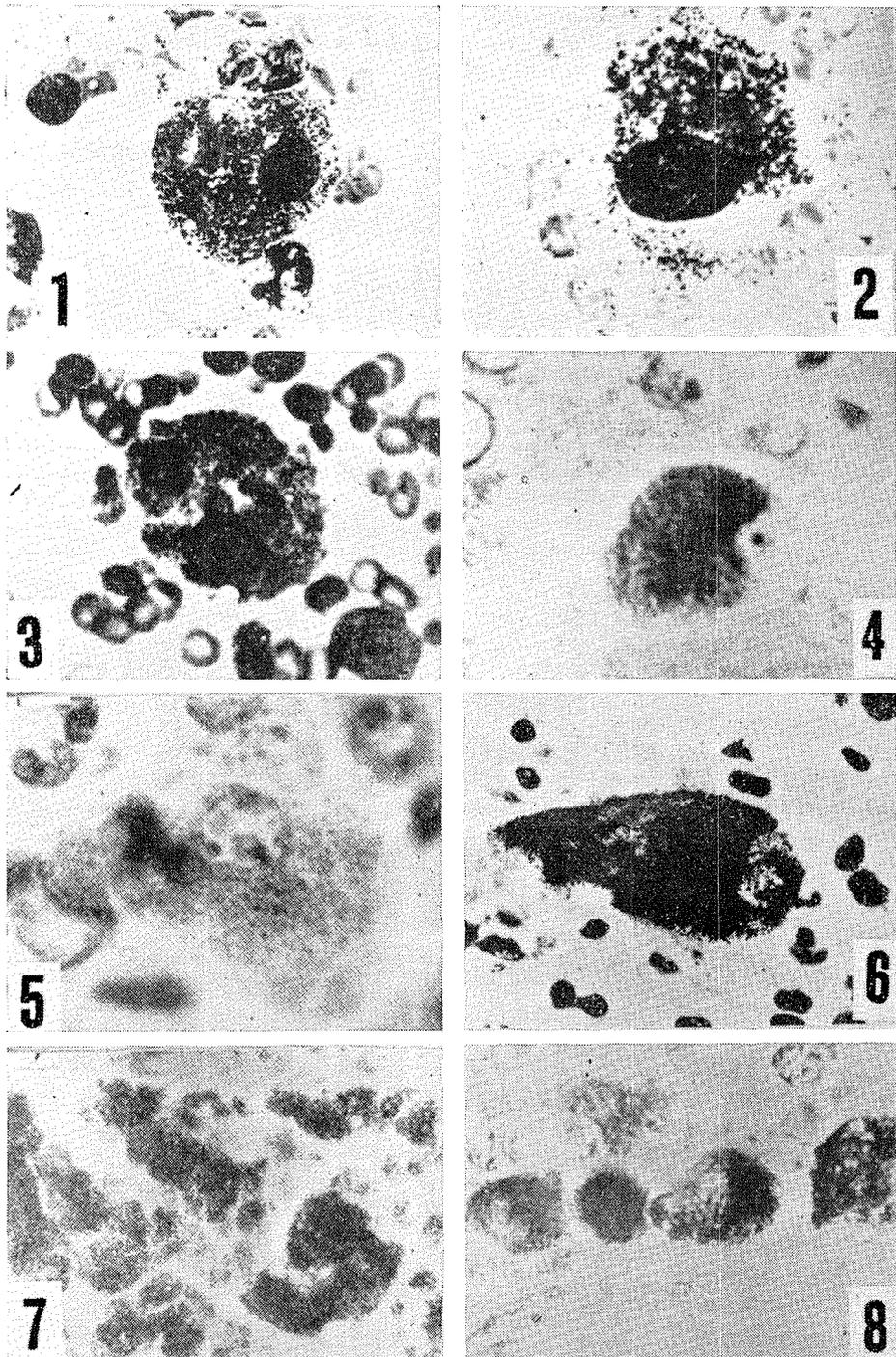


Fig. 19 — Brucelas intracelulares. 1 — Fagocitose, por macrófagos de rato, de brucelas mortas; 2 e 3 — fagocitose de riquetsias mortas, para comparação; 4 — célula de embrião de pinto, com brucelas, segundo BUDDINGH & WOMACK; 5 — células parenquimatosas de testículo de camundongo, contendo brucelas; 6 — brucelas intracelulares em rim humano, segundo NYKA; 7 — brucelas intracelulares em rim humano, segundo MEYER; 8 — brucelas em macrófagos, em testículo de camundongo. 1, 2, 3, 5 e 8, segundo CASTAÑEDA.

experimentais em animais de laboratório e em casos de infecção humana. (Figs. 18, 19). Ficava, assim, esclarecida a patogenia da brucelose. Também ressaltou-se logo a significação do fato com relação à resistência tão conhecida das brucelas aos medicamentos usuais: desde que êstes não consigam penetrar nas células, seu efeito será nulo sôbre as brucelas ali acantonadas.

SPINK & Cols. têm feito numerosas experiências a respeito do parasitismo intracelular das brucelas e de sua importância biológica relativa à patogenia e ao tratamento da infecção, tendo SPINK, recentemente, publicado boa revisão sôbre o assunto.

As células parasitadas podem ficar atulhadas completamente pelas brucelas. O núcleo é recalçado para a periferia e apresenta sinais de destruição (Figs. 18, 19, 20, 71, 72). As células terminam por se arrebentarem.

O achado de células, contendo numerosas brucelas no seu interior, não representa uma simples fagocitose e sim colonização intracelular. Os germes aí se encontram vivos, conforme pode ser demonstrado, fazendo-se colorações vitais. SHAFFER & Cols., por exemplo, observaram granulações coradas pela formazana (tetrazólio reduzido) em brucelas contidas no interior de leucócitos (Fig. 17); tal coloração é observada sômente nas bactérias que estão com sua atividade respiratória íntegra.

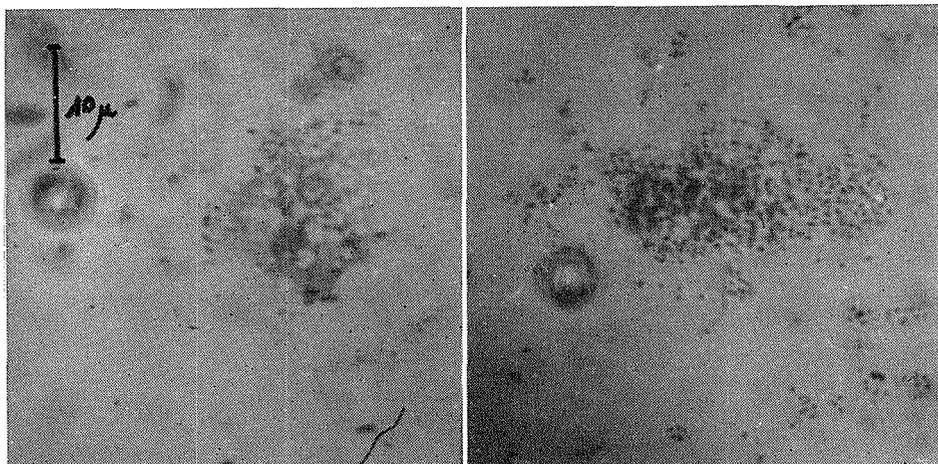


Fig. 20 — Brucelas intracelulares; preparado por impressão; baço de hamster infectado experimentalmente. Original.

Em infecções experimentais podem ser obtidas boas preparações com a técnica dos esfregaços por impressão e corando-se pelo método de NYKA. Desta forma, PACHECO & THIAGO DE MELLO puderam obter boas células parasitadas, na infecção experimental em hamster (Fig. 20).

## D — CARACTERES CULTURAIS

As brucelas crescem lentamente nos meios usuais de cultura, mas vegetam na maioria dêles, atingindo desenvolvimento abundante, em geral no fim de 48 a 72 horas.

Quando recentemente isoladas, não crescem igualmente bem. A *Br. suis* é a que mais rápida e facilmente se desenvolve, seguindo-se-lhe a *Br. melitensis* e, por fim, a *Br. abortus*, a mais exigente das três, necessitando, inclusive, de uma certa quantidade de gás carbônico nos primeiros cultivos.

Em meios líquidos, as brucelas produzem turvação uniforme, bem visível em 24 horas, e tanto mais intensa quanto mais favorável fôr o meio para o seu desenvolvimento. Depois de 24 horas, a turvação aumenta e uma certa quantidade de germes começa a depositar-se no fundo do tubo. A princípio, o depósito desfaz-se com facilidade pela agitação. Com o passar dos dias, o meio vai tornando-se límpido, enquanto o depósito aumenta, apresentando-se viscoso; a rotação do tubo faz com que se levante o crescimento todo, sob a forma de uma corda que dificilmente se desfaz pela agitação ("ropy growth"). Na superfície do meio, forma-se colar e, às vêzes, discreta película, mais abundante nas formas rugosas.

De acôrdo com THOMSEN, as brucelas cultivadas em caldo, em garrafas de larga superfície, apresentam características diferentes. As amostras de *Br. abortus*, que exigem CO<sub>2</sub>, bem como as de *Br. suis*, dão origem, no fim de 1 a 3 semanas, a uma película superficial fari-nhenta ou escamosa, e um depósito abundante, difícil de desintegrar pela agitação; as de *Br. abortus*, que não exigem CO<sub>2</sub>, não formam película mas produzem turvação uniforme e pequeno depósito, que é facilmente desfeito pela agitação; as de *Br. melitensis* dão intensa turvação, depósito regular e película superficial incompleta.

Uma característica interessante das culturas de brucelas foi observada por PACHECO & THIAGO DE MELLO em caldo de placenta bovina. Além da formação, no fim de 8 dias na estufa a 37°C, de colar e de película muito discreta, observaram o aparecimento de filamentos, visíveis a olho nu, que desciam da superfície do meio (da película) ou caíam ao longo das paredes do tubo; a mais ligeira agitação os acentuava e êles, então, desciam da superfície até o fundo do tubo; êsses filamentos formavam-se, em geral, tardiamente, depois de 15 dias, tanto nas culturas a 37°C como nas conservadas à temperatura ambiente. As estalactites não foram observadas em outros meios líquidos, a não ser em algumas amostras, em caldo triptose, com cêrca de 30 dias. Êsses filamentos, às vêzes, apresentavam granulações flocosas de espaço a espaço e eram semelhantes às chamadas estalactites, observadas nas culturas de *Pasteurella pestis* que durante algum tempo foram considerados peculiares a esta espécie.

Nos meios líquidos, o depósito vai tornando-se pardacento e o pigmento castanho se difunde para o meio. O conjunto apresenta o aspecto de chá escuro, com massa pegajosa no fundo, de coloração

também parda. A agitação do tubo faz com que o crescimento se levante com o aspecto de corda antes referido.

Em meios sólidos, com agar, as colônias isoladas são pequenas, puntiformes, arredondadas, convexas, transparentes ou translúcidas, de superfície lisa e brilhante, de bordos regulares; em suma, o aspecto que tem sido comparado clàssicamente a gôtas de orvalho. À primeira vista, podem parecer colônias de estreptococos.

Nos meios em que o desenvolvimento é escasso, as colônias são pouco visíveis em 24 horas, apresentando aspecto acinzentado ou azulado à luz incidente contra fundo escuro, contrastando com os meios claros transparentes. Nos meios enriquecidos, elas já se apresentam nitidamente visíveis no fim desse tempo. As amostras lisas costumam mais a crescer do que as rugosas. Os repiques sucessivos também dão origem a colônias maiores. Em geral, o crescimento máximo das colônias é atingido no fim de 4 a 5 dias, quando o diâmetro é de cerca de 2 a 3 milímetros (Fig. 21). As mais antigas se vão tornando pardas.

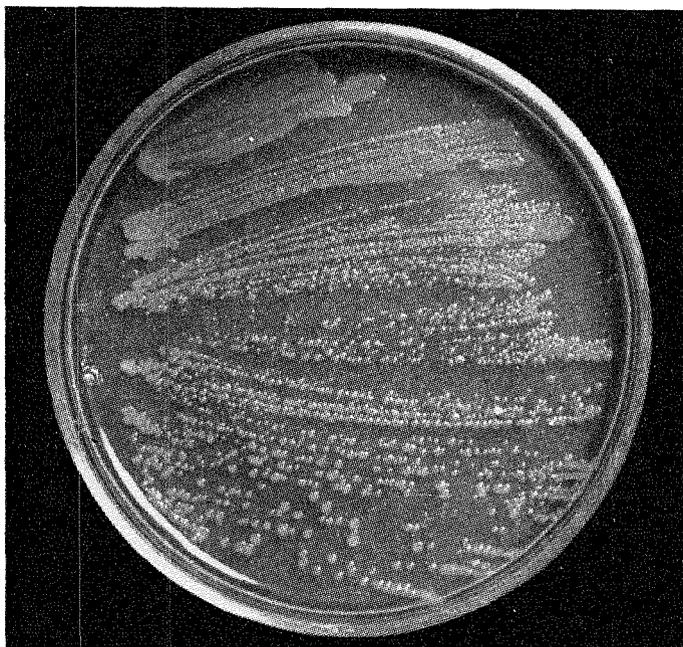


Fig. 21 — Aspecto de colônias de brucelas em agar. Cultura de 4 dias. Segundo HUBBLESON.

O aspecto das colônias vistas ao microscópio varia de acôrdo com a fase em que se encontram as brucelas e será discutido no capítulo da variação.

Semeadas em estrias ou por espalhamento abundante, as brucelas crescem nos meios sólidos sob a forma de induto brilhante, amarelado ou brancacento, transparente, tornando-se nitidamente amarelado com

o envelhecimento, assemelhando-se a mel de abelhas. O induto pode destacar-se com facilidade maior ou menor, de acôrdo com a fase de variação em que se encontram os germes.

Muitas culturas envelhecidas, principalmente de amostras de *Br. melitensis*, tornam-se pardacentas e o pigmento castanho difunde-se para o meio, mas sem a mesma intensidade observada no cultivo em batata.

Na gelatina, o crescimento é escasso e o meio não é liquefeito.

Na batata observa-se desenvolvimento bastante característico. Nos primeiros 2 a 3 dias, as brucelas crescem sob a forma de induto amarelado semelhante a mel. Passado êsse prazo, o crescimento vai ficando mais escuro, tornando-se amarelo pardacento, e, finalmente, côr de café com leite; o pigmento se difunde para a batata, que fica escura. Êsse aspecto não é peculiar às brucelas, sendo observado, igualmente, no bacilo do mormo, do qual elas bastante se aproximam, conforme tem sido assinalado por vários pesquisadores e, mais recentemente, por РАСНЕО; também se parece com o verificado no bacilo piociânico, no bacilo do cólera e em outros germes.

Outras características das brucelas em diversos meios de culturas serão vistas na parte de diferenciação das espécies e em outros tópicos (variação, influência de agente físico-químico, etc.).

#### E — MEIOS DE CULTIVO

Desde os primeiros trabalhos feitos com brucelas, reconheceu-se que, embora não houvesse grandes dificuldades para o seu cultivo, o isolamento inicial e as primeiras subculturas necessitavam de meios diferentes dos correntemente empregados em bacteriologia.

De modo geral, quanto mais complexo e rico em proteínas animais é o meio, maior é o crescimento das brucelas. Certamente êsse fato decorre da circunstância de os germes adotarem um parasitismo intracelular semelhante ao dos virus e riquetsias, proliferando melhor, portanto, naqueles meios em que líquidos orgânicos em natureza lhes são oferecidos.

Cedo verificou-se que certos meios pareciam favorecer enormemente o cultivo, como os preparados com placenta, baço, fígado, testículo, ou, apenas, meios simples a que se adicionava sôro normal ou líquido ascítico. Mais tarde, se verificou que os meios preparados com digestos pépticos ou tripticos dos órgãos acima citados e de outros davam rendimento bacteriano ainda maior. Outros fatores, para o bom desenvolvimento das brucelas, foram sendo estudados.

Pode-se resumir a evolução dos principais meios utilizados correntemente para o cultivo das brucelas no seguinte quadro:

- a) meios com infusos de carne
- b) meios com sôro normal ou líquido ascítico
- c) meios com placenta ou líquidos embrionários

- d) meios com fígado
- e) meios com digestos de órgãos
- f) meios com triptose
- g) meios com tripticase
- h) meios Albimi

Numa classe à parte, ficariam os chamados meios sintéticos, ou de composição química definida, para finalidades especiais, bem como certos meios para cultivo em massa, como o meio de água de batata.

De vez em quando, alguns dos meios como que revivem na bacteriologia da brucelose, com pequenas modificações, passando a levar o nome do autor da modificação. Presentemente, os meios que parecem dar melhor resultado, tanto para o isolamento inicial como para as culturas subseqüentes, são o de tripticase-soja e os de Albimi: Albimi C e Albimi M.

a) Os meios com *infusos de carne bovina* têm sido utilizados desde os primórdios dos estudos sobre brucelas. Nos caldos feitos com infusos de carne de vitela, o crescimento é, em geral, muito bom, principalmente quando se adicionam 1% de glicose e 5% de soro normal ou líquido ascítico. PACHECO & THIAGO DE MELLO verificaram melhor desenvolvimento de brucelas nesse meio, comparado com diversos outros. GARGANI & DONNINI fazem restrições ao emprêgo do agar infuso de carne de vitela, sem dextrose e sem soro; no agar infuso de carne com soro normal de cavalo, entretanto, o crescimento de brucelas foi excelente.

b) Os meios com *soro normal ou líquido ascítico* foram dos primeiros empregados para o cultivo de brucelas. Aliás, BANG & STRIBOLT cultivaram *Br. abortus* em agar (0,75%) caldo de carne de vaca gelatinado a 5% e com partes iguais de soro. Até hoje, os resultados que fornecem os meios com soro ou com líquido ascítico podem ser considerados excelentes. Na rotina de nosso laboratório, são empregados freqüentemente, pelo seu baixo custo e facilidade de obtenção e preparo. Em geral, êsses líquidos orgânicos são adicionados na proporção de 5% a 10% ao caldo ou agar glicosado a 1%.

As verificações de BRAUN & Cols., a partir de 1946 (ver a revisão de Braun, em 1949), de que os sôros de espécies mais suscetíveis à brucelose (bovinos, cobaias, etc.) contêm um fator que impede a variação das brucelas de lisas para rugosas, torna recomendável a junção do soro desses animais aos meios de cultura para brucelas, a fim de manter as boas condições das amostras no laboratório. Êste assunto será examinado em detalhe no capítulo de variação.

c) Os meios com *placenta* ou *líquidos embrionários* têm sido usados desde muito tempo em trabalhos com brucelas, sendo muitos dos primitivos citados por ZWICK. Assim, por exemplo, GILTNER usava útero, secundinas, fetos, líquido aniótico e líquido ascítico fetal; TÜXEN empregava caldo de infuso de útero de vaca adicionado de glicerina; ZWICK & ZELLER usavam caldo de carne de vaca mais 10% de líquido aniótico, 5% de glicerina e 1% de glicose.

LOPEZ, na Espanha, durante muitos anos utilizou um infuso de placenta bovina (envoltórios fetais e cotiledôneos), ao qual adicionava peptona (1,5% a 2%), glicerina (5%), cloreto de sódio (0,5%), agar (3%); pH 7.6-7.8. O desenvolvimento de brucelas era excelente e estas conservavam-se vivas no mesmo durante 9 meses. SATTÁ obteve resultados com meios de placenta humana; ao infuso obtido eram adicionados 1% de peptona e 0,5% de cloreto de sódio; podiam ser adicionados 3% de glicerina e 0,5% de glicose. SOUZA, no Brasil, também empregou, com bons resultados, no cultivo de muitos germes, de crescimento difícil, inclusive brucelas, um meio à base de placenta humana. SOHRAB, no Irã, também utilizou meio semelhante, para o cultivo de brucelas.

PACHECO & THIAGO DE MELLO, em experiências comparativas, observaram que 10 amostras das 3 espécies de brucelas cultivavam-se facilmente em meios sólidos e líquidos preparados com placenta bovina em vez de carne (infuso de placenta bovina mais 1% de glicose, 1% de peptona e 0,5% de cloreto de sódio, pH 7.2). O crescimento, no fim de 24 horas na estufa, a 37°C, foi avaliado pela turvação medida em colorímetro fotoelétrico. O meio de placenta revelou-se superior aos seguintes: caldo extrato de carne, caldo de carne glicosado, caldo fígado citratado e caldo triptose; somente o caldo de carne de vitela mostrou-se melhor que o de placenta. Durante muito tempo, o meio de placenta foi usado rotineiramente em nosso laboratório mas, considerando que seus resultados não eram superiores aos obtidos com o caldo infuso de carne de vitela, e, principalmente, que o seu preparo é trabalhoso (viscosidade do material, turvação difícil de remover), foi abandonado seu emprêgo.

d) Os meios de *fígado* foram os que durante mais tempo se utilizaram em bacteriologia da brucelose. Inicialmente preparados por HOLTH (1911), foram mais tarde modificados por STAFSETH (1920), passando a chamar-se meio de STAFSETH. Posteriormente, HUDDLESON introduziu pequenas modificações e o chamado meio de HUDDLESON passou então, a ser largamente empregado. Esse autor aconselha o seguinte modo de preparo: 2 libras de fígado moído são adicionadas a 1 litro d'água, levando-se ao vapor fluente durante 20 minutos, mexendo-se de vez em quando; juntar mais 1 litro d'água e manter no vapor fluente durante uma hora e meia; restabelecer o volume com água e adicionar 2% de agar, 1% de peptona e 0,25% de cloreto de sódio; deixar em repouso durante 12 horas e acertar o pH a 7.0; decantar, em recipiente cônico, resfriando lentamente; o precipitado solidificado no fundo é desprezado; o sobrenadante é retirado, distribuído e esterilizado a 115°C, durante 20 minutos.

Embora tenha sido usado por toda parte durante muitos anos, o meio de fígado apresenta resultados bastante irregulares; o que se deve, provavelmente, à dificuldade em se obter uniformidade duma partida para outra. Aliás, ARDREY, trabalhando no laboratório de HUDDLESON, desde 1941, havia chegado às mesmas conclusões, quando estudou os fatores que influenciavam o isolamento, o cultivo e a diferenciação das espécies de brucelas.

PACHECO & THIAGO DE MELLO verificaram que o caldo de fígado glicosado era um dos meios em que a amostra de *Br. suis*, com a qual trabalharam, apresentava menor crescimento, em comparação com vários meios, contendo digestos, caldo infuso de carne de vitela, caldo triptose, etc.

MAZETTI & TESI acham que as sementeiras em profundidade nos meios de fígado não permitem sempre bom desenvolvimento, provavelmente porque surgem condições de anaerobiose a que são sensíveis certas amostras de brucelas.

GARGANI & DOMMINI verificaram, em provas comparativas, que o meio de agar fígado não só era de difícil preparo, devendo, mesmo, ser confiada esta operação sempre à mesma pessoa, para obterem-se resultados regulares, como também, em certos casos, as brucelas não se desenvolviam nos mesmos.

SCHUBERT verificou que um extrato acetônico de fígado de porco adicionado a caldo triptose, agar tripticase, e agar triptose, era capaz de permitir bom crescimento de amostras de *Br. abortus*, que exigiam CO<sub>2</sub>, as quais cresciam mal nos meios de agar triptose e agar tripticase-soja (Fig. 22). Esse extrato possuía intensa atividade catalásica, mas não era idêntico à catalase comercial purificada, que não alterava o crescimento das brucelas. Os extratos com fígado de bovinos não eram tão ativos quanto os de porco.

e) Os meios, utilizando *digestos* preparados no laboratório com vários órgãos animais não têm sido muito empregados para o cultivo de brucelas, preferindo-se, quase sempre, usar as peptonas comerciais dessecadas que se obtêm com êsses digestos levados a um determinado ponto. Um meio dêsse tipo, que tem dado bons resultados, é o de BROWN, obtido pela digestão de coração de bovinos, utilizando a pancreatina.

PACHECO & THIAGO DE MELLO experimentaram comparativamente meios feitos pela técnica de BROWN, utilizando coração, placenta, fígado e baço bovinos, obtendo bons resultados com o digesto de coração. Apesar, porém, de ser feito em condições padronizadas, nem sempre os resultados eram os mesmos; por sua vez, o preparo era trabalhoso, o que não deixa de ser um obstáculo para sua utilização prática. Os bons resultados obtidos com êsse meio levaram os autores a tentar extrair do mesmo alguma substância responsável pelo bom desenvolvimento das brucelas. Um extrato etéreo do meio dextrosado a 1%, feito com digesto de coração, pela técnica de BROWN, foi adicionado ao caldo de carne de vitela ou ao caldo triptose glicosado; observou-se melhor crescimento da amostra de *Br. suis* utilizada; com o extrato acetônico, não foi observado aumento de crescimento em comparação com o caldo de vitela glicosado (Fig. 23). Não foi tentada a determinação da natureza dêsse extrato e é possível que não se trate da mesma substância obtida por SCHUBERT com a extração acetônica de fígado de porco.

Os meios desidratados, feitos com peptonas especiais, têm sido os mais utilizados nestes últimos anos, com reais vantagens.

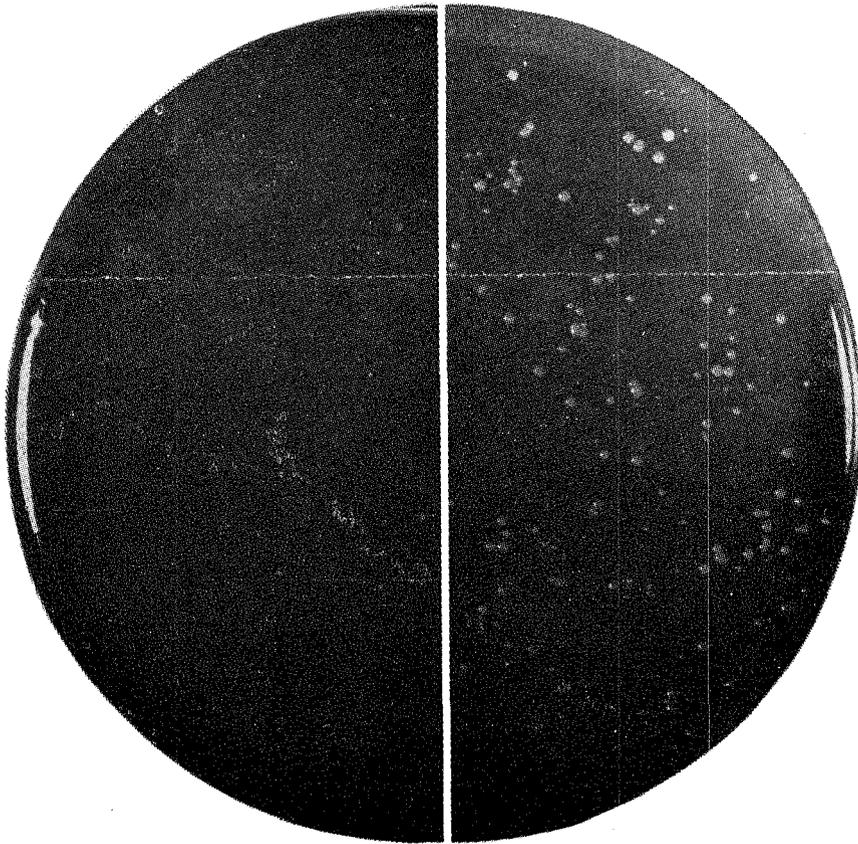


Fig. 22 — Crescimento de *Br. abortus* em agar triptose. À esquerda, raras colônias, pequenas; à direita, colônias numerosas e bem desenvolvidas, em meio adicionado de extrato acetônico de fígado. Segundo SCHUBERT.

f) Os meios de *triptose* foram usados durante muitos anos, a partir dos trabalhos iniciais de HUDDLESON e de ARDREY. A *triptose* é uma peptona preparada pelos laboratórios Difco, em cooperação com HUDDLESON; os meios preparados com essa peptona, sendo desidratados, são de fácil preparo; é suficiente dissolver uma certa quantidade do pó em água destilada para obter um meio que, geralmente, dá bom crescimento de brucelas. A seguinte fórmula dá bons resultados, segundo SANDERS & HUDDLESON: *triptose* — 3 g; *glucose* — 2 g; *cloridrato de tiamina* — 0,5 mg; *cloreto de sódio* — 0,5 g; *água destilada* — 100 ml. No meio glicosado, inicialmente, há uma pequena baixa de pH mas logo que a multiplicação aumenta, aparece alcalinidade.

GORELICK & Cols. obtiveram grandes quantidades de brucelas, em volumes relativamente pequenos de meio, utilizando membranas absorventes (celofane) e adsorventes sólidos (carvão ativado).

Algumas falhas têm sido observadas, no entanto, em muitas ocasiões, com os meios de *triptose*.

PACHECO & THIAGO DE MELLO verificaram que o crescimento de *Br. suis* em caldo triptose era inferior ao obtido em caldo infuso de carne de vitela. Em nosso laboratório, os meios de triptose foram abandonados desde muito tempo, porque freqüentemente o desenvolvimento das brucelas era escasso ou, mesmo, nenhum, sendo as amostras nitidamente inibidas.

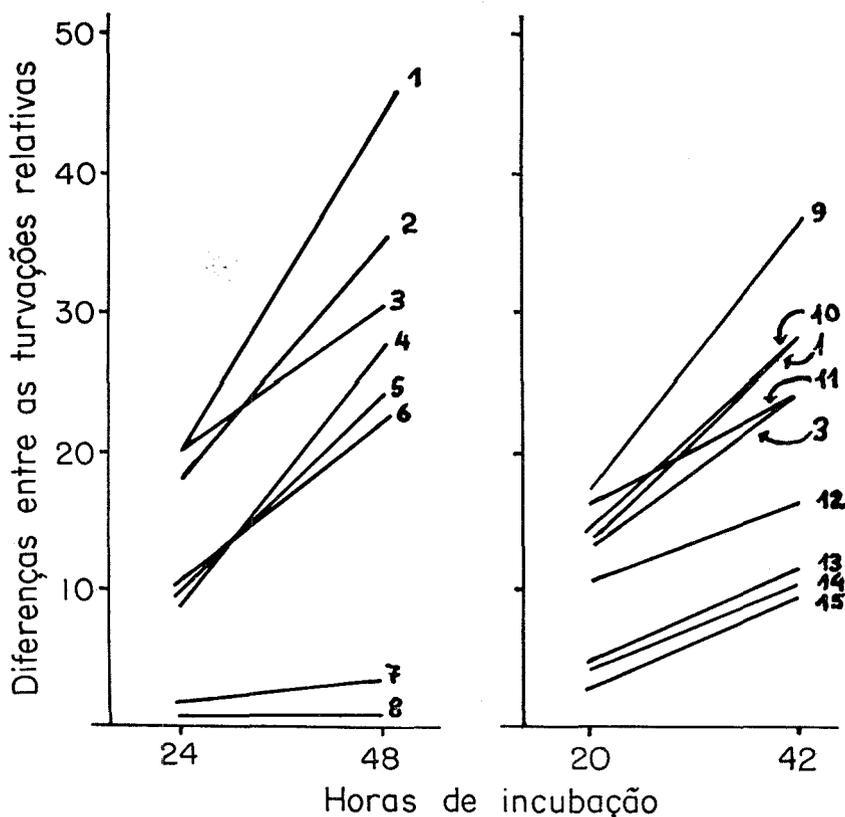


Fig. 23 — Desenvolvimento de *Br. suis* em diversos meios líquidos, em diversos períodos de incubação. 1 — infuso de vitela; 2 — digesto de coração, A; 3 — triptose; 4 — digesto A, tamponado; 5 — digesto A, esterilizado duas vezes; 6 — caldo glicosado; 7 — digesto B; 8 — digesto B, tamponado; 9 — infuso de vitela + extrato etéreo de digesto A; 10 — infuso de vitela + extrato acetônico de digesto A; 11 — triptose + extrato etéreo de digesto A; 12 — triptose glicosada + extrato acetônico de digesto A; 13 — digesto A, após extração etérea; 14 — digesto A; 15 — digesto A, após extração acetônica. Segundo PACHECO & THIAGO DE MELLO.

A explicação para êsse fato foi fornecida em trabalhos sucessivos de SCHUHARDT & COLS., do Laboratório de Pesquisas de Brucelas da Fundação Clayton, no Texas, Estados Unidos. A evolução dessas pesquisas merece referência especial, embora resumida. Os autores evidenciaram, inicialmente, que certos lotes de triptose apresentavam-se inibidores para *Br. abortus* e com atividade variável para as outras duas espécies. A princípio, foi sugerida a possibilidade de serem certos ácidos aminados oxidados, presentes nas peptonas, os responsáveis por essa

inibição, o que estaria de acôrdo com muitas observações feitas por outros autores com diversas bactérias e, mesmo, com brucelas. Testando a toxicidade de certos ácidos aminados para brucelas, verificaram que o triptofano e a cistina eram altamente tóxicos para *Br. abortus*, quando usados isoladamente em meio sintético; a toxicidade da cistina corria paralela com a de certos lotes de triptose mas os autores não afirmaram que a toxicidade de ambas fôsse idêntica. Quarenta e duas amostras de *Br. abortus* mostraram-se muito mais sensíveis à cistina do que 10 de *Br. suis*, ficando 9 amostras de *Br. melitensis* em situação intermediária. Certos agentes redutores eram capazes de neutralizar a ação tóxica da cistina. Em trabalho posterior, SCHUHARDT & Cols. verificaram que o aparecimento da toxicidade para as brucelas dependia do envelhecimento da triptose e não da presença de cistina. Acreditaram, então, pelas provas feitas, que a substância tóxica da triptose e de outras peptonas seria resultante dum produto de decomposição da cistina, durante a esterilização desta pelo calor, a pH 7.0, visto como solução de cistina, esterilizada por filtração, adicionada à triptose, previamente tornada não tóxica, não impedia o crescimento de brucelas. Procurando determinar a natureza desse produto de decomposição da cistina, verificaram que a autoclavagem de soluções de cistina dava origem a enxofre elementar, o qual, em suspensão coloidal, era tóxico, para certas amostras de brucelas, em concentrações mínimas (0,06 de micrograma por mililitro de meio). A toxicidade do enxofre elementar era comparável, sob todos os aspectos, à apresentada pela cistina autoclavada e pelas amostras (partidas ou lotes) tóxicas de triptose. Outras pesquisas esmiuçaram mais profundamente os diversos tipos de reações verificadas no metabolismo do enxofre pelas brucelas. O estudo de meios sintéticos permitiu estabelecer uma relação entre o tiosulfato de sódio e a cistina. Uma consequência prática dos trabalhos de SCHUHARDT & Cols. foi a de demonstrar que o princípio tóxico da triptose pode ser adsorvido pelo carvão ativado (norita) e neutralizados seus efeitos por diversos agentes redutores, por 2% de agar, pelo tratamento com água oxigenada e pelo aquecimento em pH na faixa alcalina. HUDDLESON observou que o tratamento com norita retirava do meio ácidos graxos de cadeias longas (ou os seus ésteres), os quais eram responsáveis pelas inibições observadas com certas peptonas.

SCHUBERT também verificara que o crescimento de amostras de *Br. abortus* exigentes de CO<sub>2</sub> era inibido em meio de agar triptose a pH 6.4 enquanto que a pH 7.0 era igual ao verificado em agar tripticase-soja a pH 7.1.

RENOUX confirma a toxicidade de certos lotes de triptose, relacionada com a presença dos grupamentos — SH do meio.

Muitas substâncias podem neutralizar, até certo ponto, a atividade tóxica da triptose, o que evita o abandono completo desse meio. Por exemplo: agar, extratos de carne, caseína, água de lavagem de milho ("corn steep liquor"), glicose, extrato de fígado, sôro normal, extratos de frutas e vegetais.

g) Os meios com *tripticase*, também desidratados, fabricados pela "Baltimore Biological Laboratory, Inc." (BBL), dos Estados Unidos,

tiveram grande aceitação por toda parte, principalmente o meio de tripticase-soja. A tripticase é uma peptona preparada por digestão triptica da caseína. O trabalho de VERA mostrou as boas qualidades dessa peptona para o cultivo de germes exigentes. Os melhores resultados no cultivo de brucelas são obtidos com a tripticase-soja, na qual existe igualmente uma peptona de origem vegetal, a fitona, que é obtida por digestão da soja com papaína. É suficiente dissolver pequena quantidade do meio pronto e dessecado, em água destilada, para obter-se bom caldo em que as brucelas se desenvolvem vigorosamente. Muitos trabalhos comparativos, utilizando os meios com tripticase, têm revelado a superioridade dos mesmos sobre a maioria dos meios empregados para o cultivo de brucelas.

Em nosso laboratório, os meios com tripticase têm sido utilizados com reais vantagens, sendo seus inconvenientes, para o nosso meio, o preço elevado e a falta periódica de estoques no comércio.

O próprio HUDDLESON, em trabalho recente, de 1954, aconselha o meio de tripticase-soja como permitindo bom crescimento de *Br. abortus* que exige CO<sub>2</sub>, de preferência a outros meios, principalmente para o isolamento do germe do sangue.

h) Os meios de *Albimi* são os que presentemente recebem as preferências gerais em todos os laboratórios. São meios também desidratados, preparados por "Albimi Laboratories", de New York, Estados Unidos. Devido às suas boas qualidades para o cultivo de brucelas, servem de padrão comparativo para o estudo de outros meios. Os trabalhos recentes de RENOUX, de SPINK, e de GARGANI & DOMMINI demonstraram a superioridade dos meios de *Albimi* sobre os outros, inclusive os preparados com tripticase.

Muitos outros meios poderiam ser citados, tais como, meios com leite (PANGALOS, MARUCCO), agar sangue, agar chocolate, agar batata, etc., bem como os diversos dispositivos empregados para o cultivo de brucelas nesses meios. Nos tópicos relativos à fisiologia das brucelas, isolamento, preparo de antígenos e de vacinas, diferenciação de espécies, etc., serão referidos.

Antes de finalizar esta parte relativa aos meios de cultura para brucelas é interessante assinalar que o assunto está em plena evolução quanto ao seu estudo. Na primeira reunião do Grupo de Peritos em Brucelose da Organização Mundial de Saúde, em 1950, vários meios foram considerados satisfatórios, sendo os líquidos, a tripticase-soja, a triptose e o *Albimi*; os sólidos foram êsses mesmos, adicionados de agar, bem como o agar sôro, agar figado, agar batata, agar chocolate, etc. Já na Segunda Reunião, realizada em 1952, na Itália, a triptose foi desaconselhada e mantidos os outros, recomendando-se, para os meios sólidos, a junção de 10% de sôro normal (sem aglutininas para brucelas).

*Como indicação de ordem prática, ficam os meios feitos com infuso de carne de vitela glicosados a 1%, adicionados de 5 a 10% de sôro*

normal (de bovinos ou de cobaias), sem aglutininas para brucelas. Como meios desidratados, os de tripticase-soja e os de Albimi. Nesses meios, as brucelas são mais facilmente isoladas, cultivam-se melhor e não apresentam fácil variação para as formas rugosas.

## F — CONDIÇÕES PARA O CULTIVO

Além das condições relacionadas com os meios de cultura, vários outros fatores são de importância para o cultivo de brucelas, dos quais citaremos alguns.

### *Temperatura*

A temperatura ótima para o crescimento das brucelas fica em torno de 37°C. Esses germes não se desenvolvem a 6°C ou a 45°C; verifica-se crescimento entre 20° e 40°C.

### *Reação do meio*

A concentração iônica mais favorável ao crescimento das brucelas é a mais próxima da neutralidade, entre pH 6.6 e 7.2. O melhor pH para o isolamento inicial fica entre 6.6 e 6.8 mas nos cultivos subsequentes obtém-se bom crescimento até pH 7.2.

### *Influência do oxigênio*

Tôdas as brucelas são aeróbias, crescendo bem na presença do oxigênio; algumas amostras são anaeróbias facultativas. A princípio, se pensava que *Br. abortus* fôsse microaerófila, principalmente no isolamento inicial mas está provado que apenas tem necessidade de CO<sub>2</sub>, como será visto mais adiante.

O assunto foi revisto recentemente por SANDERS & HUDDLESON que chegaram à conclusão de que maior atividade metabólica de brucelas é obtida em presença de oxigênio. Em trabalho anterior, os mesmos autores haviam demonstrado que bom rendimento de brucelas das três espécies pode ser obtido em pouco tempo, em grandes volumes de meio, na presença de oxigênio puro.

A necessidade das brucelas em oxigênio livre obriga a um suprimento adequado de ar nas culturas, seja em meio líquido, seja em meio sólido.

Para os meios líquidos, os dispositivos de aeração devem evitar a formação de espuma (GLASSMAN & ELBERG; SANDERS & HUDDLESON).

Para as culturas em meio sólido, é necessário que haja fácil penetração de ar nos recipientes. Por isso, BARCLAY imaginou um fechamento para garrafas de Roux em que se cultivam brucelas, substituindo as rolhas de algodão por uma tampa que consta dum disco poroso de ferro inoxidável.

### *Influência do nitrogênio*

O fato de as brucelas se cultivarem em presença do ar levou diversos pesquisadores a examinarem a influência de componentes atmosféricos diversos sobre o desenvolvimento desses germes.

SANDERS & HUDDLESON reviram o assunto e mostraram que as três espécies de *Brucella* são inibidas em presença de nitrogênio puro. Quando o meio semeado era exposto a mistura em partes iguais de nitrogênio e oxigênio, porém, o crescimento era semelhante ao obtido na presença do ar.

### *Influência do gás carbônico*

A influência do CO<sub>2</sub> para o desenvolvimento das brucelas tem sido mais estudada com relação a *Br. abortus*, dada sua importância para o isolamento inicial desta espécie. Para as outras, no entanto, o assunto também tem sido estudado. É assim que SANDERS & HUDDLESON verificaram que uma atmosfera de gás carbônico puro inibia o crescimento das três espécies de brucelas. Misturas de CO<sub>2</sub> e oxigênio permitiam o crescimento das amostras, sendo que *Br. abortus* era a que suportava a presença de maior quantidade de CO<sub>2</sub>.

Uma observação relativamente antiga, de MCALPINE & SLANETZ, mostrou que *Br. abortus* era particularmente favorecida pela presença de 10% de CO<sub>2</sub>, enquanto esta mesma quantidade inibia, parcialmente, o crescimento de *Br. suis* e *Br. melitensis*.

A necessidade que tem a maioria das amostras de *Br. abortus*, para seu isolamento inicial, de uma certa proporção de gás carbônico na atmosfera em que o germe se vai desenvolver (5% a 10%), tem sido estudada por diversos autores desde muito tempo; devido à sua importância para o diagnóstico, faremos uma breve citação dos trabalhos mais importantes. Resumos dos principais fatos relacionados com este tópico encontram-se em TOPLEY & WILSON, MAZZETTI & TESI, e MARR & WILSON.

Desde muito cedo verificou-se que *Br. abortus* era difícil de cultivar-se em presença de ar mas que o crescimento podia ser obtido, usando tubos de cultura bem fechados (com parafina, etc.), conforme demonstrara PREISZ. BANG, em 1897, usando atmosferas diferentes de oxigênio e de gás carbônico, julgou que o crescimento das brucelas fôsse influenciado pela diminuição de oxigênio. NOVAK, em 1908, cultivou *Br. abortus* na superfície de meios sólidos, encerrando os tubos numa jarra em que crescia ativamente *Bacillus subtilis*, que é altamente aeróbio; também interpretou esse fato como devido à diminuição do oxigênio, determinada pelo crescimento do bacilo. A verificação de que as brucelas cresciam bem nos meios de fígado, usados para o cultivo de aneróbios, fez com que se pensasse que elas fôsem anaeróbias ou microaerófilas. Aliás, já em 1897, BANG verificara que, pelo processo de semeadura em agar semi-sólido, previamente expurgado de ar ("agar-shake"), as brucelas cresciam apenas numa zona situada cerca de meio

centímetro abaixo da superfície do meio; mais tarde, o crescimento estendia-se à superfície.

Deve-se a HUDDLESON o fato de haver demonstrado que o melhor crescimento de *Br. abortus* devia-se à presença de certa quantidade de gás carbônico e não à diminuição do oxigênio. Nesse trabalho, feito em 1921, HUDDLESON introduziu na atmosfera em que se cultivavam as brucelas, gás carbônico obtido quimicamente e verificou que a porcentagem ótima era de cerca de 10%. Essa proporção de gás carbônico é, evidentemente, muito maior do que a encontrada na atmosfera (0,03%-0,04%).

Dez anos mais tarde, uma série de trabalhos de WILSON, na Inglaterra, forneceu maiores informações sobre as exigências de gás carbônico pela *Br. abortus*. As suas conclusões podem ser resumidas da seguinte forma:

a) *Br. abortus* não cresce em anaerobiose, mesmo na presença de CO<sub>2</sub>, nem aerobicamente, na sua ausência;

b) o crescimento ocorre em proporções de oxigênio que vão de 0,5% a 99%, contanto que um mínimo de gás carbônico, de 0,3%, seja fornecido;

c) o crescimento ocorre em proporções de gás carbônico que vão de 0,5% a 98%, contanto que um mínimo de oxigênio, de 0,5%, seja fornecido;

d) a proporção ótima de oxigênio para o desenvolvimento de *Br. abortus* é de 21% (igual à existente no ar atmosférico);

e) a proporção ótima de gás carbônico para o desenvolvimento é de 10% (a do ar é apenas de 0,03% a 0,04%);

f) o crescimento que se observa numa faixa de meio centímetro abaixo da superfície dos meios semi-sólidos é devido ao fato de que ainda mais abaixo as condições são de anaerobiose (em que as brucelas não crescem) e acima o gás carbônico se escapa para a atmosfera ambiente (portanto não fica na concentração adequada);

g) o crescimento em tubos fechados, com rólhas de algodão queimadas, rólhas com parafina, etc., deve-se ao fato de nestas operações formar-se gás carbônico em quantidade suficiente para permitir o crescimento.

Atualmente, o assunto é objeto de pesquisas de ordem bioquímica ou genética por parte de MARR & WILSON, na Universidade de Wisconsin, nos Estados Unidos; êsses autores demonstraram ser a perda da necessidade de gás carbônico pelas culturas de *Br. abortus* uma mutação espontânea e não uma simples adaptação das mesmas à ausência de CO<sub>2</sub>.

Essa exigência especial de algumas amostras de *Br. abortus* parece diferente, quantitativa e qualitativamente, da exigência normal de gás carbônico de alguns germes, em que o gás pode ser substituído por ácidos dicarboxílicos; também difere da de outros germes em que o gás pode ser substituído por adenina, arginina, fenilalanina e tirosina. Foram êsses fatos e outros que levaram MARR & WILSON à hipótese

de que as reações bioquímicas relacionadas com a exigência de  $\text{CO}_2$  por parte de *Br. abortus* fôsem mais de natureza sintética do que reações de desassimilação. Para comprovar essa hipótese, investigaram a fixação, em materiais celulares de brucelas, de  $\text{CO}_2$  com carbono marcado ( $\text{C}^{14}\text{O}_2$ ). Depois duma série de experiências, chegaram à conclusão que quando *Br. abortus* é crescida em meio sintético que não contém ácidos aminados pré-formados, é na alanina e na glicina que se fixa o  $\text{CO}_2$ . O  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  só é fixado na alanina se a cultura é feita em meio sintético sem ácidos aminados pré-formados. Células lavadas de *Br. abortus* incorporam  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  nos grupos carboxílicos de glicina e alanina, sendo mais lenta a incorporação nesta última. A seguir, NEWTON, MARR & WILSON procuraram verificar se o  $\text{CO}_2$  seria um dos precursores às custas do qual se efetuaría a síntese de constituintes do ácido nucléico em *Br. abortus*. A pesquisa era importante, porque, como já foi dito, muitas amostras de *Br. abortus* exigem gás carbônico para seu desenvolvimento e a glicina parece ser um dos produtos resultantes da fixação do  $\text{CO}_2$  nessas amostras. Trabalharam, também, com  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  e verificaram que os principais produtos de fixação de  $\text{CO}_2$  em ácidos nucléicos de *Br. abortus* são pirimidinas, ao passo que é quantitativamente insignificante a fixação em purinas. Noutro trabalho, pesquisando com uma amostra de *Br. abortus* exigente de  $\text{CO}_2$  e uma sua mutante que não exigia  $\text{CO}_2$ , verificaram que ambas fixavam o  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  apenas nas pirimidinas do ácido nucléico durante o crescimento em meios artificiais complexos; cada amostra podia assimilar purinas e pirimidinas exógenas. A adenina era utilizada para a síntese de adenina e guanina dos ácidos nucléicos e o uracil para a do uracil, da citosina e da timina desses ácidos.

Apesar da impropriedade do termo, costuma-se dizer que as amostras que não exigem mais gás carbônico para o seu crescimento são aeróbias.

Uma observação curiosa e recente foi feita por KUZDAS & MORSE. Empregando um meio que permitisse o isolamento de brucelas de material contaminado, meio êsse contendo vários antibióticos, verificaram que o crescimento de *Br. suis* passava a fazer-se, apenas, quando as culturas eram incubadas em presença de gás carbônico, não tendo sido explicada a causa para essa discrepância.

O fato de *Br. abortus* exigir gás carbônico para o cultivo inicial é de grande importância na distinção das espécies do gênero. Em trabalho recente, CRUICKSHANK, examinando 800 amostras de brucelas verificou que as amostras típicas de *Br. abortus*, na sua maioria, cresciam muito melhor apenas quando em presença de 10% de  $\text{CO}_2$  e algumas somente cresciam nesta atmosfera. Contudo, cerca de 8% das amostras cresciam igualmente bem no ar.

---

## G — EXIGÊNCIAS NUTRITIVAS

As exigências nutritivas das brucelas são complexas. Daí observar-se melhor crescimento em meios também altamente complexos, contendo proteínas animais naturais, bem como em culturas intracelulares e em tecidos embrionários. Como fonte de carbono, a glicose tem sido mais geralmente empregada.

Sob o ponto de vista puramente bioquímico, as exigências nutritivas das brucelas têm sido bem estudadas. Grande parte dos progressos recentes nesse campo devem-se a McCULLOUGH & Cols. Uma boa revisão do assunto é encontrada no trabalho de HOYER.

Os fatores de crescimento têm sido estudados em meios sintéticos sendo um dos primeiros o de McCULLOUGH & DICK; pelo crescimento nesse meio, contendo só ácidos aminados, viram que as amostras utilizadas necessitavam de nicotinamida, tiamina e ácido pantotênico; algumas necessitavam, ainda, de biotina. Obtiveram também crescimento em meios com glicose, sais inorgânicos e essas vitaminas.

Em 1947, McCULLOUGH & Cols. retomam o assunto, analisando a literatura anterior e fazendo experimentações amplas e detalhadas. Trabalharam com uma amostra de *Br. suis*, obtendo um meio quimicamente definido que permitia desenvolvimento maior do que o até então obtido com qualquer outro meio desse tipo. Verificaram que eram essenciais ao crescimento da amostra a tiamina (0,03 mcg/ml)\* e a niacina (0,4 mcg/ml). Como estimuladores do crescimento, sobretudo quando os inóculos eram pequenos, figuravam o pantotenato de cálcio (na dose de 0,1 mcg/ml) e o ácido nucléico de levedo (ou qualquer de seus componentes: pirimidinas e purinas). Dentre os ácidos aminados, foram vistos como essenciais ao crescimento: cistina, histidina, tirosina, fenilalanina e triptofânio; como estimuladores, figuraram: glicina, lisina, arginina, metionina, ácido glutâmico, isoleucina, ácido aspártico, serina e treonina. Os sais de magnésio foram essenciais e os de manganês e de ferro, estimuladores. O máximo de crescimento foi obtido com 1% de glicose.

Como aplicação prática dos trabalhos de McCULLOUGH & Cols. resultou que a junção de glicose, tiamina e sais de ferro ao caldo triptose aumentava o rendimento de brucelas de 5 a 10 vezes. O meio tinha a seguinte composição:

Triptose .....	2%
Cloreto de sódio .....	0,5%
Glicose .....	1%
Tiamina .....	0,1 mcg/ml
Fe +++ .....	4 partes por milhão

Nesse meio, com boa aeração, o rendimento passou de  $10 \times 10^9$  germes por ml para  $70$  a  $80 \times 10^9$  germes/ml.

\* Adotamos a abreviação mcg para o micrograma ( $\mu\text{g}$ ), mas em alguns casos é mantida a abreviação  $\mu\text{g}$ .

Os trabalhos de RODE & Cols. permitiram chegar a um meio quimicamente definido, em que as brucelas ainda se desenvolvem melhor do que nos anteriores. O meio, de composição bastante complexa, compreende 18 ácidos aminados, além de sais minerais, açúcares, fatores de crescimento, etc., e permite o desenvolvimento das brucelas a partir de número relativamente pequeno. Foram testadas, em tal meio, 61 amostras de brucelas, inclusive 47 de *Br. abortus* que exigiam  $\text{CO}_2$ . O estudo comparativo com os meios anteriormente usados, de McCULLOUGH & DICK, de McCULLOUGH & COLS., de GERHARDT & WILSON, e de KOSER & COLS., comprovou que o crescimento era muito bom. Esse trabalho também permitiu lançar os fundamentos para que se avaliassem as exigências das brucelas em fontes de enxofre, tendo sido observada uma relação de toxicidade entre o tiosulfato de sódio e a cistina.

Os trabalhos mais recentes sobre necessidades nutritivas de brucelas dizem respeito às exigências de enxofre, ferro, manganês, etc.

LANKFORD, RODE & SCHUHARDT verificaram que *Br. suis* utiliza, como fontes de enxofre a L-cistina, o L-cistatião ou a L-ou D-metionina, isso num meio com asparagina e lactato. Outras observações sobre as exigências em enxofre foram feitas nessa ocasião. Verificaram, por exemplo, SCHUHARDT & Cols. que, se o enxofre elementar fôsse autoclavado com o meio basal, sua toxicidade era diminuída e podiam ser produzidos ingredientes com enxofre utilizável, permitindo melhor desenvolvimento das brucelas, em comparação com a testemunha, em que o enxofre era autoclavado separadamente (Fig. 24). O mais vigo-

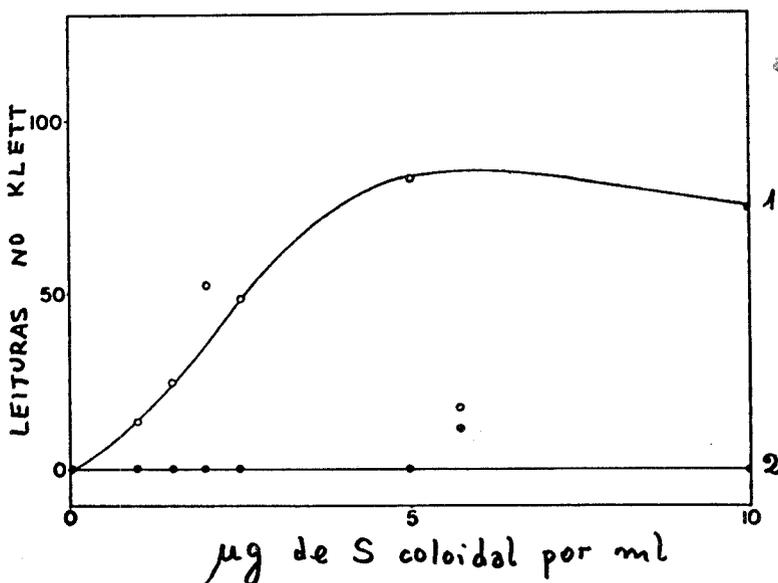


Fig. 24 — Influência do método de esterilização sobre a utilização de enxofre elementar por *Br. suis*. 1 — Autoclavado com o meio basal. 2 — Autoclavado separadamente. Segundo SCHUHARDT & Cols.

roso crescimento num meio básico contendo 0,1% de L-asparagina e 0,01% de ácido láctico e quantidades variáveis de DL-homocistina foi obtido, ao fim de 6 dias, quando a amostra de *Br. suis* semeada havia sido crescida, previamente, durante 6 dias num meio com 2,5 mcg de DL-homocistina (Fig. 25).

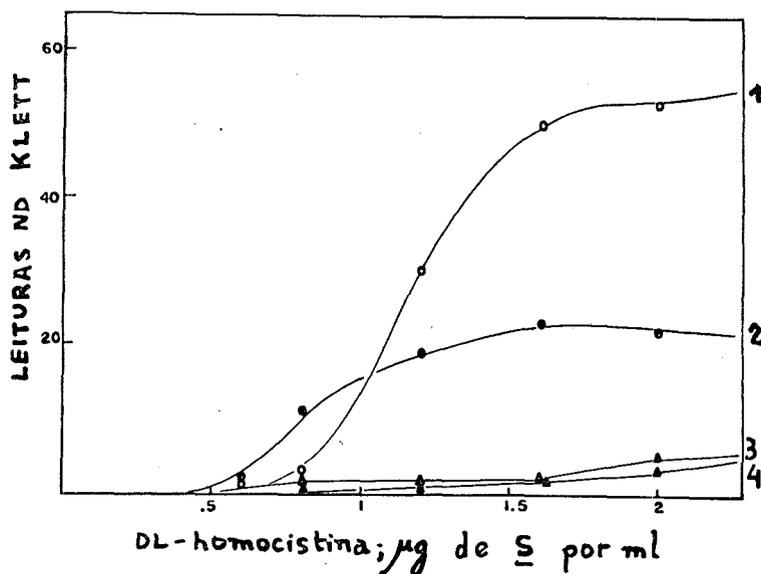


Fig. 25 — Efeito do meio em que cresceu anteriormente *Br. suis*, sobre a utilização de DL - homocistina, em meio basal contendo asparagina e ácido láctico. 1 — DL - homocistina (2,5 mcg S); 2 — DL - homocistina + L-metionina (0,001 mcg S); 3 — DL - homocistina + L-metionina (0,008 mcg S); 4 — Cistina (2,5 mcg S). Segundo LANKFORD & COLS.

Sobre o papel do ferro no crescimento de brucelas, WARING & COLS. trabalharam com *Br. suis*, utilizando um meio do qual previamente retiravam quaisquer traços de ferro, por meio de agentes queladores (“oxina”), tratando, em seguida, com clorofórmio. Adicionado quantidades certas de ferro a esse meio desprovido de ferro, constataram que a amostra de *Br. suis* com que trabalharam exigia pelo menos 0,03 partes por milhão do meio de cultura para ser obtido o máximo de crescimento. Observaram, também, que o acúmulo de alanina (responsável pela variação R) é acentuadamente reduzido durante a deficiência em ferro e, por isso mesmo, a amostra de *Br. suis* deficiente em ferro não se dissociava com a mesma intensidade das crescidas em condições normais de suprimento desse catiônico. O máximo de turvação no melhor meio adicionado de ferro foi obtido em torno dos 9.º e 10.º dias e o máximo de células viáveis entre o 4.º e 5.º dias (Fig. 26).

O mesmo método de extração do ferro com “oxina” foi adotado para a retirada completa de magnésio e de manganês. O meio assim preparado foi considerado deficiente em Mg, Mn e Fe. Verificou-se que a deficiência do magnésio era importante mas a do manganês

somente fez sentir seus efeitos nos primeiros dias de desenvolvimento, desde que se adicionasse magnésio.

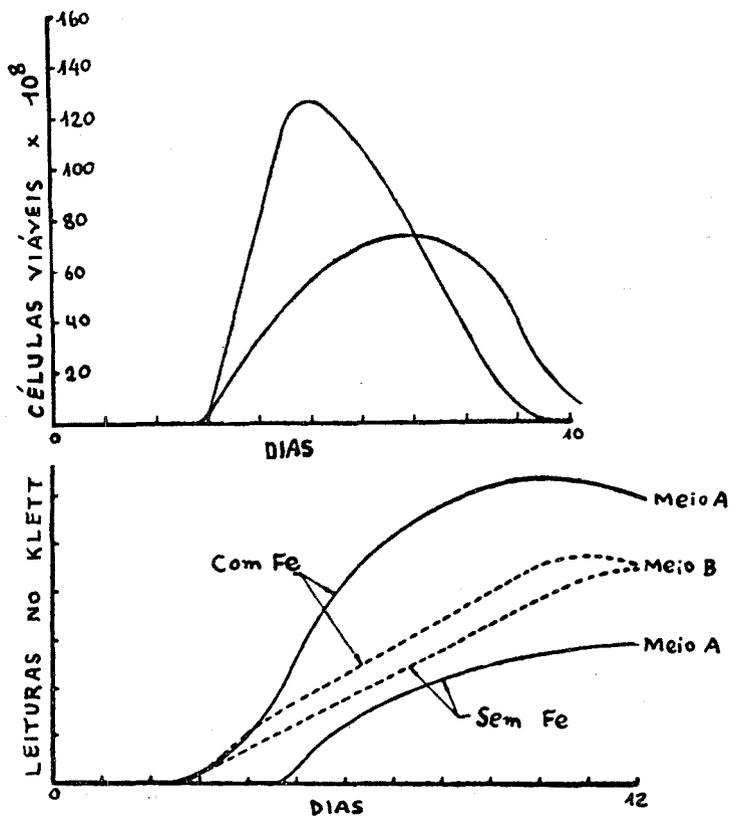


Fig. 26 — Influência do ferro no crescimento de *Br. suis*. Em cima: Viabilidade de células crescidas com e sem ferro. Em baixo: Comparação do crescimento em meios com e sem ferro. Segundo WARING & COLS.

Um dos mais recentes e importantes trabalhos sobre as exigências nutritivas de brucelas deve-se a SANDERS & COLS. Com a finalidade de estudar a nutrição de *Br. melitensis*, os autores empregaram um meio em que obtiveram bom crescimento da amostra utilizada, sem a excessiva complexidade dos meios anteriormente usados; dava regularmente um rendimento de mais de 125 bilhões de células por ml e consistia de 6 aminoácidos, glicose, sais inorgânicos e vitaminas. Confirmaram as exigências em ácido nicotínico e tiamina, anteriormente vistas por outros. O máximo de crescimento era obtido com uma quantidade relativamente elevada de dextrose: 2,5%. O interessante é que o crescimento de amostras de *Br. suis* e *Br. abortus* era reduzido ou escasso, nesse meio; algumas amostras de *Br. abortus*, mesmo, nem chegaram a crescer. Uma substância contida em autolisados de levedo estimulava o crescimento precoce mas a mesma não foi identi-

ficada e seus efeitos não puderam ser obtidos por quaisquer outras substâncias empregadas. Nenhum ácido aminado isolado foi considerado essencial para o crescimento.

A fórmula do meio, quimicamente definido, utilizado por SANDERS & Cols. para o cultivo de *Br. melitensis*, é a seguinte, por ml de meio:

DL-alanina .....	1.20 mg
L-arginina.HCl .....	0.77 mg
L-cistina .....	0.10 mg
L-ácido glutâmico .....	3.90 mg
L-lisina.HCl .....	0.77 mg
DL-metionina .....	0.94 mg
Glucose .....	25.00 mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1.74 mg
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0.62 mg
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	13.9 mcg
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O .....	16.9 mcg
Ácido nicotínico .....	2.0 mcg
Tiamina.HCl .....	0.15 mcg

pH acertado a 7.5 com NaOH.

#### H — CULTIVO EM MASSA

O cultivo de brucelas em grande quantidade é necessário, em diversas ocasiões, quer para o fabrico de vacinas e antígenos, quer para estudos metabólicos.

O recurso mais correntemente utilizado é o de cultura em superfície de meios com agar solidificado. A composição destes é variável, conforme a finalidade; em geral, utilizam-se os que já foram citados antes. Alguns outros serão vistos oportunamente.

O cultivo em massa, em meios líquidos, tem sido experimentado mas, tendo em vista a necessidade de aeração dos mesmos e a conseqüente formação de espuma, certas dificuldades surgem para evitar o aparecimento desta. GLASSMAN & ELBERG conseguiram obter abundante crescimento de brucelas em garrações de 20 litros, utilizando determinada técnica para impedir a formação de espuma, num meio em que borbulhavam ar por intermédio duma vela de filtro Mandler. A substância colocada para eliminar a espuma era banha de porco pura (meia libra para 5 galões de meio).

Na mesma ocasião, também em Camp Detrick, GERHARDT & GEE fizeram uma série de experiências para cultivar *Br. suis*, em grande quantidade, em meios aerados por agitação e por borbulhamento de ar. GERHARDT descreve um dispositivo especial que permite a cultura contínua de brucelas.

SANDERS & HUDDLESON, para cultura em massa, nos meios líquidos que experimentaram (submetidos à aeração constante), utilizaram flutuadores de vidro, com o mesmo objetivo.

O efeito da aeração sobre o crescimento em massa nos meios líquidos foi também revisto por HOYER.

O maior inconveniente para o cultivo em grande escala de brucelas, em meios líquidos, não reside na formação de espuma e conseqüentes aerossóis infectantes, e sim na dificuldade encontrada para separar os germes do meio líquido em que se desenvolveram.

O processo mais aceitável seria o da centrifugação em "Sharples", e isso, realmente, tem sido feito. É preciso notar, contudo, que esta técnica provoca tal produção de aerossóis infectantes que mesmo com as maiores precauções o seu uso é inteiramente desaconselhado.

Por êsses motivos, alguns artifícios, bastante interessantes, têm sido utilizados. BROWN & WOOD, por exemplo, cultivaram brucelas da seguinte forma: Fragmentos de esponja de celulose são pendurados no gargalo duma garrafa de centrifugação ou dispostos de maneira a não tocar o fundo da mesma. Depois de esterilizado o conjunto, a esponja é embebida com o meio de cultivo semeado com brucelas. A vasta superfície de aeração permite um crescimento abundante dos germes. Para separá-los, é suficiente centrifugar em alta velocidade e as brucelas ficarão depositadas no fundo da garrafa, podendo ser colhidas, depois de retirado o líquido sobrenadante e, aí mesmo lavadas, sem necessidade de retirar os pedaços de esponja.

Seguindo a tendência que se esboça em bacteriologia para o cultivo de germes separados do meio nutritivo por uma barreira de material semi-permeável, GORELICK & Cols. cultivaram *Br. suis* e outros germes em tubos de celofane. Grande quantidade de micro-organismos puderam ser obtidos em volumes relativamente pequenos de meios; êstes eram colocados em tubos de celofane que, a seguir, eram introduzidos em frascos de Erlenmeyer, contendo um adsorvente e solução salina. Depois da esterilização do conjunto, as brucelas eram semeadas fora do tubo de celofane, na solução salina, contendo o adsorvente. A incubação era feita com agitação. O emprêgo de adsorventes sólidos (carvão ativado, etc.) determinou o máximo de produção de germes. Os autores concluíram que a capacidade de aumento do número de células viáveis por unidade de volume parece depender de um efeito sinérgico entre a membrana de celofane e o adsorvente. Sugerem o emprêgo dessa técnica para melhor estudo dum dos problemas de mais difícil solução em bacteriologia até agora, o da "M" concentração de BAIL, que representa a população máxima que pode ser obtida num meio de cultura líquido.

---

## I — ATIVIDADES BIOQUÍMICAS

Desde os trabalhos primitivos com as brucelas, foram pesquisados os efeitos sobre os diversos meios de cultura em que se desenvolviam.

Muitos desses estudos tinham exclusivamente a finalidade de estabelecer a distinção entre as espécies e, por isso, serão também vistos no capítulo conveniente.

a — Ação sobre os hidratos de carbono

A atividade das brucelas sobre os hidratos de carbono foi intensamente pesquisada e, recentemente, revisto o assunto por PICKETT & NELSON, em importante trabalho.

Geralmente essas bactérias são consideradas desprovidas de atividade sobre tais compostos orgânicos, mas isto se deve sobretudo à precariedade das técnicas comumente usadas, as quais são eficientes, apenas, na evidenciação de germes francos fermentadores.

Logo depois da caracterização do gênero *Brucella*, MEYER & SHAW tinham verificado que em água peptonada adicionada de soro, com indicador de fenoltaleína e 1% de diversos açúcares, nenhuma das amostras produzira fermentação; no caso da glicose, o meio era alcalinizado.

Já era sabido que as brucelas alcalinizavam o meio, tendo sido, por isto, proposta a sua inclusão no gênero *Alcaligenes*, na edição de 1923 do Manual de BERGEY. McALPINE & SLANETZ achavam errônea a classificação dos representantes do grupo como *Alcaligenes* pois que muitos deles atacavam a glicose. A alcalinização do meio devia-se à decomposição de protídios, com produção de amônia. Os trabalhos iniciais de maior importância devem-se a esses dois pesquisadores. Nos meios glicosados, viram que as amostras de *Br. abortus* comportavam-se como se eles não contivessem açúcar, elevando o pH; as amostras porcinas e as de origem humana (quer *Br. abortus* quer *Br. melitensis*) provocavam, porém, um abaixamento do pH ou quase não o alteravam, parecendo utilizar a glicose na proporção de 4% a 18%, evidenciada pelo método de Benedict. Depois, os mesmos autores examinaram com maiores detalhes a decomposição desse hidrato de carbono. Diversos métodos de dosagem foram usados comparativamente. Sempre as amostras bovinas utilizavam menos de 1% de glicose, enquanto as humanas, porcina e *melitensis*, o faziam na quantidade de 8% a 10% da mesma, no fim do 7.º dia de incubação. Excepcionalmente, as bovinas utilizaram mais de 2%, ao passo que as amostras porcina, humana e caprina 5% a 20%. Pela determinação do pH do meio, originalmente regulado a 7,0, verificaram aumento da alcalinidade nos 7 primeiros dias de cultura, com *Br. abortus*, enquanto as amostras humana e caprina causaram, ao contrário, acidificação fraca, apresentando variações; as amostras porcinas acidificaram constantemente mas o pH, entretanto, não baixou de 6.8.

Em seguida, PLASTRIDGE & McALPINE precisaram melhor os efeitos das brucelas sobre a glicose. As amostras bovinas só utilizavam 0.77 a 0.88% do açúcar, ao passo que as porcinas utilizavam 6.4%; além disso, estas últimas viravam o meio, mais tarde, para a faixa alcalina, enquanto as bovinas o acidificavam ligeiramente.

Posteriormente, COLEMAN & Cols. também verificaram a produção de ácidos pelas brucelas, usando meio de agar simples adicionado de 3% de vermelho de fenol, 10% de soro e 1% do açúcar a testar, inclusive a glicose. Constataram grandes variações no poder fermentativo de certas amostras para determinados açúcares, não podendo ser estabelecido um caráter diferencial para elas. Ao mesmo resultado chegou DI AICHELBURG, em 1935, pois tôdas as amostras utilizadas atacavam igualmente a glicose. TYLER, em 1948, verificou que com *Br. abortus* amostra B-19, 80% da glicose do meio eram convertidos em CO<sub>2</sub>; enquanto ácido acético era produzido em quantidade apreciável, apenas traços de ácido fórmico, ácido láctico e álcool etílico foram encontrados.

Ainda quanto à glicose, convém referir que num trabalho recente e importante sobre a atividade metabólica das 3 espécies de brucelas, SANDERS & HUDDLESON verificaram que tanto na presença de ar como na de oxigênio puro, esse hidrato de carbono era atacado pelas 3 espécies, com abaixamento do pH, nos primeiros dias de incubação. A baixa era mais intensa com 2% de açúcar e com a *Br. abortus* (Fig. 27).

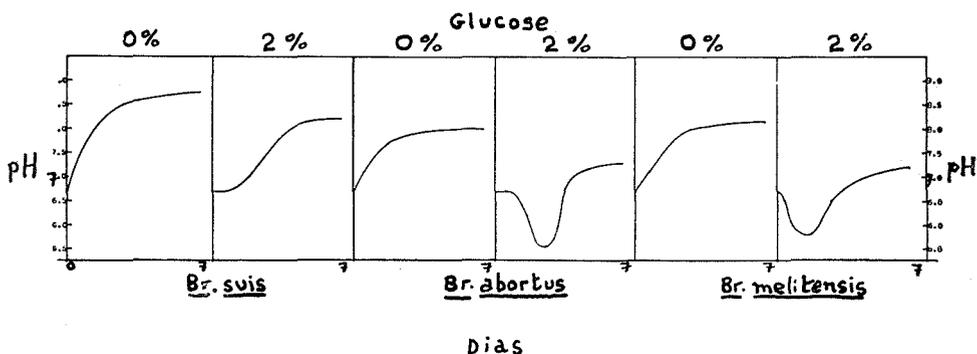


Fig. 27 — Modificações do pH durante o crescimento de amostras de brucelas em atmosfera de oxigênio. Meio: triptose — 3%, NaCl-0.5%, tiamina-0.5 mg %. Segundo SANDERS & HUDDLESON.

Após os estudos iniciais com a glicose, citados acima, multiplicaram-se os trabalhos, quase todos com o mesmo objetivo, variando, apenas, a procedência e o número de amostras, bem como as formas de evidenciar a fermentação, quase sempre com o uso de indicadores corados da reação, embora algumas pesquisas importantes visassem à determinação electrométrica das modificações do meio, como as de HUDDLESON.

Contudo, é freqüente encontrarem-se referências à ausência de fermentação pelas brucelas.

Quanto aos outros carboidratos, convém notar que muitos foram incluídos nos trabalhos já referidos. A técnica usada por MEYER & SHAW, no seu trabalho básico, em que compararam as características morfológicas, culturais e bioquímicas de *Br. abortus* e *Br. melitensis*, não permitiu evidenciar fermentação de levulose, galactose, maltose, sacarose, rafinose, manita, dulcita e inulina.

Dez anos depois, em 1930, COLEMAN & Cols., utilizando o meio anteriormente citado, verificaram fermentação de arabinose e xilose por tôdas as amostras, exceto uma; de glicose, pela maioria das amostras, e de levulose por muitas delas. Salientaram que as amostras porcinas não fermentavam a galactose, na sua maioria.

Também McNUTT & PURWIN, usando vários meios e dosando a acidez e a quantidade de açúcar nos mesmos, ao fim de 6 dias, verificaram que era acidificado francamente o meio com arabinose por tôdas as 43 amostras utilizadas, enquanto fermentação mais fraca se observava com glicose, levulose, galactose e xilose; não foram atacadas: manita, maltose, lactose, sacarose, dextrina, dulcita e manose.

No Brasil, PACHECO, em 1933, utilizando um meio contendo nutrose e fraca proporção de agar, conseguiu evidenciar nítida fermentação de alguns açúcares por parte de brucelas.

DI AICHELBURG observou que tôdas as amostras atacavam a arabinose e a xilose e, com menor freqüência, a levulose e a galactose; das suas 36 amostras, apenas uma atacou a manose.

Embora a atividade das brucelas sôbre os hidratos de carbono tenha sido observada em presença de oxigênio, mesmo em anaerobiose isto se verifica, embora em menor escala, conforme o demonstraram D'AMBROSIO e CASELLI.

A verificação da atividade enzimática dêsses germes, utilizando células lavadas, também permitiu constatar que muitos dos hidratos de carbono eram intensamente atacados pelas diferentes espécies de brucelas. Maiores detalhes sôbre êsses trabalhos serão vistos na parte relativa à atividade respiratória mas convém citar, desde já, alguns dos resultados obtidos por diversos autores.

KIEN-HUN & KAN verificaram, em 1935, com a técnica de Thunberg, de descoramento do azul de metileno, que as seguintes substâncias eram mais intensamente atacadas por *Br. melitensis* e *Br. abortus*: glicose, amido, levulose, maltose, lactose, arabinose e outras.

Trabalho importante foi feito por STEINBACH, que, em experiências com *Br. abortus*, utilizando a glicose comparativamente com outras substâncias orgânicas, considerou-a um medíocre doador de hidrogênio, seguindo a técnica de Warburg. Entretanto, GERHARDT observou oxidação ativa dêsse hidrato de carbono por *Br. abortus* e LEVINE também verificou oxidação de açúcares por culturas da mesma.

McCULLOUGH & BEAL, estudando, pela técnica de Warburg, a utilização de 9 hidratos de carbono (eritritol, D-frutose, D-sucrose, D-xilose, L-arabinose, D-galactose, D-glucose e D-trealose) pelas brucelas (4 amostras de cada espécie), chegaram à conclusão de que tôdas atacavam os compostos experimentados, variando a intensidade com as amostras.

Recentemente, THIAGO DE MELLO & NIBER DA PAZ M. SILVA, examinando a atividade das brucelas sôbre diversos substratos, empregando a técnica de redução do tetrazólio, verificaram também que diversos açúcares eram decompostos com maior ou menor intensidade por *Br. suis* e *Br. abortus*, sendo a primeira, de modo geral, muito mais ativa.

Xilose, arabinose, galactose e glucose foram intensamente atacadas pelas duas espécies, enquanto a maltose o era somente por *Br. suis*; a frutose era pouco atacada pelas duas amostras e a lactose não era desdobrada por nenhuma delas. Relativamente a outras substâncias, observaram os autores intensa atividade de *Br. abortus* sobre o glicerol, enquanto *Br. suis* exercia maior atividade sobre o sorbitol.

Como pôde ser visto pelas citações acima, quer pelos trabalhos primitivos, em que as técnicas se baseavam exclusivamente na viragem de indicadores corados, seguindo-se as que tinham por objetivo a medida eletrométrica do pH do meio após o desenvolvimento do germe, quer pelos que analisaram o mecanismo íntimo do ataque aos carboidratos, chega-se à conclusão de que não só as brucelas agem sobre estes compostos, como, também, que esta atividade, desde que seja perfeitamente controlada, é capaz de servir de caráter diferencial, como o provaram, muito recentemente, PICKETT & NELSON. Estes autores constataram, em primeiro lugar, com a técnica e o meio usados, que das 27 substâncias experimentadas, eram atacadas por tôdas as amostras de brucelas (29 *Br. abortus*, 12 *Br. melitensis* e 38 *Br. suis*): arabinose, eritritol, frutose, galactose, glicose, ribose, sorbose e sucrose. Nenhuma das seguintes era atacada: celobiose, dulcitol, inulina, galactose, manitol, melezitose, melibiose, rafinose, salicina, sorbitol e amido. Resultados irregulares foram obtidos com adonita e glicerol. A técnica empregada permitiu nítida diferenciação entre as 3 espécies de brucelas, com as seguintes substâncias, atacadas ou não, conforme o caso: inositol, maltose, ramnose e trealose. Os detalhes relativos à diferenciação entre as espécies podem ser encontrados no capítulo adequado.

Como observação final, é necessário acentuar que a atividade sobre os hidratos de carbono não é acompanhada de produção de gás.

As provas de vermelho neutro e de Voges Proskauer são negativas.

O leite é inalterado porque nenhuma das espécies ataca a lactose; depois do primeiro dia de incubação, torna-se alcalino, pela produção de amônia.

#### b — Ação sobre os compostos nitrogenados

A atividade sobre estes compostos não tem sido investigada convenientemente, embora alguns trabalhos tenham sido feitos.

Os nitratos são reduzidos a nitritos, com despreendimento de nitrogênio, por tôdas as espécies de brucelas, conforme o verificou entre outros, VAN ESPEN, que sugere ser o nitrogênio resultante da combinação óxido-redutora da amônia e dos nitritos.

Os compostos nitrogenados orgânicos são desdobrados até produção de amônia. Neste particular, a atividade metabólica da *Br. suis* é superior à das outras duas espécies. A produção de amônia é mais abundante pela *Br. suis*, em presença e na ausência de glicose, e ocorre nos primeiros dias de crescimento, sendo maior na ausência do carboidrato, conforme o demonstraram SANDERS & HUDDLESON. Já com as

outras espécies não há produção de amônia nos primeiros dias de crescimento em presença da glicose (Fig. 28). Esses resultados discor-

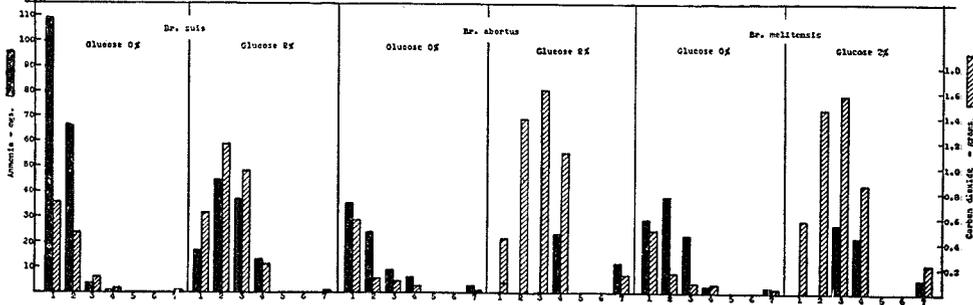


Fig. 28 — Produção de amônia e gás carbônico em meios com e sem glicose, durante 7 dias de crescimento das 3 espécies de brucelas. Segundo SANDERS & HUDDLESON.

dam, em parte, dos de McALPINE & SLANETZ, que verificaram a produção de amônia livre em meio peptonado, na presença de glicose, com *Br. abortus*, enquanto *Br. suis* e *Br. melitensis* a produziram muito pouco ou nenhuma. A discrepância deve ter corrido por conta de diferenças de técnicas empregadas, sendo de notar-se a precisão dos trabalhos de SANDERS & HUDDLESON.

A utilização dos ácidos aminados pode ser vista melhor no tópico referente à atividade respiratória, porque os estudos feitos tiveram esta finalidade. Igualmente as pesquisas com meios sintéticos permitiram mostrar quais desses aminoácidos são utilizados preferencialmente pelas brucelas.

Nenhuma das espécies ataca a gelatina ou é produtora de indol.

#### c — Ação sobre os compostos sulfurados

A atividade bioquímica das brucelas sobre os compostos sulfurados tem uma aplicação prática importante, no que diz respeito à produção de  $H_2S$ , servindo como característica diferencial entre as espécies, conforme é visto noutro ponto.

O mecanismo íntimo da utilização pelos germes dos compostos sulfurados tem sido objeto de investigações por parte de SCHUHARDT & Cols. De acordo com FROMAGEOT, os micro-organismos produtores de hidrogênio sulfurado possuem uma enzima, a dessulfidrase, que é responsável por essa atividade.

CAMERON & MEYER confirmaram essa hipótese com relação à *Br. suis*. Verificaram, estudando células lavadas, que esta espécie contém uma enzima desse tipo, ativa sobre substratos contendo cisteína e sendo inativada pela tionina.

A importância da cisteína para a produção de  $H_2S$  já havia sido assinalada com detalhes, por PACHECO & COSTA, em 1940, para as bactérias em geral (inclusive brucelas) e, depois, por MANNOZZI-TORINI & VENDRAMINI, para as brucelas em particular.

## J — ATIVIDADE RESPIRATÓRIA

Apenas para conveniência de exposição, a parte relativa à atividade respiratória das brucelas é separada do estudo da atividade bioquímica. Inicialmente, tais estudos referiam-se só à atividade catalásica.

Uma nova fase de pesquisas sobre a capacidade das brucelas de decompor os hidratos de carbono, ácidos aminados e outras substâncias orgânicas surgiu ao investigar-se o mecanismo das reações levadas a efeito, utilizando células lavadas e substratos isolados, com o auxílio das técnicas de Warburg e de Thunberg. Mais precisamente, essas experiências visavam à verificação da capacidade oxidativa das brucelas sobre os substratos isolados. Uma nota interessante é a de que os trabalhos básicos sobre a atividade respiratória de brucelas foram, na sua maioria, descritos em teses de limitada circulação, como as de STEINBACH, GERHARDT e LEVINE.

Já era sabido que a *Br. abortus* apresentava em sua composição química os citocromos. FREI, em 1936, estabelecendo uma classificação das bactérias sob o ponto de vista das substâncias respiratórias presentes nos micro-organismos (citocromos, oxidase, peroxidase e catalases), colocou a *Br. abortus* num primeiro grupo, o dos germes que contêm todas essas substâncias.

SPÖRRI, no mesmo ano, verificou que *Br. abortus* era fortemente inibida na sua respiração pelo cianeto, o que indicava um grande consumo de oxigênio.

O primeiro trabalho sobre a atividade de brucelas em substratos isolados deve-se a KIEN-HUN & KAN. Usando a técnica de Thunberg, do descoramento do azul de metileno, verificaram a atividade de *Br. abortus* e *Br. melitensis* sobre numerosas substâncias. Foram mais rapidamente oxidadas (descoramento mais rápido do azul de metileno), por ambas as amostras, as seguintes substâncias: glicose, amido, levulose e arabinose. Outros grupos de compostos orgânicos foram igualmente experimentados, sendo o comportamento variável.

O trabalho clássico sobre o assunto foi feito por STEINBACH. Numa tese de doutorado em medicina veterinária, feita no laboratório de Frei, e apresentada à Universidade de Zurich, em 1940, mostrou os resultados de seus estudos minuciosos sobre respiração bacteriana, com especial referência aos doadores de hidrogênio. Entre outras bactérias, incluiu *Br. abortus*, cultivada em agar fígado glicosado e glicerinado. As células lavadas três vezes eram postas em presença de substratos diversos, em proporções variadas, geralmente em soluções M/10. A técnica adotada foi a do consumo de oxigênio, medido em aparelho de Warburg. Muitos outros detalhes foram examinados, tendo sido feitas

numerosas experiências com essa amostra de *Br. abortus*. O quadro a seguir mostra os principais resultados a que chegou STEINBACH:

*Consumo de oxigênio por Br. abortus, com diferentes substratos, em diversas experiências*

Substrato	Consumo de O <sub>2</sub> por mg de matéria seca (cm <sup>3</sup> )	
	Média	Limites
Testemunha (bactérias sem substrato).....	15	5-21
Glutaminato.....	41	33-53
Glicose.....	37	—
Lactato.....	33	7-58
Succinato.....	31	5-51
Glicerofosfato.....	30	18-48
Acetaldeído.....	22	—
Fumarato.....	21	12-36
Alanina.....	21	9-36
Piruvato.....	20	8-33
Asparaginato.....	20	9-28
Malato.....	19	3-37
Oxalacetato.....	18	9-37
Citrato.....	18	9-25
Leucina.....	17	7-26
Malonato.....	16	9-21
Maleinato.....	13	5-19
Formaldeído.....	12	—

Logo após o trabalho de STEINBACH, que examinou tanto a atividade sôbre hidratos de carbono como sôbre ácidos aminados e outros substratos, seguiram-se as pesquisas de MANNOZZI-TORINI & VENDRAMINI. Experimentando vários aminoácidos, verificaram maior atividade de *Br. abortus* sôbre o ácido glutâmico, seguindo-se a cisteína e a alanina. A serina e a glicocola comportaram-se quase como a testemunha (Fig. 29). Segundo GERHARDT, a pequena oxidação da cisteína observada por êsses pesquisadores deve ser levada a conta de auto-oxidação dêsse aminoácido, nas condições em que foram feitas as provas.

A atividade sôbre ácidos orgânicos também foi examinada por ATTIMONELLI que verificou não ser o ácido fórmico oxidado, enquanto o acetato e os ácidos graxos C<sub>6</sub> a C<sub>18</sub> foram mais prontamente oxidados.

Outros aspectos das investigações iniciais podem ser encontrados na revisão de HOYER.

Há poucos anos, outros ensaios foram executados por diversos pesquisadores, visando, também, verificar a atividade respiratória das brucelas.

Um trabalho importante sôbre a utilização de hidratos de carbono deve-se a McCULLOUGH & BEAL. Examinaram 12 amostras de brucelas (4 de cada espécie), com as células lavadas 3 vêzes e em presença de 9 hidratos de carbono isoladamente (eritritol, D-frutose, D-manose,

D-sucrose, D-xilose, L-arabinose, D-galactose, D-glucose e D-trealose). Mediram o consumo de oxigênio em aparelho de Warburg. Com raras exceções, observaram oxidação com tôdas as amostras e com todos os

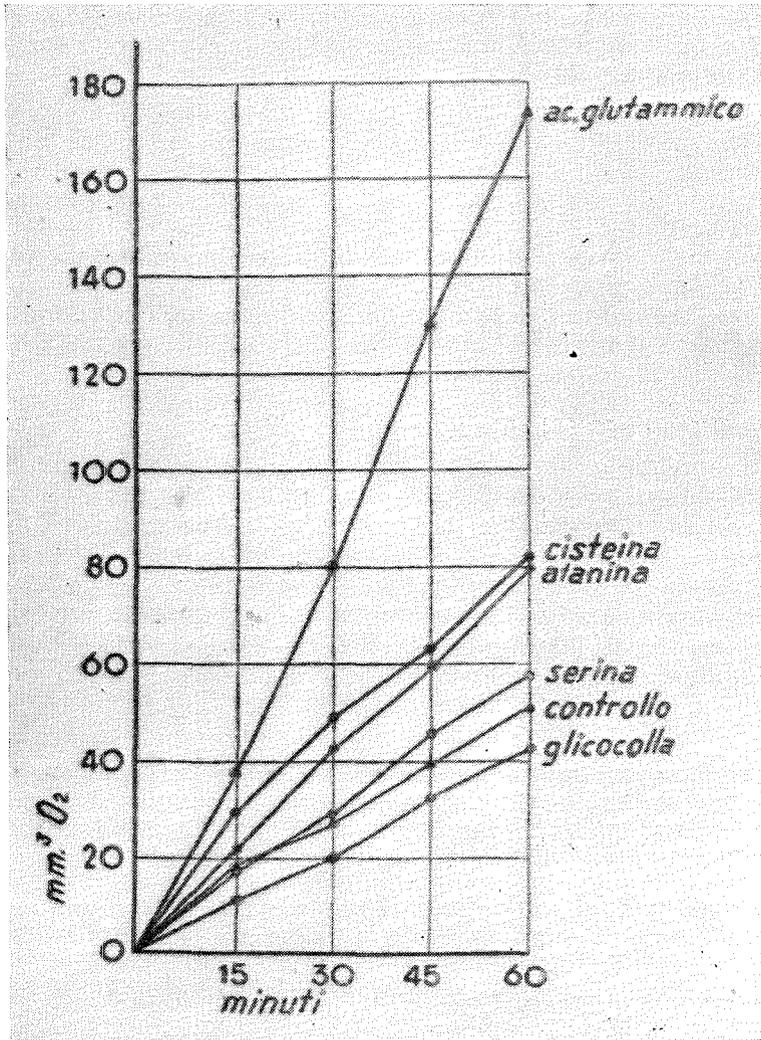


Fig. 29 — Decomposição de ácidos aminados, por oxidação, pela *Br. abortus*. Segundo MANNOZZI-TORINI & VENDRAMINI.

substratos. *Br. abortus* mostrou-se mais ativa em presença de eritritol, glicose, galactose e frutose; *Br. suis*, na presença de eritritol, arabinose, glucose, xilose e galactose; *Br. melitensis*, ante a glicose e muito pouco em presença de manose e frutose. Num trabalho posterior, também em 1951, foi examinado o efeito da sulfadiazina, de diversos antibióticos

isolados e combinados (estreptomina, di-hidroestreptomina, aureomicina, cloramfenicol e terramicina), sobre a respiração de brucelas. Em presença da glicose, a associação de aureomicina e estreptomina mostrou maior atividade inibitória, revelando nítida sinergia, pois o consumo de oxigênio foi menor em presença de ambas do que com os mesmos antibióticos, nas mesmas doses, isoladamente (Fig. 30). Por sua vez, a aureomicina inibiu a respiração em presença de trealose, xilose, frutose e piruvato.

Em 1952, THIAGO DE MELLO & NIBER DA PAZ M. SILVA fizeram experiências com diversos substratos isolados, usando a técnica de redução de sais de tetrazólio, para verificar a atividade desidrogenásica de amostras típicas de *Br. abortus* e *Br. suis*. Os resultados mostraram atividade intensa desta última para muitos substratos, e reduzida da primeira, em comparação com a atividade endógena das testemunhas (Fig. 31). As provas, feitas nas mesmas condições de padronização, confirmaram, em muitos pontos, os estudos de McCULLOUGH & BEAL e mostraram a conveniência da técnica empregada (redução dos sais de tetrazólio em formazana corada), para estudos semelhantes. Em resumo, os resultados foram os seguintes, avaliada a atividade em microgramas de formazana produzida:

a) De modo geral, *Br. suis* possui atividade desidrogenásica mais acentuada do que *Br. abortus*;

b) *Br. abortus* oxida mais intensamente os seguintes substratos: arabinose e galactose (muito intensamente), glicose, glicerol, xilose, alanina, frutose e sorbitol (que foi o menos oxidado);

c) *Br. suis* oxida mais intensamente os seguintes substratos, em ordem decrescente: xilose, arabinose e glicose (muito intensamente), galactose, alanina, acetato de sódio, maltose, glicina, frutose e sorbitol;

d) Glicerol não aumenta a atividade desidrogenásica endógena de *Br. suis*, enquanto o acetato de sódio não aumenta esta atividade em *Br. abortus*.

CAMERON & MEYER verificaram que a oxidação de alanina e outros ácidos aminados relacionados com o ciclo da uréia, pelas espécies de brucelas, variava de acordo com a forma dextrógira ou levógira do ácido aminado. Utilizaram a técnica de Warburg e a cromatografia em papel. *Br. suis* mostrou maior atividade oxidativa, principalmente com D-alanina (Fig. 32). A seguir, verificaram que as três espécies de brucelas metabolizam os produtos de decomposição da uréia, sendo os principais ácidos aminados assim formados, a alanina e o ácido glutâmico.

Com relação ao ácido glutâmico, as discordâncias entre diferentes pesquisadores têm sido grandes, o que se deve não só à forma do ácido empregada e à espécie de brucela, como também, à técnica de trabalho.

GERHARDT e seus colaboradores, numa série de pesquisas, trabalhando com *Br. abortus*, amostra B-19, constataram intensa oxidação do ácido L-glutâmico, mais acelerada do que a da glicose, do lactato e dos outros ácidos aminados oxidáveis. Era, mesmo, o processo respiratório mais rápido até então verificado com essa espécie.

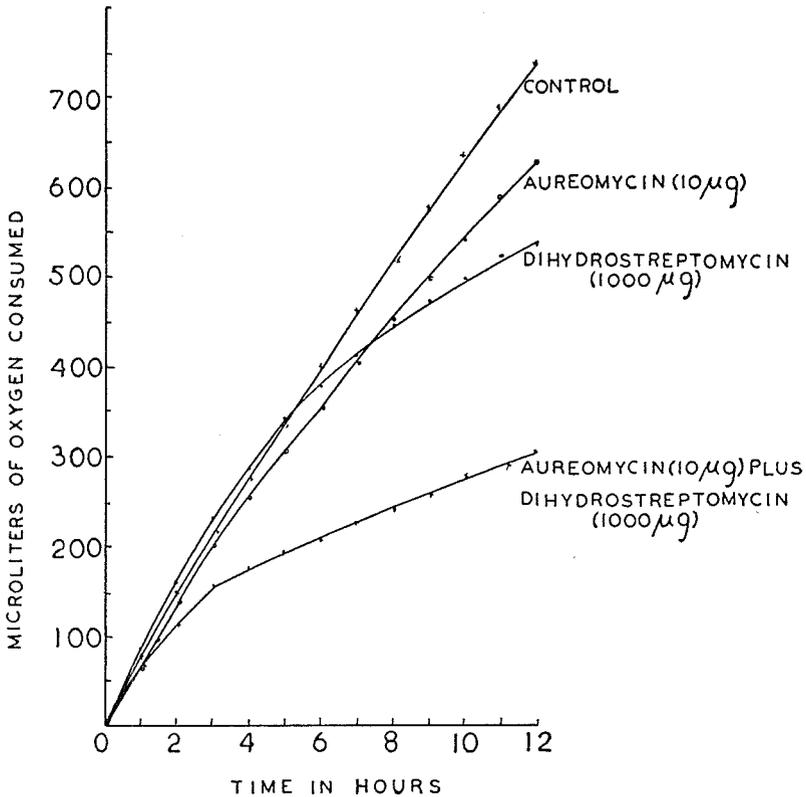
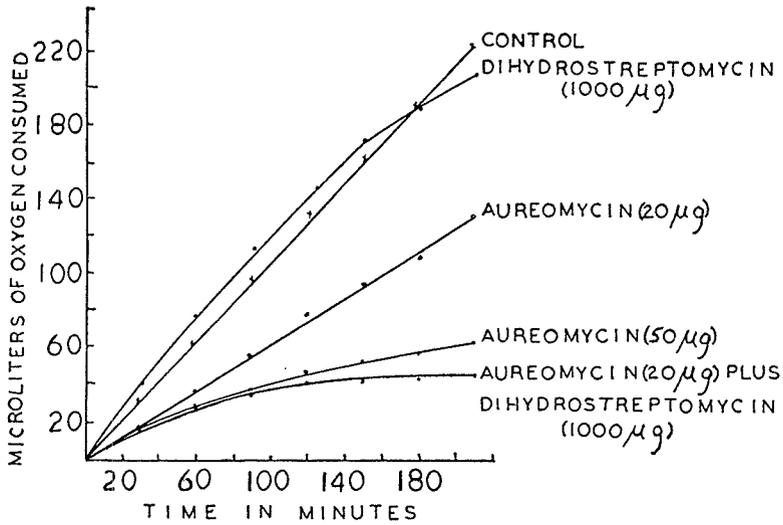


Fig. 30 — Efeito sinérgico da combinação de aureomicina e di-hidroestreptomicina, diminuindo o consumo de oxigênio de *Br. melitensis*; células lavadas e em presença de glicose. Segundo McCULLOUGH & BEAL.

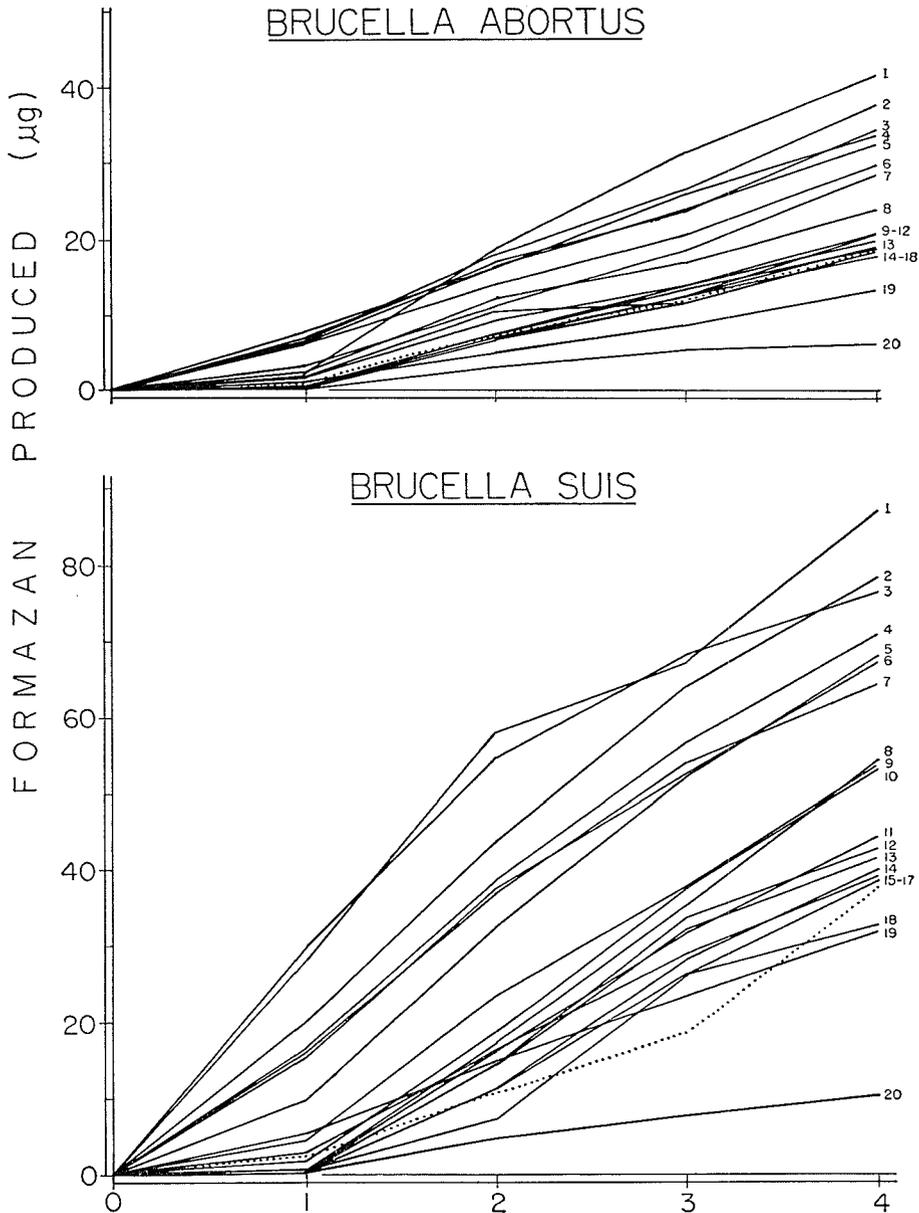


Fig. 31 — Atividade desidrogenásica de *Br. abortus* e *Br. suis*. Ordem decrescente de quantidade de formazana produzida por células lavadas de brucelas, em presença de substratos isolados, ao fim de 1, 2, 3 e 4 horas. *Br. abortus*: 1-L-arabinose; 2-D-galactose; 3-D-glicose; 4-glicerol; 5-D-xilose; 6-DL-alanina; 7-D-frutose; 8-D-sorbitol; 9-glicina; 10-L-asparagina; 11-acetato de sódio; 12-maltose; 13-testemunha; 14-i-inositol; 15-ácido D-glutâmico; 16-D-arginina; 17-D-lactose; 18-D-manitol; 19-ácido succínico; 20-ácido cítrico. *Br. suis*: 1-D-xilose; 2-L-arabinose; 3-D-glicose; 4-D-galactose; 5-DL-alanina; 6-acetato de sódio; 7-maltose; 8-glicina; 9-D-frutose; 10-D-sorbitol; 11-glicerol; 12-D-arginina; 13-D-manitol; 14-L-asparagina; 15-ácido D-glutâmico; 16-i-inositol; 17-testemunha; 18-D-lactose; 19-ácido succínico; 20-ácido cítrico. Segundo THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA.

O mecanismo dessa oxidação foi estudado por MARR & Cols., que verificaram, com determinada amostra de *Br. abortus*, relacionada com a B-19 e de virulência reduzida, que o ácido glutâmico é oxidado em ácido pirúvico, alanina, gás carbônico e amônia.

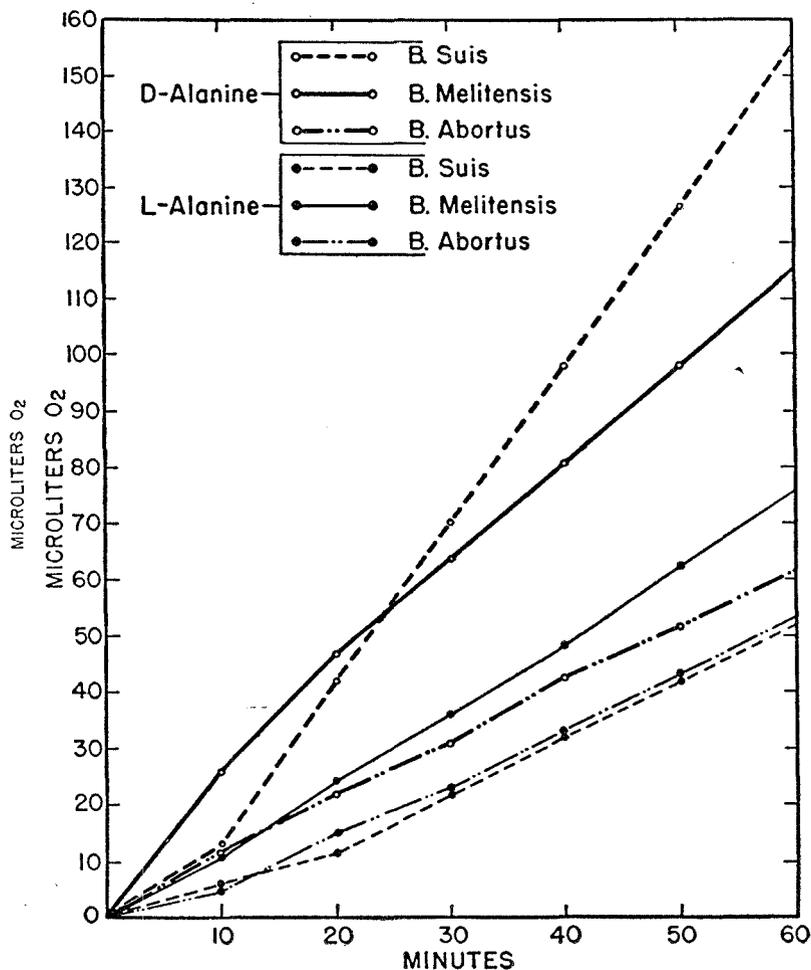


Fig. 32 — Utilização de D-alanina e L-alanina, pelas 3 espécies de brucelas. Segundo CAMERON & MEYER.

Já com *Br. suis*, CAMERON & Cols. observaram que o ácido glutâmico não era utilizado. A diversidade flagrante do que ocorria com a *Br. abortus* sugeriu aos autores que deviam existir, também, diferenças na constituição enzimática das duas espécies.

Nessa mesma ocasião, THIAGO DE MELLO & NIBER DA PAZ M. SILVA, trabalhando com *Br. suis* e *Br. abortus*, verificaram que ambas eram praticamente inativas na redução do cloreto de trifetil-tetrazólio em presença de ácido D-glutâmico (Fig. 33). Embora isto confirmasse, para *Br. suis*, os resultados obtidos por outros pesquisadores, usando

diferentes técnicas, discordava dos dados conhecidos a respeito de *Br. abortus*, sendo as explicações possíveis as de que trabalharam com amostra virulenta de *Br. abortus* (B-99 de Weybridge) e com ácido D-glutâmico, além do método utilizado.

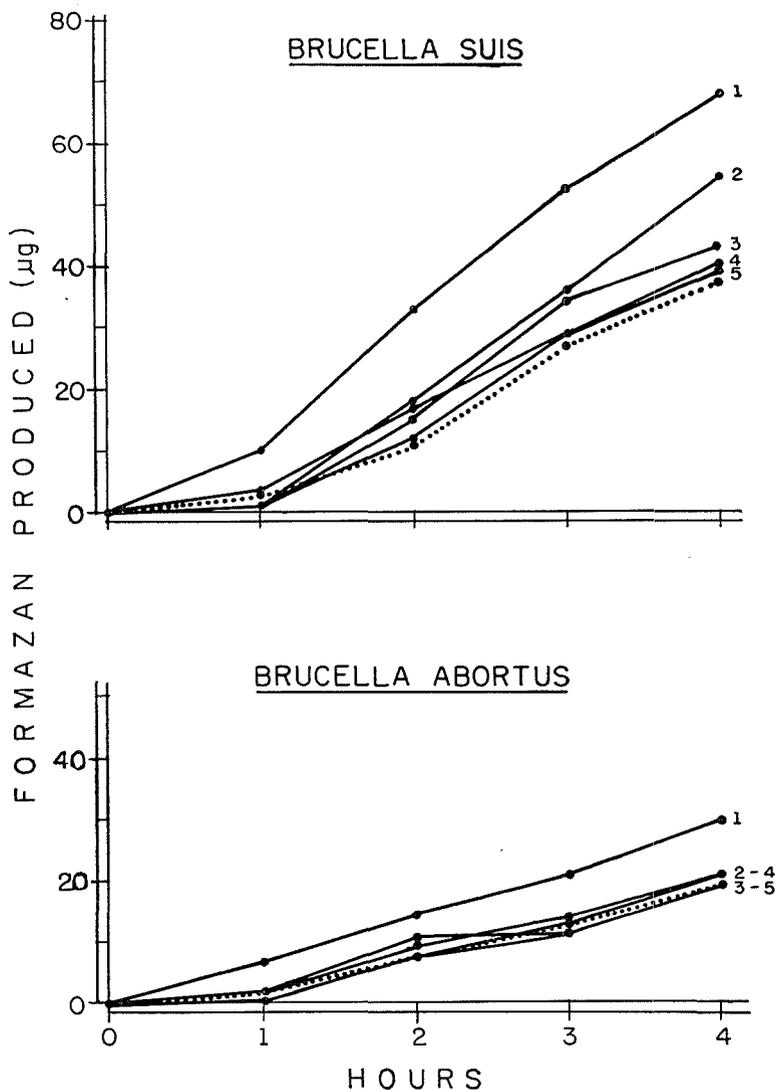


Fig. 33 — Formazana produzida por células lavadas de *Br. suis* e *Br. abortus*, na presença de: 1-DL-alanina; 2-glicina; 3-D-arginina; 4-L-asparagina; 5-ácido D-glutâmico. .... atividade endógena (testemunha). Segundo THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA.

Os ácidos carboxílicos que intervêm no ciclo respiratório de Krebs são oxidados por *Br. abortus*, amostra B-19, segundo verificaram STEINBACH e outros. ALTENBERN & HOUSEWRIGHT, por exemplo, observaram oxidação dos ácidos cítrico, *cis*-aconítico e isocítrico.

O efeito da fucsina básica e da tionina, corantes empregados na diferenciação de espécies de brucelas, sobre a oxidação de D-alanina pelas 3 espécies, foi estudado por CAMERON & MEYER, usando a técnica de Warburg e quantidades crescentes do ácido aminado. Os dois corantes diminuíram a atividade respiratória de *Br. abortus* e *Br. suis*, enquanto que somente a fucsina básica diminuía a de *Br. melitensis*. Em presença de D-alanina, contudo, os resultados foram diferentes: a fucsina básica inibiu a oxidação do aminoácido por *Br. suis* mas não por *Br. abortus* ou *Br. melitensis*, enquanto a tionina retardou a oxidação por *Br. abortus* e não por *Br. suis* e *Br. melitensis*. Como se vê, os resultados obtidos por CAMERON & MEYER concordam com os que se obtêm na prova de cromobacteriostase (inibição de *Br. suis* pela fucsina e de *Br. abortus* pela tionina), indicando ser fundamental a presença de D-alanina no meio.

A hipótese de que a permeabilidade celular das brucelas pudesse impedir um estudo aprofundado do mecanismo das reações oxidativas foi examinada por GERHARDT & COLS. e ERLANDSON & GERHARDT. Além das células intactas postas em condições que modificassem a permeabilidade de suas paredes (acetona, toluol, pH, etc.), foram empregadas outras, rompidas fisicamente (por congelação e degêlo, vibrações sônicas e trituração com alumina em pó). Os pesquisadores chegaram à conclusão de que realmente a permeabilidade é um fator de limitação importante nas provas e mostraram, inclusive, porque certas reações pareciam inconsistentes como, por exemplo, a oxidação da asparagina e não a do aspartato.

---

## K — ENZIMAS

As enzimas de brucelas, em função das quais se processam reações diversas, algumas já vistas nos tópicos anteriores, ainda não foram pesquisadas em preparações purificadas ou, pelo menos, isentas de células.

ROESSLER & COLS., contudo, estudaram, recentemente, os ésteres de hexosefosfato que ocorrem na desassimilação anaeróbia da glicose e da galactose, por preparações de *Br. suis*, isentas de germes, obtidas com técnica trabalhosa, iniciada com o rompimento físico por meio de ultra-som. Verificaram, assim, a formação de glicose-1-fosfato, glicose-6-fosfato, frutose-6-fosfato e frutose-1,6-difosfato, confirmando a atividade do produto. Com base nessas pesquisas, bem como noutras, GARY & COLS. conseguiram, recentemente, demonstrar a presença duma aldolase ativada pelo ferro, em extratos sônicos de *Br. suis*.

Relativamente à urease, é interessante assinalar que a atividade ureásica de brucelas secas, depois de tratadas por acetona, é tão elevada, em peso, quanto à encontrada em certas sementes de leguminosas ("Jack bean"), segundo HOYER, o que dá importância considerável à enzima em questão. A média de milímetros cúbicos de CO<sub>2</sub> produzido

por miligrama de nitrogênio celular, por hora, nas condições em que HOYER trabalhou, foi a seguinte:

<i>Espécie</i>	$CO_2$ ( $mm^3$ )
<i>Br. suis</i>	18 100
<i>Br. melitensis</i>	16 300
<i>Br. abortus</i>	1 400

Esta grande variação na atividade ureásica é que constitui a base para a diferenciação entre espécies de brucelas, principalmente *Br. suis*, conforme propuseram PACHECO & THIAGO DE MELLO, seguidos de outros investigadores, o que é exposto noutra tópico.

FOSTER & Cols. obtiveram uma urease ativa, em frações aquosas extraídas a pH 9.2 e 6.9, bem como uma fração solúvel em salina, com brucelas tratadas com acetona. Anteriormente, FOSTER verificara que uma urease solúvel, de *Br. abortus*, podia ser facilmente extraída e mantida estável em soluções neutras ou fracamente alcalinas. Essa preparação era menos estável ou extraída com menor facilidade, em soluções ácidas fracas. A inibição da atividade era demonstrada por meio de sôros específicos. Uma observação importante, feita nessa ocasião, foi a de que lavagens repetidas de brucelas em solução salina, aparentemente removem a urease, daí a necessidade de não serem lavadas as células, antes da prova. A fração solúvel contendo urease de *Br. abortus*, precipita com sôro homólogo e heterólogo. FOSTER finaliza seu trabalho, dizendo que ainda não era possível tirar conclusões definidas sobre a natureza essencial da enzima.

A catalase foi estudada por HUDDLESON, no sentido de verificar diferenças entre espécies e alterações na virulência. Contudo, não foram feitas preparações da enzima isolada ou purificada. Suas pesquisas foram ampliadas recentemente, por SANDERS & WARNER, mas ainda assim não foram feitas purificações.

Sobre outras atividades enzimáticas, foram elas tratadas nos tópicos de atividades bioquímicas e respiratórias.

#### L — COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURA ANTIGÊNICA

Os estudos sobre a composição química e a estrutura antigênica das brucelas praticamente se superpõem. Os trabalhos principais devem-se aos grupos de MILES e de HUDDLESON.

Em 1937, PENNELL & HUDDLESON, continuando suas pesquisas, publicaram os resultados obtidos a respeito da constituição química do endo-antígeno das brucelas, utilizando germes secos e triturados num moinho de bolas. Revêm a literatura e determinam as propriedades biológicas do produto obtido.

Na 2.<sup>a</sup> edição do livro de TOPLEY & WILSON, publicada em 1936, os autores destacam o significado das verificações de WILSON & MILES sobre a existência das frações antigênicas A e M, em proporções dife-

rentes nas brucelas, conforme se tratasse de *Br. melitensis* (20 M: 1 A) ou de *Br. abortus* e *Br. suis* (20A:1M). (Fig. 34). Dizem êles: no total,

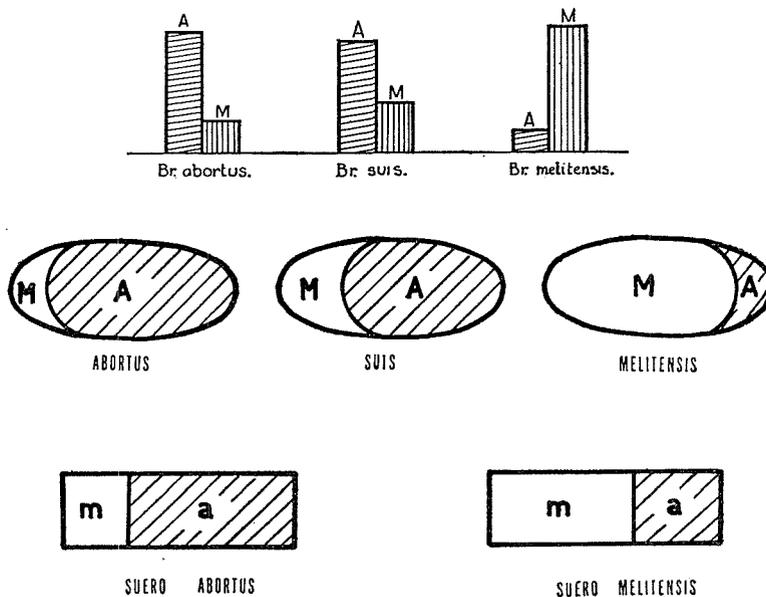


Fig. 34 — Constituição antigênica das 3 espécies de brucelas e respectivos anticorpos. Segundo TOPLEY & WILSON e CASTAÑEDA.

os resultados das experiências de fracionamento químico confirmam os obtidos por absorção quantitativa de aglutininas, indicando que os antígenos, nas 3 principais espécies de brucelas, apresentam similaridade qualitativa mas diferença quantitativa na distribuição. Quanto ao fracionamento químico, mostraram a diversidade de componentes até então isolados. OLITZKI & GUREVITSCH, segundo MINOPRIO, estabeleceram, para as brucelas, um antígeno genérico, fundamental, denominado G, comum a tôdas as espécies; além dêsse, outros dois principais, que são específicos, um para *Br. abortus*, denominado A e outro para *Br. melitensis*, chamado M; a *Br. suis* teria os antígenos A e M, predominando o A. Seriam as seguintes, as fórmulas antigênicas das 3 espécies:

<i>Br. abortus</i> .....	G e A
<i>Br. melitensis</i> .....	G e M
<i>Br. suis</i> .....	G, A e M

Tornar-se-ia desnecessário, para as finalidades do presente trabalho, rever o grande número de pesquisas feitas nessa direção, contudo, uma delas, mais recente, deve ser examinada. No Symposium sobre Brucelose, realizado em 1949, em Bethesda, PENNELL apresentou um estudo sobre a constituição química das brucelas, à luz das pesquisas até então realizadas em diversos países. O número de frações químicas

obtidas é tão elevado que a consulta a essa publicação é indispensável para melhor conhecimento sobre a matéria. Uma tabela constante de seu trabalho anterior com HUDDLESON é transcrita, contendo os principais componentes verificados.

Em resumo, dos trabalhos de diversos autores, avulta a presença de polissacarídeos, núcleo-proteínas, substâncias lipídicas, antígeno S (antígeno precipitante, não protêico e não polissacarídico), antígeno gluco-lipídico (termo-estável), etc.

Outros detalhes podem ser vistos na revisão de MAZZETTI & TESI, que é a melhor sobre o assunto.

Recentemente, FOSTER empreendeu estudos eletroforéticos em antígenos de brucelas. Empregou extratos de *Br. abortus* em vários pH: suspensões aquosas, tratamento com acetona a 30% a  $-11^{\circ}\text{C}$  e tratamento com acetona concentrada a  $-60^{\circ}\text{C}$ . Foram feitas comparações entre esses antígenos e os obtidos de acordo com a técnica de MILES & PIRIE. Segundo FOSTER, o antígeno completo de MILES & PIRIE possui dois componentes, um que é o antígeno AP destes autores, e outro correspondente à fração solúvel obtida em acetona a 30%, parecendo ter mobilidade eletroforética intermediária entre o extrato aquoso de FOSTER e antígeno AP de MILES & PIRIE.

RENOUX & MAHAFFEY, em 1955, descrevem suas pesquisas tendentes a demonstrar a existência dum antígeno específico Z encontrado em amostras ovinas de Nova-Zelândia; esse antígeno também é encontrado em formas R de *Br. abortus* e *Br. melitensis*.

GARY & Cols. conseguiram isolar e purificar parcialmente um polissacarídeo intracelular, de *Br. suis*, com 91,7% de carboidrato, 1,7% de nitrogênio, 4,7% de umidade e 1,8% de cinzas.

---

## M — RESISTÊNCIA AOS AGENTES FÍSICO-QUÍMICOS

Esta resistência tem sido investigada em trabalhos clássicos e, também, em pesquisas recentes, usando técnicas modernas. É um assunto que se reveste de interesse porque dele depende, em grande parte, a profilaxia da doença. Para os trabalhos iniciais, as revisões existentes nos livros de KOLLE & WASSERMANN e de SIGNORELLI, bem como no trabalho de MAZZETTI & TESI, podem servir de boa fonte de consulta.

### *Agentes físicos*

*Frio* — O frio não exerce efeitos prejudiciais sobre as brucelas. Pelo contrário, elas resistem a ele perfeitamente. Por isso, constitui a baixa temperatura um bom recurso para manter as brucelas viáveis por longo tempo, nos laboratórios.

Por outro lado, essa manutenção da viabilidade oferece perigo no caso dos sangues conservados, para transfusões, conforme assinalaram SPINK & ANDERSON.

Também no caso de laticínios e outros produtos de origem animal, quando contaminados, a conservação pelo frio não diminui o número de brucelas.

*Calor* — Quanto à elevação da temperatura, as brucelas apresentam a resistência comum das bactérias não esporuladas. Contudo, em virtude de possuírem certa quantidade de substâncias lipídicas, essa resistência é ligeiramente maior, embora seja menor do que a do bacilo da tuberculose. Como orientação prática, isto é importante, porque nas técnicas de desinfecção e de pasteurização, quando são mortas as micobactérias, muito antes já o foram as brucelas.

O calor sêco age em temperatura relativamente elevada, em torno de 90° a 95°C, quando os germes estão depositados em lâminas de vidro.

Já o calor úmido mata em temperaturas muito mais baixas. BOAK & CARPENTER, em trabalhos clássicos, verificaram que suspensões de *Br. abortus* em leite eram destruídas em 15 minutos a 60°C e em 30 a 60 segundos a 71,1°C. Quanto à *Br. suis*, contudo, é necessário um aquecimento de 60° a 62°C, durante 20 a 30 minutos, para ter-se a certeza da morte dos germes.

Trabalho importante sôbre a *pasteurização* do leite foi publicado por BALL, em 1943, baseado, principalmente, em experiências com brucelas.

Dez anos depois, pesquisadores da Universidade de Rutgers completaram essas observações. Inicialmente, FOSTER, LEAR & METZGER verificaram que uma amostra virulenta de *Br. abortus*, aquecida de mistura com leite, inativava-se no fim de 23 minutos a 61,5°C (142,7°F) e em 14 segundos a 72°C (161,6°F). Se havia um aquecimento prévio de 1 minuto, mantinha-se o tempo de 23 minutos para a morte a 142,7°F mas diminuía para 12 segundos, a 161,6°F. Um detalhe de suma importância, então investigado, foi que o contrôle da pasteurização pela prova de fosfatase, feita de acôrdo com as prescrições do Laboratório de Saúde Pública da Cidade de New York, segundo LEAR & FOSTER, poderia não indicar seguramente a inativação de *Br. abortus*, enquanto a mesma prova, feita segundo o método de SANDERS & SAGER, sendo negativa, daria segurança a respeito da morte das brucelas.

Em virtude desta possibilidade, os estudos foram ampliados por KRONENWETT, LEAR & METZGER, que procederam a cuidadosa revisão do assunto e estabeleceram as curvas do tempo de morte térmica de diversas amostras de *Br. abortus*, nas temperaturas empregadas nos dois processos clássicos de pasteurização do leite: lento e rápido. Concluíram que, pelo processo lento, na forma pela qual é habitualmente feito (30 minutos a 143°F), existe grande margem de segurança, de cêrca de 26 minutos; também pelo processo rápido, essa margem era aproximadamente de 12 segundos, a 161°F. Além disso, pelas provas feitas, chegaram à conclusão final de que os padrões em vigor para a pasteurização do leite pelos dois processos, nos Estados Unidos, oferecem ampla margem de segurança quanto à inativação de brucelas.

*Dessecação* — As brucelas resistem enormemente à dessecação. Esta propriedade é de importância na epidemiologia, porque os germes dessecados, conservando-se por muito tempo, a qualquer momento podem levantar-se das superfícies onde se encontram, constituindo aerossóis infectantes.

A resistência à dessecação é aumentada, conforme o material em que se encontravam originalmente os germes. No capítulo da epidemiologia, transcrevemos o quadro de LUSTIG & VERNONI, da viabilidade das brucelas em diversos materiais, inclusive em poeiras de estradas (14 a 72 dias). STEPANOV & ANDREEVA, segundo MAZZETTI & TESI, demonstraram que no sangue dessecado os germes resistiam durante 17 a 23 dias, enquanto que, nas mesmas condições, as aglutininas antibrucelas conservavam-se por 30 dias.

Além do interesse quanto à epidemiologia, a resistência das brucelas à dessecação tem importância prática para a sua conservação nos laboratórios. Vários são os processos para obter-se boa secagem de bactérias, sendo os mais comuns os que utilizam  $P_2O_5$  como agente desidratador (método de Sordelli) e os que empregam a liofilização (método de Flosdorf).

RHODES, empregando o primeiro desses processos, e trabalhando com 58 amostras diferentes de brucelas, verificou, em diversas provas feitas, os resultados abaixo, com média geral de viabilidade de 78%.

<i>Período de sobrevivência entre a secagem e a prova</i>	<i>N.º de amostras experimentadas</i>	<i>Culturas viáveis</i>
Menos de 1 ano	48	40
1 a 4 anos	46	33
5 a 9 anos	31	26
10 a 14 anos	72	55
Entre menos de 1 ano e 14 anos	197	154

A liofilização, ou secagem a partir do estado congelado (sublimação), é amplamente usada em todos os laboratórios, para conservar brucelas com as suas características, principalmente virulência e antigenicidade. Muitos fatores intervêm no processo de liofilização, devendo ser conhecidos, para que se obtenham melhores resultados.

HUTTON & Cols. fizeram estudos detalhados com *Br. abortus*, amostra B-19, para verificar a influência da temperatura do material congelado, durante a liofilização, da velocidade da sublimação e da umidade residual no produto dessecado. Viram que existe uma temperatura crítica para a secagem das amostras congeladas, acima da qual a recuperação de germes viáveis é diminuída; a melhor temperatura ficava em torno de  $-30^{\circ}C$ ; à temperatura de  $-10^{\circ}C$ , apenas 1,4% de células viáveis eram recuperadas. Se a quantidade de sais minerais no líquido da suspensão era muito pequena, a elevação da temperatura, durante a secagem, não tinha importância tão grande (havia indicações de que a presença de sais dissolvidos estava relacionada, de alguma forma, com a destruição das células, o que ocorria quando as suspensões bac-

terianas eram submetidas a temperaturas desfavoráveis). Ao contrário do que geralmente se pensa, uma secagem não muito rápida determinava aumento na porcentagem de células viáveis; parece melhor uma velocidade intermediária. A umidade residual nas amostras conservadas por liofilização tem importância; a porcentagem de bactérias viáveis, mantidas à temperatura ambiente, era tanto maior quanto mais seco o material; também a viabilidade permanecia por mais tempo.

Diversos líquidos têm sido propostos para adicionar-se à suspensão de brucelas destinadas à secagem. É necessário, sempre, que nêles existam os chamados "colóides protetores". Dentre os líquidos mais usados, destacam-se o leite desnatado e o sôro normal.

HORNIBROOK propôs um líquido que permitia boa secagem, ficando o material bem disperso. A composição era semelhante à das substâncias dialisáveis do leite desnatado:

Citrato de potássio ( $K_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O$ ) . . . . .	1,35 g
Citrato de sódio ( $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ ) . . . . .	2,45 g
Fosfato de potássio ( $K_2HPO_4$ ) . . . . .	0,61 g
Cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ anidro) . . . . .	1,33 g
Cloreto de magnésio ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ) . . . . .	0,6 g
Carbonato de potássio ( $K_2CO_3 \cdot 1 \frac{1}{2} H_2O$ ) . . . . .	1,0 g
Lactose . . . . .	57,5 g
Ácido láctico, q.s. para pH 7.0 — cêrca de . . . . .	0,65 ml
Água destilada ( $H_2O$ ) . . . . .	1000,0 ml

Dissolver todos os ingredientes, exceto o cloreto de cálcio, em 500 ml de água; dissolver o cloreto de cálcio no restante da água; misturar as duas soluções e ajustar o pH; filtrar em velas Berkefeld. Em comparação com o leite, os resultados obtidos em 3 provas com *Br. abortus*, amostra B-19, foram os seguintes:

*Porcentagem de germes recuperados*

No leite	Na mistura lactose + sais
41%	72%
0,8%	3%
4%	51%

Um inconveniente dêsse líquido de HORNIBROOK, é o de formar-se um material tão seco e pulverulento, que flutua no ambiente, sob a forma de aerossol, ao abrir-se a ampola ou frasco em que está contido. Para remover êste obstáculo, seria necessária a junção dum colóide, por exemplo, a goma acácia ou outra substância, que tornaria a massa dessecada mais compacta.

Convém não esquecer a possibilidade de, durante a liofilização, morrerem, em primeiro lugar, sobretudo, as células em fase lisa, conforme diz BRAUN.

A secagem das brucelas contidas na vacina B-19 tem sido feita com reais vantagens práticas. Já em 1944, VERWEY, do Laboratório Sharp & Dohme, fazia experiências com esse objetivo, mostrando as vantagens do processo, principalmente para os trabalhos no campo. Conforme relatou mais tarde, mesmo que a vacina seja ressuspensa com antecedência, desde que mantida, em seguida, refrigerada entre 2° e 5°C, não se observa diminuição da viabilidade, num período de 36 dias. Depois de 3 meses de ressuspensa, ainda continuam viáveis 68% a 75% do número de células iniciais.

Como a liofilização sempre determina diminuição da quantidade de germes presentes na suspensão original, é conveniente colocar, nas vacinas a serem dessecadas, um número de brucelas superior ao comumente exigido pelos padrões oficiais, isto é, em vez de 10 bilhões, colocar 20 bilhões de germes por ml. Isto fornece grande margem de segurança.

BOSGRA, na Holanda, também empregou a vacina B-19 dessecada, usando como líquido para suspensão uma mistura de leite desnatado e tampão de fosfato. Verificou que se a suspensão era congelada muito rapidamente, em fina camada, por meio duma mistura de neve carbônica e álcool, a porcentagem de sobrevivência ficava entre 41% e 67%, mas se congelada lentamente, a — 20°C, dava só 24% a 29%. No liofilizador tipo Edwards, obtinha menos de 1%, mas, se com o mesmo aparelho fôsse adicionada dextrose na taxa de 7,5%, as médias de sobrevivência subiam para 45% a 60%. Outros detalhes de técnica são apresentados nesse trabalho de BOSGRA.

No Brasil, o preparo de vacina B-19 liofilizada redundaria em benefícios consideráveis para a profilaxia da doença bovina, em virtude das dificuldades de transporte, das grandes distâncias a percorrer e das temperaturas sempre relativamente elevadas, que constituem um óbice à larga difusão de campanhas vacinatórias eficientes. Tivemos notícia de que a Companhia Rhódia, de São Paulo, estava interessada no assunto mas não sabemos em que ponto se encontram seus trabalhos a respeito.

*Luz* — Os efeitos da luz solar já eram conhecidos desde os trabalhos da Comissão Inglesa na Ilha de Malta. HORROCK, segundo SIGNORELLI, verificou que brucelas dessecadas em lâminas de vidro e expostas ao sol morriam em poucos minutos, no máximo dentro de hora e meia, variando o prazo com a intensidade da luz, as condições atmosféricas, etc. Já com a luz solar difusa, as suspensões secas em papel esterilizado permaneciam vivas durante cerca de uma semana.

As mais completas experiências devem-se a MORALES-OTERO, em Pôrto Rico; na sua monografia, descreve-as detalhadamente. Vários tipos de pesquisas foram feitos: suspensões em água, exposição aos raios solares em baixa temperatura ou à temperatura ambiente, utilização de recipientes de quartzo, de luz ultra-violeta, etc. Em resumo, observou que a luz solar direta possui um efeito deletério nítido sobre *Br. abortus* mas, aparentemente, nenhum outro sobre a virulência dos germes que lhe sobreviveram. Culturas de *Br. abortus*, expostas à luz solar em tubos de quartzo, durante 3 horas, ao meio dia, no verão,

tornaram-se completamente estéreis, mesmo que tivessem sido mantidas sobre gelo, o que, ao sol, dava uma temperatura de 20° a 30°C no interior dos tubos. A colocação dum vidro despolido entre os raios solares e os tubos de quartzo foi suficiente para proteger as testemunhas.

Das radiações componentes da luz solar, as da faixa ultra-violeta têm sido intensamente utilizadas em bacteriologia, quer para esterilização de ambientes, quer para o preparo de vacinas. Os laboratórios em que se fazem trabalhos com brucelas devem ser convenientemente protegidos com barragens de luz ultra-violeta.

MORALES-OTERO observou os seguintes resultados, com o emprêgo duma lâmpada de luz ultra-violeta à distância de 33 cm dos tubos de quartzo:

Tempo de exposição	Crescimento posterior em		
	Agar inclinado	Diluição e espalhamento em placas N.º de colônias	Distribuição do total em placas N.º de colônias
Sem exposição (testemunha).....	Crescimento	100 000 000	Incontáveis
5 minutos.....	Crescimento	5 200 000	Incontáveis
10 minutos.....	Crescimento	8 000	Incontáveis
15 minutos.....	Sem crescimento	4 000	432 col/cm <sup>2</sup>
20 minutos.....	Sem crescimento	1 000	72 " "
25 minutos.....	Sem crescimento	0	13 " "
30 minutos.....	Sem crescimento	0	2 " "

Para o preparo de vacinas, SCHLINGMAN & MANNING fizeram experiências com suspensões de *Br. abortus* inativadas pela exposição de camadas muito finas, em fluxo contínuo, à luz ultra-violeta, de acordo com a técnica de LEVINSON & COLS. Uma suspensão de 4 bilhões por ml foi a melhor para a inativação, o que se comprovou pelo cultivo em meios adequados e pela inoculação em cobaias. A seguir, experimentaram o poder protetor duma vacina feita com suspensão em salina, de amostra virulenta de *Br. abortus*, tratada dessa maneira e adicionada de 4% de alumínio. Os resultados, embora promissores, não foram seguidos de experiências em larga escala.

*Rádium* — AZZARITI, segundo SIGNORELLI, estudou os efeitos das emanções de radium sobre as brucelas. Em doses altas e médias (9 550 e 955 U.M.), são nitidamente bactericidas para *Br. abortus* e *Br. melitensis*; doses menores (95 U.M.) permitiram observar resistência de *Br. abortus* por 30 dias e de *Br. melitensis* por 20 dias.

*Raios X* — PALTRINIERI & PALTRINIERI, segundo MAZZETTI & TESI, estudaram o efeito dos raios Röntgen sobre as brucelas; estabeleceram em 265 H, sem filtro, a dose necessária para esterilizar culturas de *Br. melitensis* e *Br. abortus*.

*Ultra-som* — As vibrações super-sônicas têm sido de emprêgo corrente nos estudos com brucelas, principalmente, para a observação das atividades enzimáticas. Também, em certos casos, para o preparo de antígenos destinados às provas diagnósticas intradérmicas e à terapêutica.

HUDDLESON utilizou extratos de brucelas obtidos com um oscilador que dava 9 kc/segundo, com a finalidade de aumentar o crescimento de amostras de *Br. abortus*, exigentes de CO<sub>2</sub>, e que se desenvolviam com dificuldade nos meios habituais.

### *Agentes químicos*

Os mais diversos agentes químicos têm sido utilizados com a finalidade de promover a morte das brucelas; seria impossível revê-los todos. Por isto, no presente tópico, apenas alguns dos que julgamos mais interessantes serão referidos. Aqui incluiremos a sobrevivência das brucelas em meios de cultura, em laticínios e em outros produtos de origem animal. Noutros materiais, a sobrevivência pode ser vista no quadro clássico de LUSTIG & VERNONI, transcrito no capítulo da Epidemiologia.

Com base nos trabalhos de SIGNORELLI e de MAZZETTI & TESI, organizamos um quadro comparativo da sensibilidade das brucelas a diversos agentes químicos, vista por vários pesquisadores.

<i>Agente químico</i>	<i>Concentração</i>	<i>Tempo em que se processou a morte</i>	<i>Autor</i>
Ácido clorídrico.....	5/1000	Menos de 1 hora	Tcherniak
Idem.....	1/1000	20 minutos	Fiorentini
Idem.....	1/2000	30 "	"
Ácido láctico.....	1/100	1 hora	Violle
Idem.....	5/1000	3 horas	"
Ácido salicílico.....	1/1000	10 minutos	Fiorentini
Idem.....	1/2500	20 "	"
Ácido sulfúrico	1/5000	10 "	"
Água oxigenada (130 volumes).....	2/1000 em leite	10 minutos a 2 horas	Satta e outros
Álcool etílico.....	70°-90°	Instantaneamente	Fiorentini
Idem.....	45°	10 minutos	"
Idem.....	20°	30 "	"
Bicloridrato de quinino	2/1000	10-20 minutos	"
Idem.....	1/1000	40 minutos	"
Carbonato de sódio	1/10	30 "	"
Idem.....	1/100	1 hora	"
Equinina hidro-alcoólica	1/1000	30 minutos	"
Idem.....	1/2000	50 "	"
Fenol.....	2,5/100	15 "	Tcherniak
Idem.....	1,25/100	3-4 dias	"
Idem.....	1/100	2 1/2 — 15 minutos	Eyre
Idem.....	5/1000	1 hora	"
Idem.....	1/5000	10 minutos	Fiorentini
Idem.....	1/10000	20 "	"
Formaldeído.....	2/100	15 "	Tcherniak

<i>Agente químico</i>	<i>Concentração</i>	<i>Tempo em que se processou a morte</i>	<i>Autor</i>
Idem.....	4/1000	2 1/2-3 1/2 horas	Violle, Neri
Glicerina.....	1/10	30 minutos	Fiorentini
Idem.....	1/50	90 "	"
Permanganato de potássio.....	1/5000	10 "	"
Idem.....	1/10000	20 "	"
Potassa cáustica....	1/1000	15 "	Tcherniak
Sublimado corrosivo	1/1000	15 "	"
Idem.....	5/10000	2 1/2 -- 15 minutos	Eyre
Idem.....	1/10000	Poucos minutos	Fiorentini
Idem.....	1/20000	15 minutos	"
Timol.....	1/1000-1/2500	20 "	"

PACHECO & COSTA observaram que culturas de *Br. melitensis* eram lisadas por 0,6 ml duma suspensão de mentol a 0,1% em caldo. Dos diversos germes patogênicos ensaiados, essa amostra de brucela foi a que se mostrou mais sensível à mentólise.

HUDDLESON constatou rápida inativação de brucelas das 3 espécies, em fases S e R, por beta-propiolactona, em concentração final de 0,1 a 0,15%. Essa lactona aumentava a ação bactericida do sangue e a atividade fagocitária de leucócitos.

HIPÓLITO & HUDDLESON realizaram importante trabalho com a finalidade de estudar o efeito estimulante ou inibitório de numerosos agentes químicos sobre o crescimento de colônias de *Br. abortus*. Utilizaram aminoácidos, vitaminas, hidratos de carbono, nucleoproteínas, purinas, pirimidinas, sais, ácidos e bases inorgânicas e outras substâncias. Revelaram-se estimuladores do crescimento: arginina, uracil, sangue lacado de coelho e sulfito de sódio. Mostraram-se inibidores: vitaminas K<sub>2</sub> e vitamina A.

MELLO & Cols. verificaram que soluções salinas tamponadas com fosfatos destruíam rapidamente amostra de *Br. abortus* em suspensão nas mesmas. A toxicidade da salina tamponada pareceu relacionada com a temperatura e o tempo de exposição dos germes. Temperaturas acima de 18°C por mais de 15 minutos foram nitidamente bactericidas. Os autores chamam a atenção para o fato, a fim de evitar os erros que poderiam advir, por exemplo, duma contagem bacteriana em que as brucelas fossem suspensas em salina tamponada. Para corrigir esse efeito, recomendam utilizar água peptonada, com a qual nenhuma diminuição no número de germes é observada, num período de duas horas, pelo menos, à mesma temperatura.

Água destilada, solução salina fisiológica e salina tamponada com fosfatos a pH 6.2 não foram consideradas bons diluidores para os trabalhos de respiração bacteriana efetuados por GERHARDT, segundo MELLO & Cols. Estes verificaram, ainda, que água destilada, salina não tamponada e soluções de Ringer, de Locke e de Tyrode não se mostravam melhores do que a salina tamponada, para a manutenção da viabilidade.

Interessante observação foi feita por BOYD & CASMAN, que verificaram a presença, no algodão comum, de uma substância inibidora do desenvolvimento de *Br. abortus*. Os autores haviam visto que um meio de

agar batata clarificado por centrifugação permitia melhor crescimento de brucelas do que um filtrado em algodão. A ação inibidora, conforme constatarem, devia-se a substâncias que podiam ser extraídas do algodão, as quais eram solúveis em água quente e em éter, depois de acidificação com ácido clorídrico, a pH 2,0. Numa concentração de 10 mg por litro de meio, essas substâncias, de natureza lipídica, inibiam completamente o crescimento das brucelas. A junção de amido ao meio neutralizava esse efeito.

*Corantes* — Os principais corantes que têm atividade sobre as brucelas foram estudados por HUDDLESON, VERNA & COLS. e CAMERON & MEYER.

VERNA & COLS. observaram a seguinte toxicidade, em ordem decrescente: azul brilhante de cresil, violeta de metila, verde Janus B, azul de metileno, verde de metila, cristal violeta, violeta de genciana, verde brilhante, castanho de Bismark, fucsina básica, verde de malaquita, tionina, vermelho neutro, vermelho congo, fucsina ácida, pironina, eosina B e eritrosina. As provas foram feitas, usando a técnica de discos de papel de filtro, sobre os quais depositavam 0,05 ml da solução do corante a examinar (1/100, 1/1000 e 1/10000).

CAMERON & MEYER examinaram comparativamente os efeitos de grupamentos químicos de corantes sobre o crescimento das 3 espécies de brucelas. Os corantes pertenciam aos seguintes grupos: quinonimidina (15 corantes), fenil-metana (11 corantes) e xanteno (9 corantes). Em alguns casos, as diferenças observadas permitiam a separação das espécies mas, de modo geral, a estrutura do corante, por si só, não era inteiramente responsável pelas variações de crescimento.

GARGANI verificou a atividade bactericida do azul de metileno para brucelas, quer em meios líquidos, quer em sólidos. Um meio de agar tripticase soja, ao qual foi juntado azul de metileno nas concentrações de 1/2500 a 1/40000, foi semeado com diversas amostras das 3 brucelas; em nenhuma delas nasceram os germes, enquanto que os mesmos meios, semeados com bacilo tífico, permitiram abundante desenvolvimento desta bactéria. A ação bactericida era diretamente proporcional à concentração do corante no meio e inversamente proporcional à quantidade de germes semeados.

*Ácidos aminados* — As propriedades tóxicas dos ácidos aminados têm sido investigadas com frequência. Inicialmente, por autores italianos, sobretudo DEL VECCHIO; depois, o assunto foi retomado por YAW & KAKAVAS, nos Estados Unidos. Foi pesquisada a toxicidade de alguns ácidos aminados racêmicos e outros, para três amostras de *Br. abortus*, incluindo a B-19. Chegaram à conclusão de que o crescimento das amostras em caldo Albimi é inibido em presença de ácidos aminados, em forma D, em concentrações inferiores às que são necessárias para as formas L apresentarem o mesmo efeito. A D-fenilalanina e a D-metionina foram os mais ativos na inibição. O efeito inibitório das formas DL era geral, tendo sido o ácido aminado menos ativo a DL-lisina. A ação era bactericida e bacteriostática. Os ácidos aminados usados nas

três formas (D, L e DL) foram os seguintes: valina, leucina, histidina, metionina e fenilalanina; somente na forma DL: treonina, isoleucina, triptofano, lisina e arginina.

*Compostos quinônicos* — Ao estudo dos efeitos dos compostos quinônicos, principalmente dos relacionados com a vitamina K, foi dada uma grande importância nos últimos anos, sobretudo quando DEL VECCHIO e seus colaboradores verificaram as possibilidades do seu emprego no tratamento da brucelose, conforme assinalam MAZZETTI & TESI. Embora o número de trabalhos tenha sido muito grande, parece ter sido firmado o conceito de que tais compostos não são eficazes, tanto na brucelose humana quanto na bovina, a julgar pelos resultados obtidos pelos pesquisadores argentinos com o mais importante deles, a antibrucelina (derivado sulfônico do 2-metil-6 oxi-1,4 naftoquinona, sal sódico). Para maiores detalhes, consultar os trabalhos de CRISCUOLO & Cols. e de JURADO & Cols., onde se encontra a bibliografia fundamental sobre o assunto, devidamente analisada e comparada com os resultados obtidos na Argentina. Também o trabalho de SERRA fornece indicações sobre os efeitos favoráveis obtidos no tratamento da brucelose bovina, contestados pelas experiências de JURADO & Cols.

A respeito de outras quinonas, LEMBKE & Cols., examinam sua atividade sobre diferentes germes, inclusive brucelas, comparando-a com os efeitos obtidos com a patulina.

*Ácido para-amino salicílico* — As observações com este composto devem-se a MACEDO, que examinou suas propriedades *in vitro* sobre brucelas das 3 espécies. *Br. melitensis* apresentou, comparativamente, maior sensibilidade ao sal sódico do APAS do que as outras duas espécies. A inibição total de todas as amostras, em agar fígado, foi obtida a partir de 6-8 mg/ml de meio, sendo bactericida, em caldo fígado, de 7-20 mg/ml de meio. O processo usual para dosagem dos antibió-

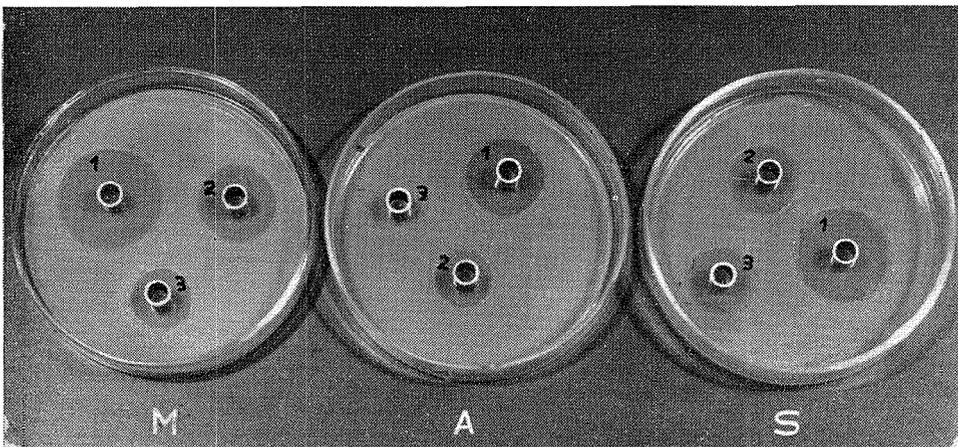


Fig. 35 — Inibição do crescimento das 3 espécies de brucelas em placa de gelose fígado, pelo ácido para-amino salicílico. Método dos cilindros. 1-40mg; 2-20mg; 3-10mg. Segundo MACEDO.

ticos, em placas de gelose com cilindros, serve também como método prático para evidenciação da atividade inibidora do sal sódico do APAS sôbre o crescimento das brucelas (Fig. 35). Uma observação interessante foi a de que em doses sub-bacteriostáticas apareciam colônias gigantes nos meios (Figs. 36, 37).

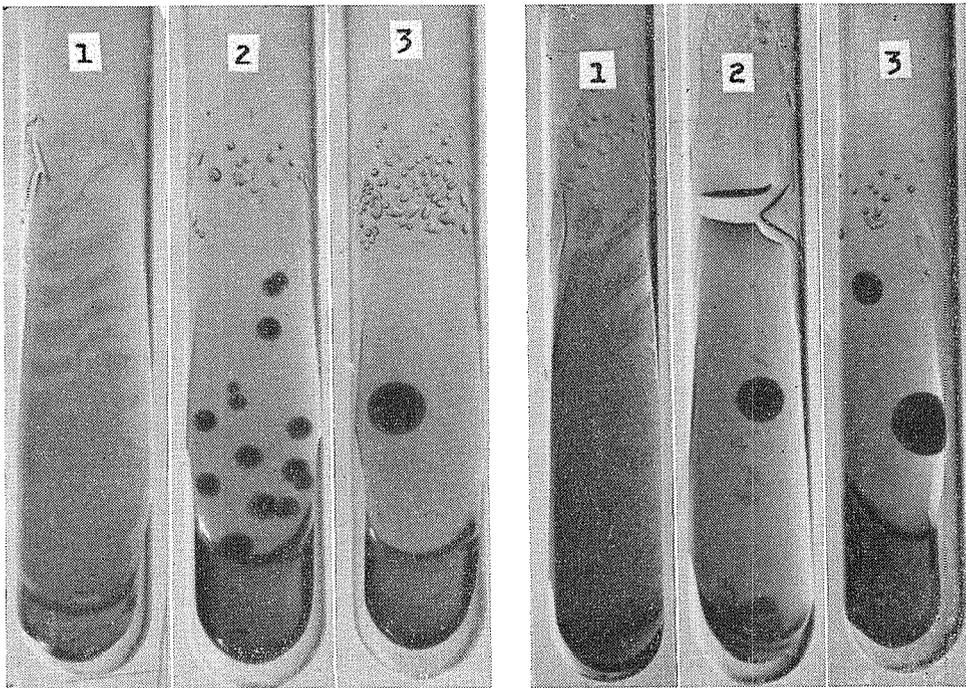


Fig. 36 — Colônias gigantes de brucelas, pelo efeito do ácido para-amino salicílico. 1-*Br. abortus*; 2-*Br. suis*; 3-*Br. melitensis*. Segundo MACEDO.

Fig. 37 — Colônias gigantes de brucelas, pelo efeito do ácido para-amino salicílico. 1 e 2: *Br. melitensis*; 3 — *Br. abortus*. Segundo MACEDO.

*Ácido para-amino benzóico* — COTTON & SWOFFE, em 1948, observaram que as 3 espécies de brucelas eram completamente inibidas, em agar triptose, por 2 mg de ácido p-amino benzóico ou vitamina H<sub>1</sub>, por ml de meio. Em meio líquido, o sal sódico apresentou maior atividade bactericida sôbre *Br. melitensis* do que sôbre as outras duas espécies.

*Ácido caféico* — TERNI e seus colaboradores, segundo MAZZETTI & TESI, verificaram a sensibilidade de *Br. abortus* e *Br. melitensis* ao ácido caféico, na dose de 3 mg por ml de meio.

*BAL* — Com a abreviação de BAL é conhecido o 2,3-dimercaptopropanol ou “British Anti-Lewisite”. Experiências para demonstrar seus efeitos sôbre vários germes foram efetuadas por HARDING & RALEIGH, em 1950; diversas amostras de brucelas revelaram-se sensíveis a doses

que variam de  $1 \times 10^{-5}$  a  $97 \times 10^{-5}$  mg/ml de meio, sendo as culturas incubadas durante 48 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . A presença de 10% de plasma bovino praticamente não alterou a atividade do BAL.

Tomando por base esse trabalho, RENOUX & ROUX procuraram verificar não só a ação bacteriostática do BAL sobre numerosas amostras de brucelas como também, a possível sinergia com a cloromicetina e a aureomicina. A concentração inibitória, em caldo fígado variou de 0,32 a 8 microgramas por ml de meio, em 48 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . A sinergia entre o BAL e os antibióticos experimentados foi impressionante: enquanto cada antibiótico, isoladamente, em determinadas concentrações, mostrava-se bacteriostático durante 48 horas, a junção do BAL determinava um prolongamento da inibição durante 6 dias (Fig. 38).

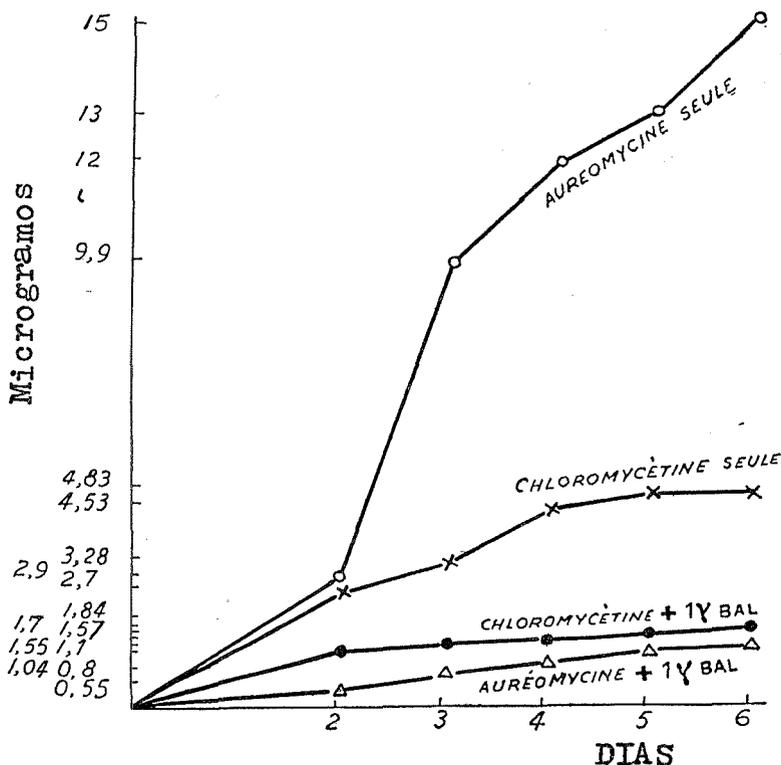


Fig. 38 — Sinergia de BAL e aureomicina ou cloromicetina (médias obtidas com 8 amostras de brucelas). Segundo RENOUX & ROUX.

**Sulfas** — Desde o aparecimento das sulfas, têm sido estas experimentadas *in vivo* e *in vitro* na brucelose. Os resultados, embora importantes *in vitro*, não tiveram a mesma correspondência *in vivo*, se bem que os enfêrmos ou os animais infectados experimentalmente apresentassem alguma melhora. HUDDLESON procurou aumentar a ação da sulfadiazina, associando-a, primeiramente, a um sistema anticorpo-complemento e, depois, à gama-globulina.

*Outros compostos* — Numerosíssimos compostos químicos têm sido utilizados em experimentações com brucelas mas, não apresentando êles maior interêsse, pelo menos até o presente momento, como as tiosemi-carbasonas do ácido salicílico (COSTA & LODDO), a 4-mercapto-benzeno-sulfonamida (GIULIANO & GIUSEPPE), não serão revistos.

*Antibióticos* — De todos os compostos químicos últimamente experimentados, convém salientar os antibióticos, pela sua evidente importância na clínica da brucelose.

A sensibilidade das brucelas aos antibióticos tem sido vista em trabalhos tão numerosos que não é possível analisá-los; muitos foram feitos com finalidades diversas. No capítulo do tratamento, veremos os agentes anti-bacterianos que podem ser utilizados na terapêutica da doença.

Em todos os países, os laboratórios, tendo em vista não ter sido ainda descoberto um antibiótico ou outro medicamento de eficácia completa na infecção, desenvolvem pesquisas e aperfeiçoam técnicas

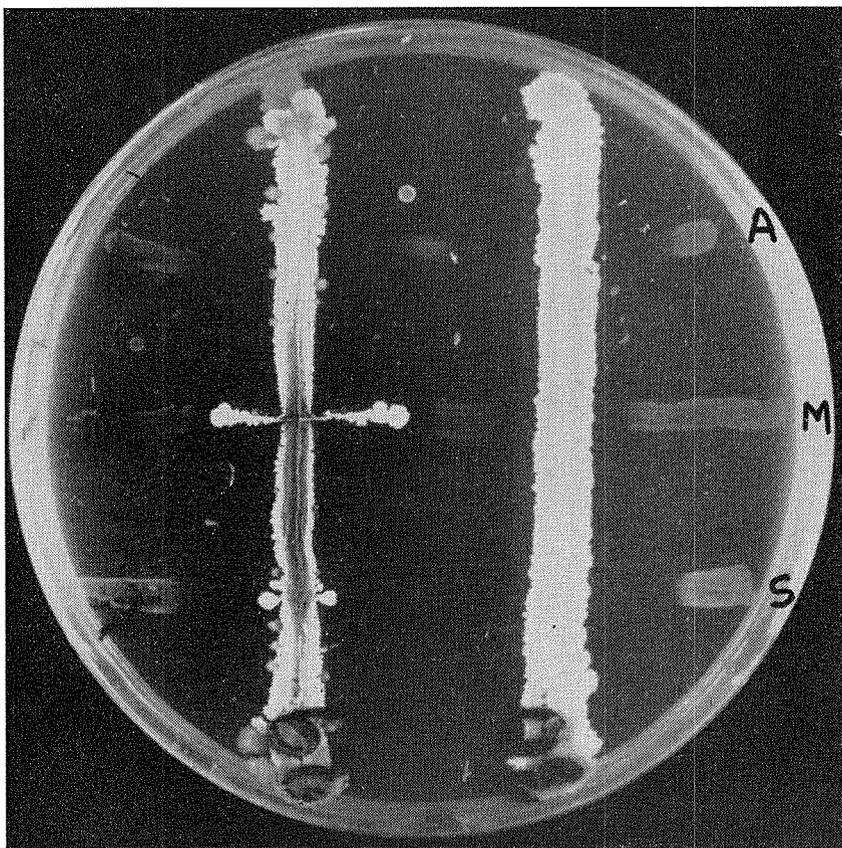


Fig. 39 — Impediência de *Br. abortus*, *Br. melitensis* e *Br. suis* por duas amostras de bacilos Gram positivos: uma isolada de água de bromélias do Paraná (n.º 29) e outra isolada de contaminação no laboratório (n.º 30). Original.

no sentido de isolar e testar substâncias cuja atividade inibitória sobre as brucelas tenha sido verificada. É interessante notar que essa atividade bactericida ou bacteriostática, muitas vezes, descoberta ocasionalmente, nem sempre é confirmada por experiências mais detalhadas; freqüentemente, quando se isola o micro-organismo, não se consegue extrair da cultura o antibiótico responsável. Assim, por exemplo, PACHECO & THIAGO DE MELLO tiveram oportunidade de observar intensa inibição das três espécies de brucelas por bacilos gram positivos esporulados, de diversas procedências (Figs. 39, 40), mas os estudos preliminares feitos não foram coroados de êxito na parte relativa à extração da substância antibiótica.

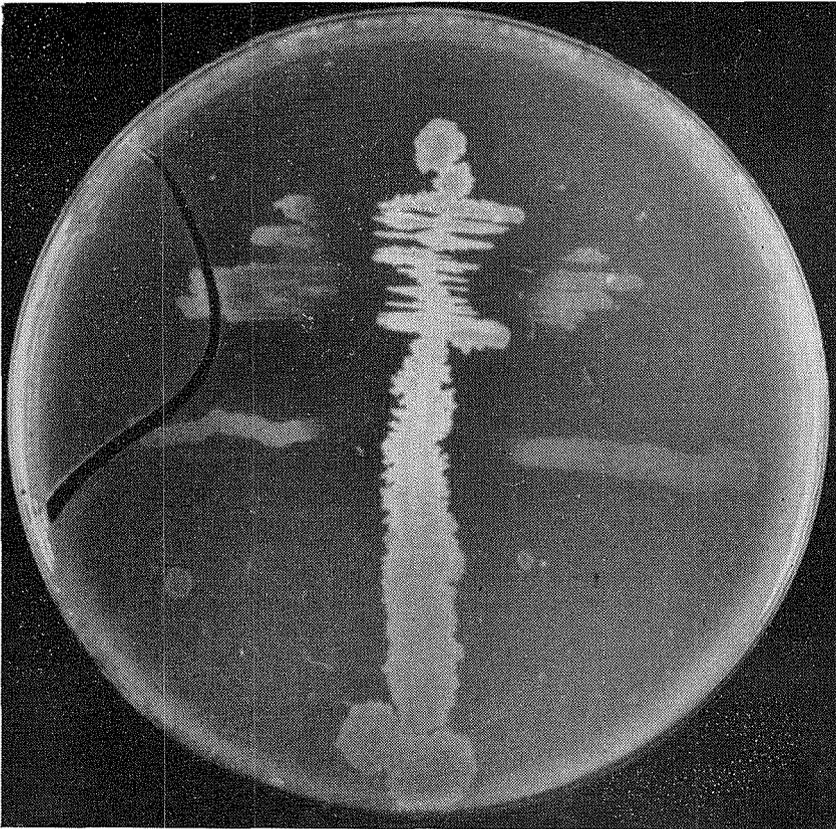


Fig. 40 — Impediência de *Br. melitensis* por bacilo Gram positivo. Cultivo de 48 horas. Original.

Do mesmo modo é comum ser isolado o antibiótico que *in vitro* inibe o desenvolvimento de brucela mas que aplicado, *in vivo*, após ter sido concentrado, não fornece os resultados esperados.

Levando em consideração os fatos apontados e a quase impossibilidade de rever todos os trabalhos sobre o assunto, citaremos apenas

dados sobre a sensibilidade das brucelas a diversos antibióticos, principalmente os mais importantes, sob a forma de tabela simplificada. Maiores detalhes deverão ser colhidos nos trabalhos dos autores referidos na tabela.

*Sensibilidade de Brucelas a diversos antibióticos*

Antibiótico	<i>Brucella</i>	Meio de cultura	Concentração inibitória micrograma/ml	Autor
Actinomicina	<i>abortus</i>	agar	10.0	Waksman & Woouruff
	»	»	10.0 : halo 25-27 mm diâm.	Negri & Ravaoli
	»	»	1.0 : » 11-19 » »	» »
	<i>melitensis</i>	»	10.0 : » 20 mm diâm.	» »
	»	»	1.0 : » 11 » »	» »
	<i>suis</i>	»	10.0 : » 28 » »	» »
	»	»	1.0 : » 20 » »	» »
	12 amostras <i>melitensis</i>	Caldo tripticase-soja	0.15 (mínimo); 1.0 (média)	Felsenfeld & Cols.
	10 <i>abortus</i> -61 <i>melitensis</i>	» triptose	0.5-1 (2 ds)	Sicca
	22 <i>abortus</i>	agar	0.5-1	Terni & Tesi
	2 <i>melitensis</i>	»	0.4	Lacy & Lankford
	2 <i>suis</i>	»	0.1	» »
	45 amostras	agar-figado	0.06	» »
Aureomicina	2 <i>abortus</i>	»	0.5-1.0 (2 ds)	Molinelli & Cols.
	<i>melitensis</i>	» »	4.0 (2 ds)	» »
	<i>abortus</i>	caldo	0.6-10.0 (2 ds)	Renoux & Roux
	<i>melitensis</i>	»	0.3-10.0 (2 ds)	» »
	<i>abortus</i>	agar	100.0 : halo 1.74 mm espessura	Scanga
	<i>abortus</i>	»	100.0 : » 2.82 » »	» »
	<i>suis</i>	»	100.0 : » 3.90 » »	» »
	<i>abortus-melitensis</i>	»	1.6 (3 ds)	Cruickshank
	<i>suis</i>	»	<0.1 (3 ds)	» »
	25 amostras <i>suis</i>	caldo	0.6-1.5	Yow & Spink
	<i>abortus</i>	»	6.2	Knight & Cols.
	<i>melitensis</i>	»	12.5	» »
	<i>suis</i>	»	3.1-6.2	» »
	<i>abortus</i>	agar	0.25-1.0 (2-3 ds)	Bryer & Cols.
	»	»	0.25-2.0 (2-3 ds)	» »
	<i>melitensis-abortus</i>	»	10.0 : halo 6 mm diâm.	Negri & Ravaoli
Bacitracina	<i>suis</i>	»	10.0 : » 8 » »	» »
	»	»	1.0 : » 6 » »	» »
	<i>melitensis</i>	caldo	< 10 un/ml	Yow & Spink
	<i>abortus</i>	agar	10.0 : halo 26 mm diâm.	Negri & Ravaoli
	»	»	1.0 : » 11 » »	» »
	<i>melitensis</i>	»	10.0 : » 21 » »	» »
	»	»	1.0 : » 8 » »	» »
	<i>suis</i>	»	10.0 : » 30 » »	» »
	»	»	1.0 : » 13 » »	» »
	12 amostras <i>melitensis</i>	Caldo tripticase-soja	0.21 (mínima); 1.2 (média)	Felsenfeld & Cols.
	25 amostras	Caldo tripticase	4-8 (2 ds)	Sicca
	1 <i>suis</i> — 3 <i>abortus</i>	»	1.56-6.25	Yow & Spink
	<i>abortus</i>	»	0.78-2.4	Woodward & Cols.
	<i>melitensis</i>	»	2.0	Smith & Cols.
	<i>suis</i>	»	0.5	» »
	<i>melitensis</i>	caldo	0.5	» »
	<i>abortus</i>	»	1.25-5 (2 ds)	Renoux & Roux
	»	»	0.6-2.5 (2 ds)	» »
	»	»	2.0	Erich & Cols.
	<i>melitensis</i>	»	1.6-3.1 (3 ds)	Knight & Cols.
	<i>abortus</i>	»	1.6 (3 ds)	» »
	<i>suis</i>	»	3.1 (3 ds)	» »
Endomicina	<i>abortus</i>	»	1-5un/ml	Gottlieb & Cols.
	<i>abortus</i>	agar-sangue	10.0	Heilman & Cols.
	<i>suis</i>	» »	0.3-0.6	» »
	<i>melitensis</i>	» »	0.3	» »
	<i>melitensis-suis</i>	» »	<2.0	McGuire & Cols.
Eritromicina (Iloticina)	<i>abortus</i>	» »	20.0	» »
	<i>melitensis-abortus-suis</i>	Caldo triptose	0.03 (5-6ds)	Leon & Cano
	<i>melitensis-abortus</i>	»	1.56	Sanchez & Cols.

Antibiótico	<i>Brucella</i>	Meio de cultura	Concentração inibitória micrograma/ml	Autor
Estreptomicina	<i>abortus</i>	agar	10.0 halo 27-28 mm diâm.	Negri & Ravaoli
	»	»	1.0 » 16-20 » »	» »
	<i>melitensis</i>	»	10.0 » 24 » »	» »
	»	»	1.0 » 12 » »	» »
	<i>suis</i>	»	10.0 » 28 » »	» »
	»	»	1.0 » 18 » »	» »
	12 amostras	Caldo tripticase-soja	2.5 (mínimo); 2.0 (média)	Felsenfeld & Cols.
	<i>abortus</i>	agar	0.5-3.75	Reimann; Heilman
	»	caldo	5.0	Waksman & Woodruff
	<i>suis</i>	caldo	1.56	Maral
	»	caldo	0.5	Reimann
	<i>melitensis</i>	caldo	0.19	Maral
»	caldo	0.5	Slavin	
<i>abortus</i>	caldo	0.39	Maral	
<i>melitensis</i>	caldo	0.5-4.0	Murray & Cols.	
<i>suis</i>	caldo	0.5-2.0	» »	
25 amostras	caldo	0.5-3.0	» »	
			1.0-2.5	Yow & Spink
Eurimicina	<i>melitensis-abortus-suis</i>		0.25-1.12 (2 ds)	Lima & Cols.
Gliotoxina	<i>abortus</i>	agar	10.0	Waksman & Woodruff
Gramicidina	»	»	100.0	» »
Luteomicina			<1.0	Hata & Cols.
Micoína	<i>abortus</i> (72%)	caldo	5.0 (1 d)	Thiago de Mello
	<i>suis</i> (27%)	»	5.0 (1 d)	» » »
	<i>abortus</i> (75%)	»	20.0 (4ds)	» » »
	<i>melitensis</i> (75%)	»	20.0 (4 ds)	» » »
	<i>suis</i> (5%)	»	20.0 (4 ds)	» » »
Micoína C	<i>melitensis</i>	»	9.34 (1 d)	Martin-Dupont
Micoína C3	<i>abortus</i>	»	5.0 (4 ds)	Kernel & Cols.
Neomicina	12 amostras	Caldo tripticase-soja	0.62 un/ml (mín.) 4.0 (méd.)	Felsenfeld & Cols.
Patulina	<i>abortus</i> (1.7×10 <sup>6</sup> )	caldo	0.8 (1 d)	Lembke & Cols.
Penicilina	<i>abortus</i> (1×10 <sup>6</sup> )	caldo	3.2 (1 d)	« » »
	<i>suis</i> (semcad. abund.)	agar-triptose	6.25 un/ml	Bunnell & Cols.
	<i>suis</i> (somead. escassa)	» »	0.625 un/ml	» » »
	<i>abortus</i>	agar	<0.1ml/10 ml	Waksman & Woodruff
Penicilina bruta	8 <i>abortus</i> -1 <i>suis</i>	caldo	5-31 un/ml	Yow & Spink
Penicilina amorfa	8 » »	»	1-62 un/ml	» »
Penicilina G	8 » »	»	» »	» »
Piocianase	<i>abortus</i>	agar	10.0	Waksman & Woodruff
Polimixina B (aerosporina)	8 amostras	caldo	0.6-12.0; média: 4.1	Fulaski & Rosenberg
Polimixina D	12 amostras	Caldo tripticase-soja	0.15 un/ml (mín.); 1.1 (méd.)	Felsenfeld & Cols.
Q-19	<i>abortus</i>	caldo	62.3 un/ml	Yow & Spink
	<i>melitensis-suis</i>	»	125 un/ml	» »
Terramicina	<i>melitensis-abortus</i>	agar	10.0 halo 30 mm diâm. (1 d)	Negri & Ravaoli
	<i>abortus</i>	»	1.0 » 16 » » (1 d)	» » »
	<i>melitensis</i>	»	1.0 » 15 » » (1 d)	» » »
	<i>suis</i>	»	10.0 » 35 » » (1 d)	» » »
	»	»	1.0 » 24 » » (1 d)	» » »
	<i>melitensis</i>	Caldo triptose	0.5-2.0 (2 ds)	Sica
	<i>abortus</i> (10%)	caldo	5.0 (4 ds)	Thiago de Mello
	<i>melitensis</i> (25%)	»	5.0 (4 ds)	» » »
	<i>suis</i> (97.0%)	»	5.0 (4 ds)	» » »
	<i>abortus</i>	»	25-100.0	Criscuolo & Cols.
	<i>suis</i>	»	10-25.0	» » »
	<i>melitensis</i>	»	2-10.0	» » »
<i>melitensis-suis</i>	»	0.4 (3 ds)	Knight & Cols.	
<i>abortus</i>	»	1.6 (3 ds)	» »	
Tiomicetina	<i>melitensis-abortus-suis</i>		1.6-2.5	Feinsilver
Tirotricina	15 amostras	caldo	100-400.0	Pacheco & Thiago de Mello

Outro aspecto interessante do estudo dos antibióticos é o da resistência das brucelas a alguns deles. Para muitos germes, o reconhecimento de sua resistência aos antibióticos já está constituindo um inesperado problema de saúde pública; entretanto, para as brucelas, as pesquisas não são muito numerosas o que deve ser levado em conta, sobretudo, à relativa dificuldade no estudo desse grupo de bactérias. Todavia, uma observação de grande interesse foi feita quase simultaneamente em Israel e na Califórnia. Encontraram-se amostras de brucelas que não só ficaram resistentes à estreptomomicina como, ainda mais, passaram a exigir o antibiótico na sua nutrição.

OLITZKI & SZENBERG, no decurso de estudos sobre mutantes resistentes à estreptomomicina, cultivaram colônias de *Br. abortus* em caldo, contendo 0,01% do antibiótico. Numa das culturas, algumas mutantes que sobreviveram à exposição a esta quantidade de estreptomomicina, cresceram melhor nesta concentração do que a 0,001% e 0,0001%; elas continuaram sendo cultivadas em caldo contendo 0,01% de estreptomomicina e foram perdendo gradualmente sua capacidade de crescer em concentrações menores; acabaram tornando-se dependentes dela. Resultados semelhantes foram obtidos por ELBERG e seus colaboradores, com amostra de *Br. melitensis* que conservava suas características bioquímicas e antigênicas; ainda mais, à semelhança do que observaram OLITZKI & SZENBERG, podia determinar certa proteção em camundongos, cobaias e macacos "rhesus", contra a infecção experimental com *Br. melitensis* virulenta (ELBERG & Cols.; HERZBERG & Cols.).

*Extratos de plantas* — A ação de extratos de certas plantas sobre brucelas tem sido experimentada.

É interessante assinalar que no trabalho clássico de EYRE encontram-se referências a um fungo que seria eficiente no tratamento da febre que grassava na ilha de Malta. No livro de MICHELIO, publicado em 1729, é citado que tal espécie vegetal, por muito tempo considerada um fungo (por nascer sobre raízes de outras plantas e assemelhar-se aos cogumelos basidiomicetos), possuía as mesmas virtudes, porém mais acentuadas que aquelas que GALENO, no livro 6.º dos "medicamentos simples", e DIOSCORIDES, no livro 1.º, capítulo 108, referem, acerca da "hipocist", podendo ser substituída uma pela outra, nos usos médicos.

Outra planta, empregada em certos países da Europa, é a "pilosela" (*Hieracium pilosella* L.), da família das Compostas. Segundo GREIB & DUQUÉNOIS, já no século XVI, o suco obtido por expressão dessa planta era receitado, na Alemanha, contra a febre quartã; mais recentemente, fôra empregada, de modo empírico, sob a forma de decoto, por GUÉRIN, em 12 casos de brucelose, sendo curados 4; três outros, depois de novo surto febril, recuperaram-se, restando 5 sem melhoras aparentes; outros médicos franceses empregaram o mesmo vegetal no tratamento da brucelose. Por este motivo, GREIB & DUQUÉNOIS procuraram estudá-la melhor e verificaram que a ação antibrucelosa devia-se a uma fração cristalizável, que chamaram provisoriamente de piloselina e que podia ser identificada à hidroxicumarina ou ombeliferona; sob o ponto de vista fitoquímico, este composto, freqüente nas Ombelíferas,

havia sido isolado antes, de algumas plantas da família das Compostas, principalmente *Matricaria chamomilla* L. A atividade antibiótica da ombeliferona sintética é igual à da piloselina natural sendo, portanto, muito interessante o exame da série das hidroxil-7-cumarinas, no tratamento da brucelose. A ombeliferona diluída a 1/2500 inibiu completamente *Br. melitensis* e *Br. abortus* durante 48 horas. GREIB tem preparado pílulas que ensaiou no tratamento da brucelose humana, com bom êxito, segundo êle.

Um outro vegetal que tem sido experimentado *in vitro* e *in vivo* na brucelose é o alho. Simultaneamente na Argentina e no Brasil, em 1948, fizeram-se experiências com extratos de alho, purificados ou não. PACHECO & THIAGO DE MELLO, trabalhando com o "antibiótico" garlicina, preparado em São Paulo, verificaram que o mesmo era extremamente ativo contra as 3 espécies de brucelas *in vitro*; em duas séries de experiências, 10 e 35 amostras de brucelas foram totalmente inibidas nas concentrações de 0,03 e 0,1 unidades por ml de meio, utilizando respectivamente duas amostras de garlicina; essas concentrações correspondiam, em peso, a 0,25 microgramas e 500 microgramas por ml de meio. Três amostras de brucelas foram totalmente inibidas em seu desenvolvimento com 0,01 un/ml ou sejam, aproximadamente 0,075 microgramas/ml, o que denota a enorme atividade desse antibiótico que deveria ter tido sua eficácia terapêutica na brucelose humana convenientemente avaliada.

Na Argentina, ROSSI & CEDRO experimentaram extratos de alho purificado. Desde 1946, ROSSI fazia estudos com um extrato hidroalcoólico de alho, verificando não só bacteriostase como bacteriólise. O sulfureto de alila, um dos constituintes da essência de alho, preparado sinteticamente, produziu melhores resultados.

Recentemente, SIGRIST fez extratos de vários tipos, de 65 plantas, testando-os em diluições de 0,01 a 5%, utilizando diversos germes, inclusive *Br. melitensis*. Não foram fornecidos detalhes sobre os resultados, entretanto.

#### *Viabilidade em meios de cultura e alimentos*

Noutros tópicos, principalmente na epidemiologia, tem sido assinalada a viabilidade das brucelas em diversos materiais, sobretudo nos alimentos. Aqui faremos breve referência aos meios de cultura e lactínios.

A viabilidade das brucelas em diferentes meios de culturas tem sido investigada desde há muito tempo. ELBERG & GLASSMAN procuraram observá-la em meios líquidos, utilizando *Br. suis*. Culturas em caldo, estabilizadas pela presença de dextrina e mais ácido ascórbico, mantinham o número inicial de células viáveis, depois de conservação a 20°-25°C, durante 2 meses; a mesma cultura, estabilizada apenas com dextrina e conservada às mesmas temperaturas, durante 175 dias, manteve 25% do número inicial de células viáveis e 100% de sua virulência.

Já a Comissão Inglesa verificara que *Br. melitensis* pode conservar-se durante 280-313 dias em agar simples, 205-293 dias em caldo de

Löffler e 200-250 em agar adicionado de diferentes açúcares. MONTE-MAGNO, segundo MAZZETTI & TESI, observou sobrevivência de *Br. melitensis* em meio de cultura, durante 489 dias.

Em nosso laboratório, amostras de coleção, conservadas em Lignières-ascite ou Lignières-sôro normal, têm sido repicadas até com 3 anos, desde que sejam conservadas sob óleo de parafina.

*Lacticínios e outros produtos de origem animal* — Em virtude da excreção de brucelas pelo leite dos animais infectados, a pesquisa da viabilidade destas bactérias em lacticínios tem sido largamente feita. No leite acidificado, as brucelas morrem com rapidez, o que também ocorre no queijo e na manteiga, segundo CASTAÑEDA. Contudo, outras verificações não permitiram confirmar êsse conceito otimista e, mesmo que isto ocorresse, bastariam poucos dias de sobrevivência do germe nos lacticínios, para possibilitar a infecção humana.

MAZZETTI & TESI referem muitas das observações feitas a respeito da viabilidade das brucelas em lacticínios. CANNATA observou sobrevivência das mesmas no leite estéril, durante 278 dias, enquanto ALESSANDRINI, cultivando-as, também, em leite esterilizado e mantendo a cultura em tubo fechado, encontrou-as vivas ao fim de 18 meses. A fermentação láctea reduziria, contudo, a sobrevivência no leite e no queijo para 2 dias apenas, segundo MAZÉ & CESARI mas, para BALSAMELLI, os germes durariam até 19 dias no leite não esterilizado e 22-23 dias em leite esterilizado, adicionado de estreptococo. Na manteiga, DONZELLO verificou que as brucelas podem viver até 25 dias e no queijo fresco, a 15°-20°C, nada menos de 44 dias, se os germes são inicialmente muito numerosos, e 2 semanas, quando são escassos. Experiências de PERINI mostraram que se a manteiga é contaminada superficialmente com brucelas, os germes conservam-se vivos por 10 dias, mas se a contaminação artificial é feita no meio da massa do lacticínio, as brucelas sobrevivem apenas durante 3 dias.

GILMAN & Cols. fizeram, nos Estados Unidos, uma série de pesquisas, focalizando a permanência das brucelas em vários lacticínios, principalmente queijo de vários tipos. Os queijos preparados com leite procedente de vacas infectadas, eliminando cerca de 500 germes por ml, ao qual foram adicionadas mais 1000 brucelas por ml de leite, mantiveram os germes vivos durante 6 meses, quando conservados a 4°C; ao fim de 1 ano, contudo, as brucelas haviam morrido. Já os queijos encontrados no comércio não apresentavam brucelas, embora feitos com leite de rebanhos contaminados. A cura do queijo por mais de 60 dias constituía uma segurança para a confirmação da ausência de brucelas no mesmo. Noutro trabalho, GILMAN & MARQUARDT encarecem a necessidade de ser o leite destinado à manufatura de queijos, convenientemente pasteurizado, já que as fases do fabrico não são suficientes para eliminar as brucelas.

Os pesquisadores italianos, em trabalhos recentes com relação aos queijos originados de leite caprino contaminado, determinam ainda a sua importância na veiculação de brucelas. GARGANI, por exemplo, examina a questão sob o ponto de vista das maneiras pelas quais se

preparam tais produtos lácteos. A técnica é complicada, envolve aquecimento a 38°-42°C, coagulação, salga periódica e cura prolongada. Por meio de inoculação em cobaias, de suspensões de queijos, após 15, 30 e 60 dias de preparo, encontrou em todos os animais a produção de aglutininas e a presença de brucelas na autópsia. Ao fim de 3 meses, contudo, de nenhum animal foi possível isolar o germe ou constatar aglutininas. Conclui GARGANI dizendo que as brucelas, nos queijos tipo italiano, sobrevivem, certamente, durante 2 meses mas não são encontradas essas bactérias vivas após 3 meses.

HARRIS cita o caso dum médico que morreu em conseqüência de haver se infectado com *Br. melitensis* veiculada pela ingestão de queijo parmezão feito com leite de cabras brucelosas e do qual se isolaram brucelas.

A viabilidade de brucelas em outros produtos de origem animal, também, tem sido pesquisada mas vamos referir, apenas, pela sua importância, as observações de HUTCHINGS & Cols. que encontraram *Br. melitensis* em presuntos feitos com carne de porcos naturalmente infectados. Nas carcassas destes animais, refrigeradas, sabia-se que as brucelas mantinham-se vivas por mais de 21 dias e HUDDLESON & Cols. haviam, em alguns casos, isolado essas bactérias de baços de porcos mantidos em salmoura até durante 40 dias. HUTCHINGS & Cols. fizeram culturas de diversos pontos das carcassas de 11 porcos, naturalmente infectados por *Br. melitensis*, verificando a larga disseminação dos germes no organismo. Depois dos quartos dos porcos terem sido submetidos ao processo comum de salmoura, seguido de defumação, as brucelas ainda foram isoladas dos presuntos (até 21 dias de conservação na salmoura) mas não o foram após a defumação.

---

## N — PATOGENICIDADE

A ação patogênica das brucelas tem sido estudada sob diversos aspectos, sobretudo tendo em vista a infecção experimental e a distinção específica, o que é examinado no tópico de diferenciação entre as espécies, apenas com referência à cobaia, o animal que mais se presta para tais trabalhos (Fig. 41).

### *Virulência*

A virulência das espécies depende, em primeiro lugar, da fase em que se encontra o germe: lisa, rugosa, mucosa ou intermediária; em segundo lugar, da espécie de brucela e, em terceiro, da espécie animal considerada. Um outro fator foi assinalado, recentemente, por WARING & Cols.; amostras de *Br. suis*, deficientes em ferro e quase sem catalase, mostraram maior poder invasor e multiplicação mais rápida, em camundongos e cobaias.

Diferentes provas para determinar a virulência das brucelas têm sido propostas, variando os animais, e com o auxílio ou não de substân-

cias adjuvantes. Uma das mais comuns consiste em inocular em diversas cobaias, por via subcutânea ou intraperitoneal, quantidades crescentes de brucelas, de cultivo recente, examinando periodicamente o sangue dos animais, para determinar a presença de aglutininas ou dos germes; no fim de prazos variáveis, sacrificar as cobaias e pesquisar as brucelas no organismo das mesmas.

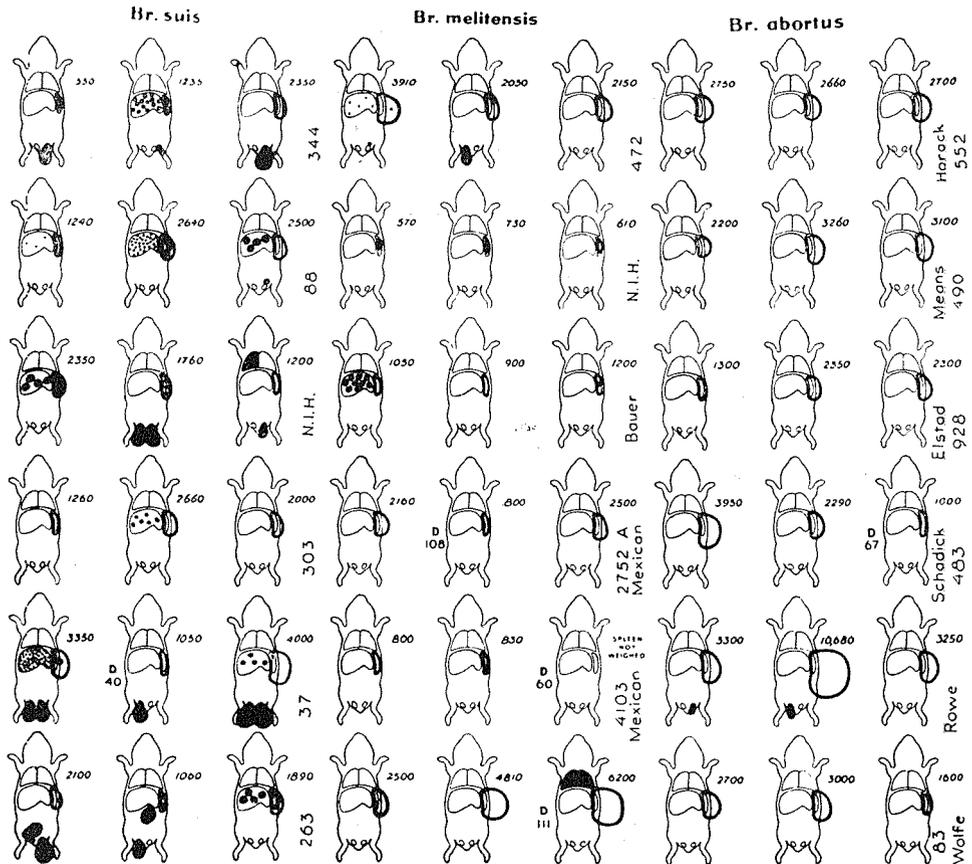


Fig. 41 — Alterações macroscópicas em cobaias, inoculadas 130 dias antes com amostras de *Br. suis*, *Br. melitensis* e *Br. abortus* (3 cobaias para cada). Indicações fornecidas: pneumonia, artrites, peso do baço (n.º em miligramas), esplenomegalia, abscessos esplênicos e hepáticos, hepatomegalia, morte (D = 40 dias, etc.), abscessos nos testículos e no epidídimo. Segundo BRAUDE.

MAZZETTI estabeleceu um método para a determinação da virulência de brucelas, que consiste em inocular a amostra suspeita em cobaias; brucelas virulentas multiplicam-se rapidamente no corpo dos animais e observa-se um aumento dos germes na corrente circulatória, até a morte da cobaia. A persistência das bactérias no sangue está em relação direta com a capacidade de sobrevivência dos animais inoculados; pelo comportamento da septicemia, pode julgar-se da resistência do animal à inoculação. A técnica melhor consiste em injetar intraveno-

samente uma suspensão bacteriana e determinar, ao fim de alguns dias, o curso da septicemia (preferir a via venosa à cardíaca). A quantidade de germes inoculados deve ser suficiente para permitir sua contagem 24 horas depois; por exemplo, 8 bilhões por ml para cobaias de 300 a 400 gramas. As amostras S virulentas persistem na corrente circulatória por mais tempo e em maior número do que as em fase R.

Também podem ser utilizados embriões de pinto, de 7 dias, inoculados no saco vitelino, conforme propuseram DEVERELL & KAKAVAS; com essa técnica, pôde ser observado que uma única célula microbiana da amostra de *Br. abortus* n.º 2308 é capaz de matar o embrião. *Br. abortus* adaptada à D-valina parece ter virulência diminuída.

### *Toxicidade*

A virulência das brucelas está ligada à toxicidade das mesmas. Embora seja admitido, geralmente, que as brucelas não possuem exotoxinas, MINÓPRIO refere que já foi descrita uma exotoxina ou toxina, difundida através da cápsula do germe, de poder neurotóxico e que seria a causadora das formas de neuro-brucelose.

Quanto à endotoxina, numerosos trabalhos existem a respeito, salientando-se os de HUDDLESON e seus colaboradores, principalmente PENNELL. Têm sido mais estudados os antígenos completos, tipo Boivin. Os efeitos dessas endotoxinas não diferem muito dos que se obtêm com as de outros germes.

Entretanto, a inoculação das mesmas produz lesões que bastante se assemelham às verificadas na infecção (granulomas, etc.).

Experiências recentes, feitas por PACHECO & Cols., permitem supor que tanto "exotoxinas" quanto endotoxinas são capazes de provocar alterações no sistema nervoso central de camundongos. Filtrados de culturas e extratos obtidos após desintegração dos germes (congelamento e descongelamento) injetados por via venosa ou peritoneal, produziram lesões semelhantes às observadas nas infecções experimentais e naturais (Figs. 80, 81). Já em 1914, pela injeção de brucelas mortas, por via cerebral ou venosa, NUNNO verificara lesões análogas, em coelhos (Fig. 79).

### *Infecção natural*

Tôdas as espécies animais domésticas têm sido vistas infectadas naturalmente, inclusive as de laboratório. Entre as espécies silvestres, também a infecção se constata, assim como nas selvagens. Até em animais de sangue frio tem sido encontrada a infecção.

*Nenhuma doença apresenta maior espectro de infecciosidade do que a brucelose, nem mesmo a tuberculose.*

Seria desnecessário referir as numerosas pesquisas em abono das afirmações anteriores. Para um início de informações, podem ser consultados os trabalhos de TOPLEY & WILSON, BERTHELON e outros. Na presente monografia, o capítulo da brucelose animal apresenta um resumo do assunto sob os aspectos mais importantes.

A infecção natural do homem constitui, justamente, um dos objetivos desta monografia, dispensando, assim, qualquer comentário neste tópico.

Apenas, como lembrança, convém repetir que qualquer das espécies de brucelas pode infectar tanto o homem quanto os animais domésticos, porém é mais freqüente que a *Br. melitensis* infecte a cabra e o carneiro, a *Br. suis* os porcos e a *Br. abortus* os bovinos.

#### *Infecção experimental*

Eis outro assunto que, pela sua extensão e pelo seu interêsse prático, deverá ser discutido com alguns detalhes.

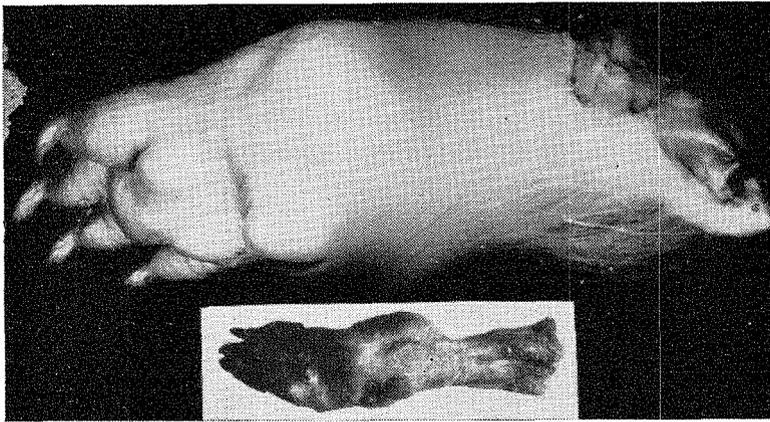


Fig. 42 — Brucelose experimental em cobaia. Em cima, infecção por *Br. suis*; original. Em baixo, infecção por *Br. abortus*; segundo FAYAN.

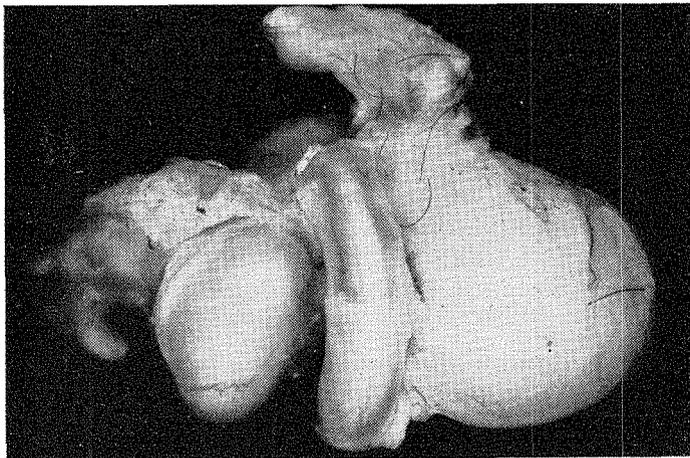


Fig. 43 — Brucelose experimental; orquite em cobaia. Original.

O homem e tôdas as espécies animais domésticas conhecidas podem ser infectados pelas brucelas.

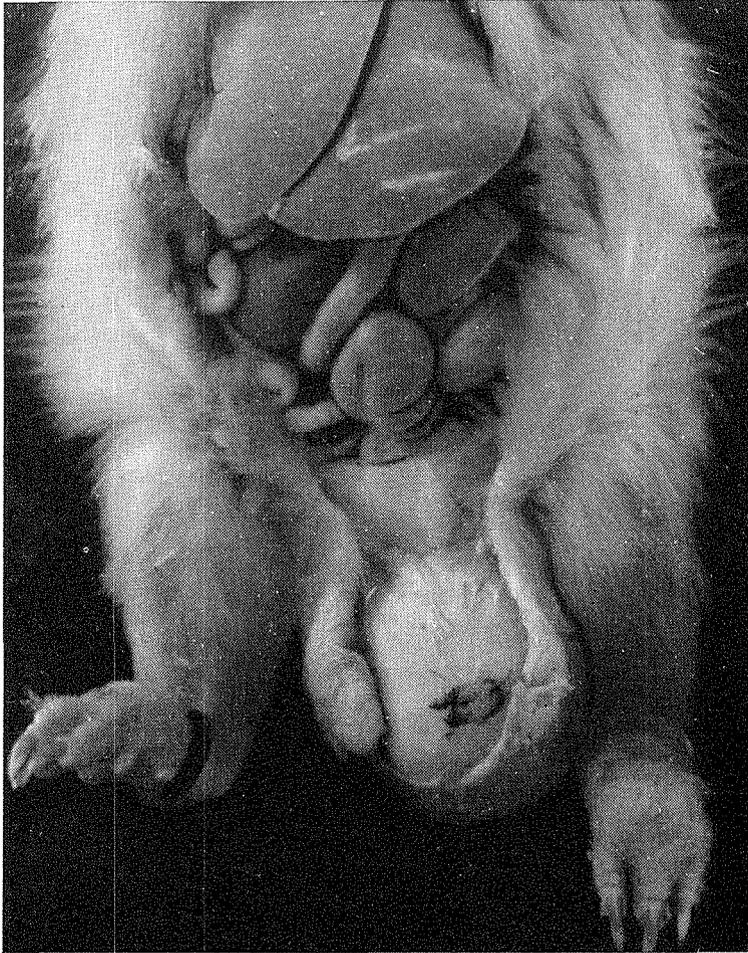


Fig. 44 — Brucelose experimental; orquite em cobaia; pseudo-reação de STRAUSS. Original.

A cobaia, como já vimos noutras oportunidades, é o animal de escolha. As lesões principais são focos necróticos no fígado e no baço. São muito freqüentes as artrites (Fig. 42). A inoculação intraperitoneal determina, nos machos, quase sempre, uma lesão testicular análoga à reação de Strauss (Figs. 43, 44), antigamente considerada característica da infecção mormosa mas que ocorre, também, na infecção por pasteurelas e outros germes. Conforme a amostra de brucela (S, R ou M) e a espécie, as lesões são variáveis. As mais graves são as produzidas por *Br. melitensis*, capazes de determinar número maior de mortes; as mais extensas, contudo, são as provocadas por *Br. suis*,

com predominância de focos necróticos e supurativos (Figs. 45, 46); a mais benigna é a por *Br. abortus*, conforme observações reiteradas de vários pesquisadores, confirmadas amplamente por BRAUDE & ANDERSON (Fig. 41).

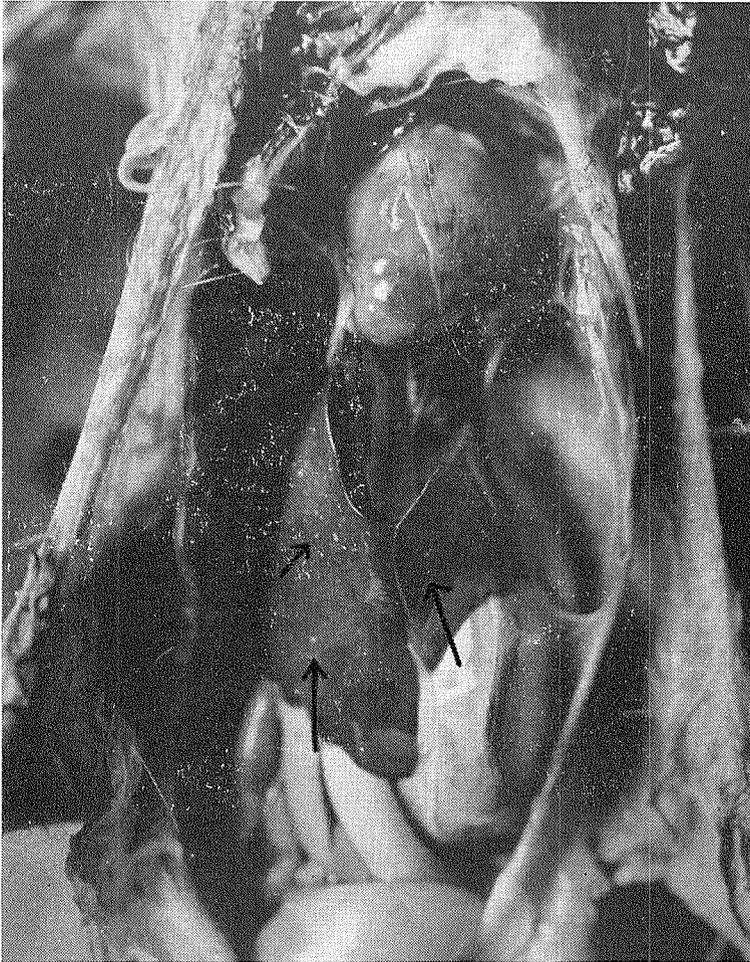


Fig. 45 — Brucelose experimental; focos necróticos em fígado de cobaia. Original.

As infecções em cobaia (e também noutras espécies) podem ser obtidas pelas mais diversas vias: alimentar, conjuntival, instilação nasal, pele escarificada, pele íntegra, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, intracraniana, intracardiaca, etc.

WELLMANN obtém a infecção em quase 100% dos animais depilando a pele de cobaias de modo a não ferir (tosquiando); sôbre o ponto depilado deposita algodão embebido em material contaminado com *Br. abortus*.

*tus*, *Br. suis* ou *Br. melitensis* e protege a superfície com uma faixa. Experiências de contacto de cobaias normais, postas na mesma gaiola com outras infectadas, revelaram a presença de aglutininas nalgumas das primeiras e de brucelas nos órgãos de uma delas, após 3 meses de coabitação. Trabalhou com mais de 400 cobaias infectadas por várias vias (cutânea, conjuntival, oral, subcutânea e por picadas de insetos). Nem sempre, as alterações eram nítidas, conforme a amostra empregada; seus resultados diferem um pouco dos de BRAUDE & ANDERSON, porque verificou, na infecção por *Br. abortus*, aumento do baço e focos necróticos grandes (Fig. 46), além de pequenos focos no fígado, disper-

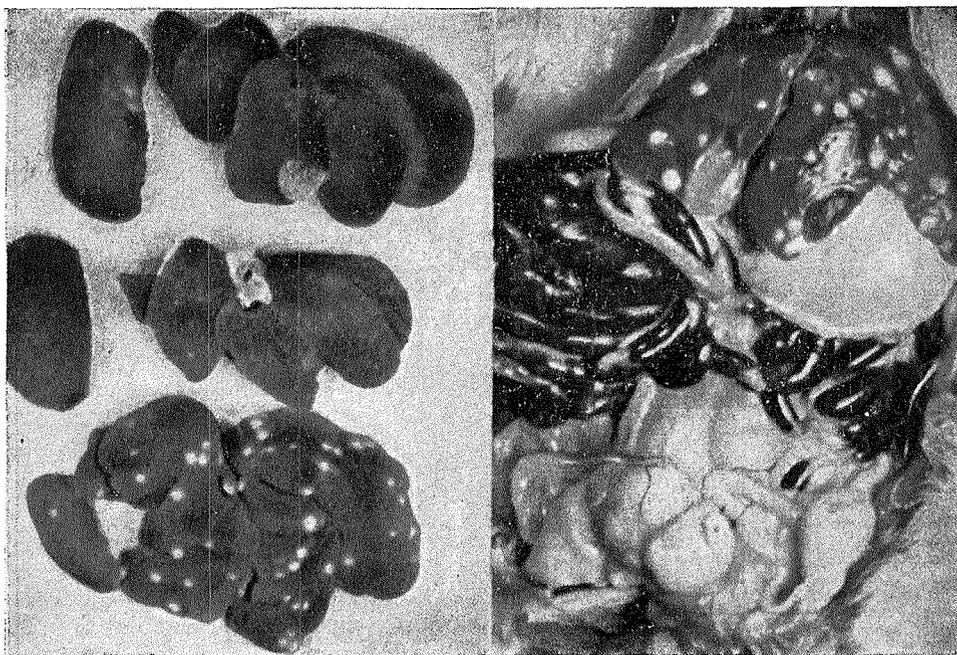


Fig. 46 — Focos necróticos em fígado e baço de cobaias. À esquerda: em cima e no meio, infecção por *Br. abortus*; em baixo, por *Br. suis*. À direita: infecção por *Br. suis*. Segundo WELLMANN.

sos (ou então não eram vistos nesta víscera). A *Br. suis* provocava aumento do baço com pequenos focos necróticos; no fígado, focos dispersos, um pouco maiores (Fig. 46), bem como nos testículos, onde havia pus. A *Br. melitensis* aumentava o baço e provocava focos de vários tamanhos (pequenos ou mais volumosos), enquanto o fígado se mostrava pouco alterado e com poucos focos.

Os estudos de GODGLÜCK, feitos em cerca de 100 cobaias infectadas pelas diferentes brucelas, mostraram de forma evidente que as perturbações orgânicas produzidas variavam em qualidade e quantidade. A infecção por *Br. suis* apresentou efeito patogênico bem mais forte do que a determinada pelas outras duas espécies. Os nódulos são, de preferência, exsudativos e tendem à formação de abscessos, associados

com o acúmulo de células gigantes tipo Langhans. Os resultados observados na cobaia possibilitam diferenciar os três tipos de brucelas, sobretudo *Br. suis* de *Br. abortus* e *Br. melitensis*.

Os efeitos da infecção brucelosa, sobre os constituintes normais do sôro sanguíneo de cobaias, foram investigados recentemente pelos pesquisadores do grupo de CARPENTER, na Califórnia. WEIMER & Cols., inoculando 129 cobaias machos, intraperitonalmente, com cerca de 13 milhões de bactérias de amostra virulenta de *Br. suis*, depois duma série de provas, verificaram que os polissacarídeos totais do sôro, os polissacarídeos de mucoproteínas e séricos, os polissacarídeos de gama-globulina, as proteínas totais do sôro e as proteínas de gama-globulina estavam aumentados nos grupos de cobaias infectadas, em comparação com as testemunhas.

O número de brucelas capazes de infectar as cobaias tem sido motivo de diversas pesquisas, sendo uma das mais recentes a de GARGANI. Verificou êle que mesmo a inoculação de pequena quantidade de brucelas (20 germes viáveis), suspensas em salina ou em creme de leite, provocava na cobaia uma infecção que podia ser posta em evidência por meio de reações sorológicas (aglutinação e fixação de complemento) e isolamento de brucelas dos órgãos. Com doses maiores de germes, as aglutininas eram evidenciadas logo após duas semanas, enquanto que com as doses mínimas era necessário esperar até 9 semanas para obter um resultado positivo.

Um estudo das lesões e dos efeitos da infecção brucelosa em cobaias machos foi realizado por HILLAERT & Cols., que chegaram à conclusão de ser a *Br. suis* facilmente isolada do sêmen de 30 das 51 cobaias infectadas experimentalmente pelas seguintes vias: subcutânea, intraperitonal e oral; a concentração dos germes no esperma era muito elevada; um dos animais eliminava aproximadamente 60 milhões de germes por ml de sêmen.

O emprêgo de amostras mucosas na vacinação de bovinos determinou uma série de pesquisas, sobre a patogenicidade para cobaias, das brucelas nesta fase. Os principais trabalhos devem-se a JONES & BERMAN, e JONES. Uma variante mucosa, isolada da conhecida amostra 2308 de *Br. abortus*, bem como outras de *Br. abortus*, *Br. suis* e *Br. melitensis*, foram inoculadas intraperitonalmente em cobaias de 250 a 500 gramas. Os autores verificaram que o número de germes, na fase mucosa, necessários para determinar a infecção era maior do que o das amostras originais em fase S. Em alguns animais formaram-se abscessos testiculares. Não houve produção de aglutininas. Um fato importante foi a observação de que uma amostra de *Br. abortus* e outra de *Br. suis* reverteram à fase S, tanto *in vitro* como *in vivo*. Em trabalho subsequente, JONES confirma as pesquisas anteriores e relata que a inoculação de cobaias com a amostra mucosa, variante da lisa patogênica *Br. abortus* 2308, não produz proteção duradoura contra a infecção posterior com brucelas lisas da mesma amostra, mas havia evidência de que a multiplicação dos germes em fase lisa era inibida durante algum tempo.

Os *camundongos brancos* seguem-se às cobaias, em importância, no estudo da infecção experimental.

Os primeiros pesquisadores não deram valor a essa espécie animal porque nela a infecção é menos ruidosa. Atualmente, contudo, é a mais usada, porque, com o auxílio de alguns artifícios, conseguem-se infecções mortais regularmente, o que permite testar a eficácia de vacinas e de medicamentos.

DISHON & OLITZKI foram os primeiros a obter infecções mortais em camundongos brancos, empregando como adjuvante a mucina, com técnica semelhante à de uso corrente nos estudos com salmonelas. Injeções intra-peritoniais de *Br. melitensis* e *Br. abortus* (até 0,5 ml de cultura de 48 horas em caldo) não produziam a morte dos animais, embora 5 dias depois os camundongos sacrificados apresentassem brucelas em seus órgãos. A junção de 0,5 ml de suspensão de mucina a 10% provocava infecções letais, sendo 100% com 0,5 ml de cultura; menores concentrações não causavam a morte.

PACHECO & THIAGO DE MELLO realizaram experiências com diversas substâncias como adjuvantes, inclusive a mucina. Camundongos brancos foram infectados regularmente com *Br. suis*, desde que a suspensão bacteriana tivesse sido misturada com uma solução aquosa a 0,01 M de oleato de sódio. Tanto o detergente quanto a suspensão bacteriana não eram capazes de causar doença nos animais, quando injetados isoladamente. A infecção produzida por essa espécie de brucela, adicionada ao sabão, era aparente em 48 horas e evoluía rapidamente para a morte dos animais, em 4 a 5 dias, no máximo em uma semana.

Experiências semelhantes, usando mucina, goma arábica, gelatina ou laurato de sódio, em vez de oleato de sódio, não resultaram em infecções mortais de todos os camundongos. Apenas a mucina apresentou efeito parecido com o do detergente; quando usada em concentração de 5%, metade dos animais morreu no prazo de 48 horas, mas esse efeito deve ser atribuído, pelo menos em parte, ao efeito letal da mucina, porque as testemunhas (injetadas com mucina sem germes) também morreram na mesma proporção. Os únicos sintomas apresentados pelos camundongos inoculados só com o oleato apareciam no fim de 10 minutos e desapareciam logo, permanecendo eles normais, enquanto os inoculados com oleato mais germes tornavam-se doentes e morriam, dentro de uma semana, no máximo.

Mais tarde, OLITZKI e seus colaboradores ampliaram os estudos sobre os efeitos da mucina, em diversos trabalhos. Em um dos mais recentes, OLITZKI fez uma série de experiências com o sentido de determinar os efeitos da mistura mucina e germes de diversas amostras, em diversas fases de variação, e exigentes ou não de estreptomicina. Concluiu que os efeitos letais produzidos pelas brucelas não dependem de sua sensibilidade ou resistência à estreptomicina e sim da fase de variação S-R que, por sua vez, é independente da resistência ou sensibilidade da bactéria ao antibiótico. Uma propriedade interessante foi observada: as formas lisas de *Br. suis* exercem efeitos letais em muito menores quantidades do que as das outras duas espécies.

BRAUDE & SPINK estudaram, no camundongo branco, os efeitos da infecção brucelosa sobre o funcionamento do baço, pois é sabido que esta víscera é intensamente atingida na doença natural e experimental. Os autores concluíram, depois de várias experiências, que a esplenomegalia está associada a uma boa defesa contra as brucelas, mas o que é essencial, não é o baço e sim os elementos do sistema retículo-endotelial, responsáveis por essa proteção, tanto que a esplenectomia podia ser compensada pelo SRE dos outros órgãos.

As pesquisas de PARFENTJEV, da Universidade de Yale, sobre aspectos da infecção brucelosa em camundongos, são particularmente interessantes. Primeiro observou êle que os camundongos adultos são mais suscetíveis à brucelose do que os jovens; levantou, então, a hipótese de que isto se deveria à hipersensibilidade gradual efetuada por bactérias saprofíticas, existentes no trato intestinal, indicando que, enquanto a imunidade é espécie-específica, a hipersensibilidade poderia ser comum a várias espécies. Assim, por exemplo, a injeção de 1 1/2 bilhões de brucelas foi suportada por 79% dos camundongos jovens, enquanto somente 43% dos idosos a sustentaram. Continuando seus estudos, PARFENTJEV procurou proteger os camundongos com uma substância que pudesse aumentar a resistência dos animais, sensibilizados por bactérias gram negativas; sua escolha recaiu sobre o nucleato de sódio existente em preparações comerciais de levedos. Declara êle: "Nossas numerosas experiências provam que camundongos normais, depois de injeções de nucleato de sódio, ficam protegidos contra infecções por bactérias dos gêneros *Proteus*, *Pasteurella*, *Brucella* e *Escherichia* (*E. coli*). Estudos posteriores indicaram que diferentes marcas de nucleato de sódio variavam em potência; algumas eram quase inativas. A dose protetora das preparações ativas era de cerca de 100 mg por camundongo." A purificação do produto comercial permitiu obter uma substância muito mais ativa. Numa experiência com *Br. suis*, 2 a 4 bilhões de germes foram inoculados em camundongos sensibilizados com vacina contra *H. pertussis*; a injeção prévia de 100 mg de nucleato de sódio de levedo, em cada animal, protegeu 80% dos camundongos, enquanto nos não tratados apenas 10% sobreviveram. Não foram relatadas experiências com o produto purificado, na infecção brucelosa experimental, mas, a julgar pelos resultados obtidos com *Proteus*, devem merecer atenção especial (*Proteus vulgaris*: 78% dos camundongos foram protegidos com 100 mg de nucleato de sódio de levedo e inoculados com 1 1/2 bilhões de germes, enquanto 83% de camundongos o foram com apenas 0,3 mg do produto purificado; as médias de proteções para as testemunhas foram respectivamente de 5 e 0%).

O *rato branco* tem sido muito pouco utilizado nos trabalhos com brucelose, sendo a pesquisa principal a de BER, que descreveu as lesões observadas neste animal, depois da inoculação intraperitoneal de brucelas. O fato das variações serem muito grandes a ponto de excluïrem o animal dos trabalhos experimentais, levou JACOTOT & VALLÉE a tentarem infecções com o auxílio da técnica da mucina proposta por DISHON & OLITZKI para os camundongos brancos. Culturas de brucelas e órgãos de animais infectados, experimentalmente, foram inoculados de mis-

tura com suspensões de mucina. Com as culturas, a morte sobreveio até em 80% dos casos; com triturados de órgãos, o número de mortes foi mais regular e mais rápido, principalmente quando eram inoculados fragmentos de rim. A inoculação intracardíaca foi a que mostrou resultados mais severos. Injeções intraperitoniais de polpa renal, adicionada de mucina, determinaram o aparecimento de abscessos volumosos e em grande número, na cavidade abdominal (Fig. 47).

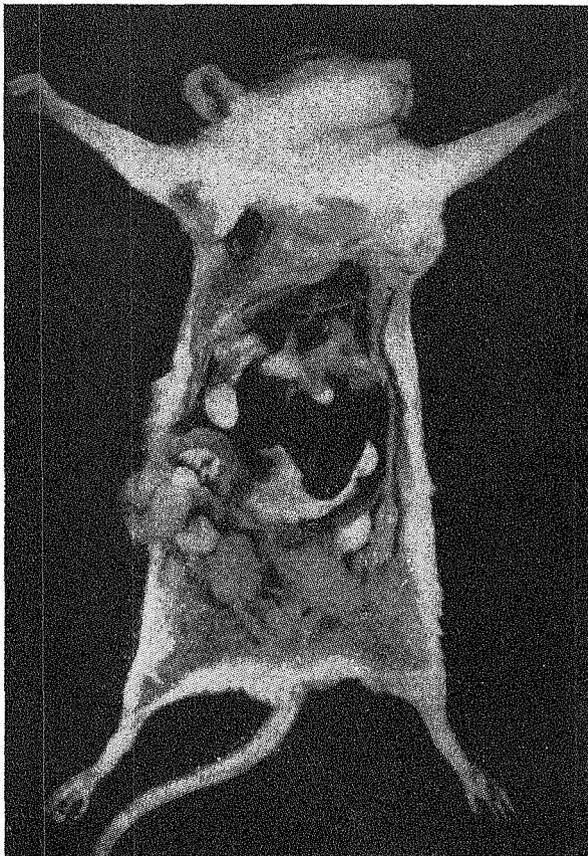


Fig. 47 — Brucelose experimental em rato branco. Abscessos na cavidade abdominal. Segundo JACOTOT & VALLÉE.

O *hamster* não tem sido usado em experiências com brucelas mas a sua suscetibilidade é semelhante à da cobaia, apresentando as mesmas lesões, principalmente abscessos na cavidade abdominal, orquite e artrites, conforme observaram PACHECO & THIAGO DE MELLO. Outros roedores de desertos e regiões semi-áridas do Egito, como o “gerbil”, são extremamente suscetíveis à *Br. melitensis*, conforme o demonstraram FLOYD & HOOGSTRAAL.

A suscetibilidade experimental de outras espécies animais tem sido muito investigada. Não procuraremos resumir os fatos principais; apenas indicaremos alguns dos trabalhos mais recentes que não só relatam as experiências feitas como também revêem grande parte da literatura.

No tocante aos *bovinos* e *suínos*, o assunto foi revisto, há pouco tempo, pelo grupo da Universidade de Indiana, numa série de trabalhos, sobretudo relacionados com as infecções por *Br. suis* e *Br. abortus*, respectivamente (WASHKO & COLS.; BAY & COLS.; WASHKO & HUTCHINGS). Também HORLEIN, de Iowa, uma das maiores autoridades em brucelose suína, estudou aspectos da infecção artificial de porcos pela *Br. melitensis*.

As pesquisas com relação à infecção experimental em *cães* foram feitas sobretudo por MORSE e seus colaboradores, da Universidade de Wisconsin.

O período de incubação na brucelose bovina foi estudado experimentalmente por THOMSEN, na Dinamarca. *O tempo de incubação é inversamente proporcional ao estado de evolução do feto na época da infecção; quanto menor o feto, maior o período de incubação.*

Nas *aves*, a maior parte das pesquisas sôbre a infecção experimental foi revista por TAVONI & FACCINCANI, da Universidade de Parma, na Itália. Ao contrário do que geralmente se pensa, as aves domésticas podem ser facilmente infectadas natural e experimentalmente.

A infecção experimental de *sêres humanos* tem sido obtida por alguns pesquisadores mas os trabalhos fundamentais devem-se a MORALES-OTERO, que os resume em sua Monografia, concluindo que a formação instala-se com mais facilidade através da pele erodada do que pela via gastro-intestinal. A questão da dosagem é muito importante. Doses únicas, relativamente elevadas, produzem infecção a partir de contaminação da pele erodada com germes que haviam sido isolados havia muito tempo; no entanto, essas mesmas brucelas não produzem infecções em pessoas que as ingeriram repetidamente, em grandes doses; foram necessárias 7 ingestões de virulenta cultura de *Br. abortus*, de 24 horas, em caldo, para produzir uma infecção de pequena gravidade. As amostras porcinas mostraram-se mais virulentas do que as bovinas e produziram infecções pela via digestiva em doses menores do que as necessárias por estas últimas.

Em suas experiências, MORALES-OTERO demonstrou definitivamente o que HARDY já havia verificado, isto é, que mesmo *a pele íntegra constitui uma porta de entrada fácil para a infecção em cobaias*; o mesmo não aconteceu com a pele humana, pois não conseguiu infecções, depositando os germes na pele normal. Acredita, contudo, que maior número de experiências deve ser efetuado, antes que se considere definitivamente como improvável a infecção através da pele íntegra.

*Terapêutica da brucelose experimental* — É de uso corrente que, antes da experimentação dum medicamento na brucelose humana e animal, devem ser feitas experiências em animais de laboratório. Assim sendo, todos os modernos antibióticos passaram por essa etapa na expe-

rimentação, acumulando-se vultosa literatura sôbre o assunto. Os resultados, às vezes, são francamente discordantes.

LARSON & Cols., STUBBS & Cols., KELLY & HENLEY e BUNNELL & Cols. verificaram a ineficácia da polimixina, da penatina, da estreptomomicina e da penicilina, respectivamente, na brucelose experimental de cobaias.

Desde o aparecimento das sulfas, muitas pesquisas foram efetuadas para observar a sua atividade na brucelose experimental. MELLO & ROGICK trabalharam com anaseptil, streptoclase, soluseptina, sulfaliso, picol e dagenan, notando resultados aparentemente favoráveis, apenas com êste último, na cobaia. HUDDLESON conseguiu aumentar a eficácia da sulfadiazina, administrando-a até o sétimo dia da infecção experimental, em pequenas doses; em prazos superiores a êsse, as brucelas instalam-se no organismo, resistindo ao efeito da sulfa; esta resistência pode ser vencida se a administração é feita simultâneamente com soro sanguíneo de coelho, injetado intraperitonalmente, até 30 dias após a infecção.

Estudos aprofundados dos efeitos da sulfadiazina associada a antibióticos foram feitos por HOLM e seus colaboradores, da Universidade de Wisconsin, numa série de trabalhos. No primeiro dêles, HOLM & McNURT fazem uma revisão das possibilidades das sulfas e dos antibióticos na infecção experimental e mostram que a administração diária de estreptomomicina e sulfadiazina, respectivamente por vias subcutânea e oral, cura a brucelose experimental em cobaias, até 10 dias da infecção; em dias alternados, também foi eficaz e a associação de aureomicina e sulfadiazina não surtiu tão bons efeitos quanto a de estreptomomicina com sulfadiazina, segundo HOLM & MOORE.

Resultados interessantes foram obtidos por HUTCHINGS & Cols., na terapêutica da brucelose experimental por *Br. suis* em cobaias, com estreptomomicina e sulfadiazina. Em todos os casos, quando a hemocultura era positiva antes do tratamento, passava a negativa logo depois dêste iniciado, enquanto nas testemunhas a bacteremia persistia por períodos variáveis. O tratamento pareceu ter um efeito decisivo na diminuição do número de isolamentos obtidos na autópsia mas, mesmo assim, 10 de 15 cobaias tratadas apresentavam *Br. suis* em diversos órgãos, à necrópsia; isto equivaleu, portanto, a um desaparecimento das brucelas do sangue circulante mas os germes ainda permaneciam em focos no organismo. A nota mais importante dessas pesquisas foi a verificação de que o estado geral dos animais tratados era bem pior do que o das testemunhas; estas aumentavam de peso, enquanto os tratados, ou perdiam peso ou êste se mantinha estacionário.

Experiências feitas por CRUICKSHANK mostraram que realmente a administração da sulfadiazina, a partir do 10.<sup>o</sup> ao 20.<sup>o</sup> dia do aparecimento das aglutininas, nas cobaias infectadas experimentalmente, tinha bons efeitos na infecção mas a injeção de sangue normal de cobaias, simultâneamente, pela técnica de HUDDLESON, não aumentava a eficácia da sulfa.

Resultados favoráveis na infecção experimental foram relatados por diversos pesquisadores, com a aureomicina, a cloromicetina (cloranfenicol), a terramicina e a iloticina, tanto em cobaias quanto em camundongos.

Resíduos da fermentação para produção de aureomicina mostraram-se ineficazes no tratamento da brucelose experimental em porcos, segundo CAMERON.

Melhores resultados, contudo, não são os obtidos com os antibióticos empregados isoladamente e sim, quando combinados. Atualmente, de todas as combinações experimentadas, parece mais eficiente a da estreptomicina com aureomicina, tanto em cobaias quanto em camundongos e embriões de pinto. Também a associação de antibióticos a hormônios (cortisona e ACTH) ou BAL tem sido registrada como benéfica, por alguns autores, enquanto outros não obtiveram bons resultados. Para maiores informações sobre o assunto, convém recorrer à literatura especializada, de que citaremos os principais trabalhos: SHAFFER & Cols.; JACOTOT & VALLÉE; KNIGHT; BRAUDE & SPINK; WERNER & KNIGHT; RENOUX & ROUX; LEÓN & CANO; BOAK & Cols.; CRISCUOLO & Cols.; ABERNATHY & SPINK; TEMPÉREAU & Cols.

As possibilidades do tratamento da brucelose experimental com o auxílio de agentes imunitários do próprio animal infectado ou de outros (soros), constituem, no momento, um importante rumo para os estudos que estão sendo efetuados por diversos grupos de pesquisadores. POMALES-LEBRÓN & FERNANDEZ observaram um aumento da resistência por parte de cobaias que haviam resistido a uma infecção prévia. Por outro lado, LIVE & GIULIANI ampliaram as experiências de OLITZKI & OREN, verificando que soros de animais vacinados com amostra B-19 ou com a vacina morta pelo éter e suspensa em óleo mineral, apresentavam nítido efeito protetor contra a infecção brucelosa em camundongos; o segundo tipo de vacina produzia maior proteção. Os vários soros protegeram os camundongos contra os efeitos letais de grandes doses infectantes mas não evitaram a infecção crônica.

*Efeitos da terapêutica experimental sobre a curva de aglutinação* — Uma certa divergência tem sido encontrada entre os vários pesquisadores, quanto ao significado da curva aglutinante em animais tratados. Enquanto que com os hormônios cortisone e ACTH existem indícios de que os mesmos bloqueiam a produção dos anticorpos, conforme as pesquisas de ABERNATHY & SPINK e de TEMPÉREAU & Cols., para o caso dos antibióticos parece que a diminuição progressiva dos títulos aglutinantes nos animais tratados corresponde a efeitos benéficos sobre a doença, pela queda da produção de antígeno (falta de multiplicação das brucelas), conforme o demonstraram CRUICKSHANK e CARPENTER & Cols.

---

## O — IMUNIDADE NA BRUCELOSE

Em outros capítulos, diferentes aspectos da imunidade na brucelose são examinados. Cabe aqui pequena referência a alguns fatos mais interessantes, não abordados noutros pontos, bem como uma sistematização, embora resumida, dos mesmos.

*Imunidade inata* — Não existe, praticamente, uma imunidade inata completa para a brucelose, com relação a espécie, raça, sexo, idade, etc. A infecção pode acometer natural ou artificialmente todas as espécies domésticas conhecidas, não respeitando raça ou sexo. Até animais de sangue frio, como sapos, se têm revelado sensíveis. Diversos artrópodos podem ser infectados e, em alguns casos, transmitem a doença.

É interessante assinalar que IRWIN & BELL conseguiram obter uma linhagem de coelhos de grande resistência à infecção por *Br. suis*, e outra de baixa resistência.

Uma imunidade inata parcial pode ser observada, porém, pois algumas espécies animais infectam-se mais dificilmente com determinadas amostras de brucelas, em condições naturais ou artificiais.

*Imunidade adquirida* — Não existe uma imunidade ativa naturalmente adquirida. Um ataque da doença não dá imunidade contra nova infecção, embora exista grande quantidade de anticorpos produzidos. Entretanto, observa-se que certas manifestações clínicas, principalmente nas vacas, podem diminuir de intensidade, com o tempo. Experimentalmente, também, KELLY & COLS. verificaram que uma infecção pré-existente parece inibir a superinfecção. A resultados semelhantes também chegaram POMALES-LEBRÓN & FERNÁNDEZ.

Uma imunidade ativa adquirida artificialmente pode ser obtida por experiência em animais e tem sido tentada em seres humanos. Assim, pode ser conseguida uma vacinação com efeitos bastante razoáveis, pelo menos sob o ponto de vista econômico, em bovinos, com a amostra atenuada de *Br. abortus* conhecida como B-19. Outras amostras usadas e técnicas diversas de preparo e de aplicação de vacinas também se têm revelado bastante promissoras, conforme será visto na parte de Profilaxia. A prática seguida por CASTAÑEDA, de fazer com que os novos auxiliares que chegam ao seu laboratório iniciem os trabalhos com *Br. abortus*, passando depois a trabalhar com *Br. suis* e, finalmente, com *Br. melitensis*, não pode ser considerada como vacinação, pois apenas o indivíduo tem uma infecção mais branda com a primeira espécie, suportando melhor as infecções posteriores com as outras duas. Não se trata, portanto, de imunidade ativa adquirida, pois o indivíduo está infectado.

Quanto à imunidade passiva naturalmente adquirida, isto é, congênita, não existe de modo seguro, pois o feto nasce infectado, apesar de receber os anticorpos maternos ainda na vida intra-uterina e, depois, por intermédio do colostro. Em grande número, as crias morrem durante o primeiro ano de vida.

Até pouco tempo, nenhuma importância era concedida à imunidade passiva adquirida artificialmente, isto é, por meio de soro. Mesmo os trabalhos iniciais de HUDDLESON & Cols. e de IRWIN & BEACH não lograram maior repercussão.

Recentemente, retomaram-se as experiências com soros, sobretudo após estabelecerem-se técnicas que permitem avaliar com segurança o desenvolvimento da infecção experimental em camundongos brancos. Chegou-se à conclusão que, realmente, os soros de animais vacinados ou curados da infecção brucelosa por intermédio de antibióticos exercem efeito protetor contra a infecção em animais de experiência.

*Ação bactericida do plasma sanguíneo* — As pesquisas de HUDDLESON & Cols. haviam demonstrado que animais recuperados da infecção natural por *Br. abortus*, bem como aqueles vacinados com certo tipo de vacina morta, apresentavam plasma sanguíneo com propriedades inibitórias do crescimento de brucelas. A presença de bactericidinas no sangue de animais infectados naturalmente havia sido verificada, antes, por vários pesquisadores, conforme assinalaram HUDDLESON & Cols. Nas experiências destes, foi observado que o plasma normal bovino puro ou diluído a 1:2 matava grande quantidade de brucelas rapidamente; se o número de germes era excessivo, tornava-se necessário um período de incubação de mais de 24 horas. Nem sempre a ação bactericida do plasma, em animais recuperados da brucelose, era observada, o que levou HUDDLESON & Cols. a julgar que isto podia ser devido à pequena quantidade de complemento existente no plasma bovino. Realmente, foi o que demonstraram, logo depois, IRWIN & BEACH, ao concluírem suas pesquisas, declarando ser a ação bactericida do soro de animais normais e vacinados contra a brucelose dependente da atividade combinada do anticorpo e do complemento. O soro de animais normais tem uma atividade bactericida apreciável em diluições de 1/40 ou 1/80, raramente mais de 1/160; já o soro dos bovinos vacinados mostrou essa atividade em diluições de 1/1280 e mesmo de 1/10240, em alguns.

Maiores esclarecimentos sobre o papel do complemento na atividade bactericida do plasma contra as brucelas foram fornecidos pelas experiências de LACERDA JR. e de LACERDA & Cols., feitas no Instituto Biológico de São Paulo. No primeiro trabalho, uma tese de Concurso, efetuou-se cuidadosa revisão do assunto e foram relatadas numerosas pesquisas; chega à conclusão de que nos bovinos atacados de brucelose há um fator específico bloqueador do efeito do sistema bactericida preexistente no plasma bovino normal; aparentemente, trata-se de novo anticorpo, que chamou de bloqueador, distinto das aglutininas e das bactericidinas comuns. Novos trabalhos permitiram a LACERDA & Cols. demonstrar que, realmente, no caso em aprêço, havia um anticorpo bloqueador da atividade bactericida, presente sobretudo nos soros com elevado poder aglutinante para *Br. abortus*.

RICHARDSON & HUDDLESON, em 1952, publicaram suas experiências no sentido de demonstrar a presença, no soro de bovinos normais, duma atividade inibitória do crescimento de *Br. abortus*, durante 72 horas, em presença de sulfadiazina e complemento. Segundo eles, o fator

assemelha-se aos outros anticorpos naturais fixadores de complemento, sendo termo-lábil a 56°C; tanto a conservação a 4°C quanto a filtração reduzem a atividade inibidora do soro bovino normal. A sulfadiazina aumentava o poder bactericida do soro e do plasma, conforme havia sido demonstrado antes, por HUDDLESON.

Sobre o efeito inibidor do plasma sanguíneo e as possíveis relações do mesmo com a resistência à infecção, são bastante interessantes as pesquisas já citadas de IRWIN & BELL que verificaram, numa linhagem de coelhos altamente resistentes à infecção por *Br. suis*, existir uma correlação entre a atividade bactericida do sangue e a resistência do animal.

Não são apenas o soro e o plasma de bovinos que têm efeito bactericida sobre brucelas. Também o de outras espécies o apresentam. Assim, por exemplo, VICTOR & COLS. demonstraram-no em sangue de cães normais, não sendo o mesmo observado em plasma heparinizado ou citratado, bem como em sangue total citratado.

O poder bactericida do sangue permite a realização duma prova diagnóstica para brucelose usada por SIGNORELLI e, mais recentemente, defendida por MINOPRIO.

*Evolução das aglutininas* — Esta evolução depende de diversos fatores, sobretudo da espécie animal considerada e do antígeno introduzido.

Em geral são as amostras vivas lisas e virulentas, recentemente isoladas, as que produzem mais rapidamente títulos aglutinantes elevados. As amostras mortas, rugosas e avirulentas não apresentam a mesma capacidade. A permanência das aglutininas também é variável. No caso da vacinação com a amostra B-19, por exemplo, se o animal é vacinado quando adulto, as aglutininas persistem por longo tempo, praticamente durante toda a vida útil do animal; o mesmo não ocorre quando são as bezerras vacinadas entre 4 e 8 meses, pois antes de um ano os animais se desembaraçam das aglutininas formadas, pelo menos em títulos significativos, apesar de mostrarem-se resistentes à infecção natural e, mesmo, experimental.

No homem, as aglutininas podem persistir por muito tempo. Em geral, o seu desaparecimento progressivo indica melhora ou cura do paciente, quando o mesmo é tratado com vacina ou antibióticos. Outros aspectos do assunto são examinados no capítulo do Diagnóstico de laboratório, com referência à prova de aglutinação.

---

## P — BACTERIÓFAGOS

Até bem pouco tempo, eram desconhecidos bacteriófagos para brucelas. Em 1949, SMITH fez uma revisão do assunto, ao lado de suas pesquisas pessoais, concluindo pela inexistência de tais vírus para essas bactérias, ou que, pelo menos, seriam eles muito raros. Nenhuma das 48 amostras de *Br. abortus*, 10 de *Br. melitensis* e 7 de *Br. suis* mostrou-

se "lisogênica". Utilizou as seguintes técnicas: sementeiras cruzadas de diferentes amostras de brucelas; bacteriófagos para outras espécies, numa tentativa de adaptação; filtrados de suspensão de fezes de bovinos; de águas de esgotos; de líquidos uterinos de vacas que abortaram e de resíduos de latões de leite.

Logo a seguir, PICKETT & NELSON foram mais bem sucedidos. Verificaram lise com diversas amostras de brucelas recentemente isoladas e cultivadas em meios sólidos; outras observações foram feitas, sendo a principal a de que filtrados de variantes mucóides "lisogênicas" de brucelas, quando adicionados a culturas em caldo de amostras de coleção, de *Br. abortus* lisas, determinavam o aparecimento de variantes mucóides freqüentemente "lisogênicas". A hipótese de tratar-se de bacteriófago foi reforçada pelas seguintes observações: a) o desenvolvimento do que pareciam ser variantes não lisas autolíticas e às vezes "lisogênicas", a partir de culturas lisas conhecidas; b) um período de preparação ("lag phase"), grandemente aumentado, quando o caldo era semeado com doses muito pequenas de brucelas lisas infectadas com bacteriófagos; c) impossibilidade de obter crescimento com a sementeira em placas, de culturas em caldo, intensamente turvas, de 3 a 7 dias, de amostra de brucela inicialmente lisa; d) a morfologia microscópica atípica das brucelas infectadas.

---

#### Q — VARIAÇÃO

A variação bacteriana entre as brucelas é, talvez, o assunto mais intensamente estudado neste grupo de micróbios. Isso porque, com os conhecimentos adquiridos, tornam-se possíveis não só o perfeito diagnóstico sorológico da doença como, também, a avaliação da eficiência terapêutica das vacinas e de outros medicamentos. Os antígenos e as vacinas só merecem confiança quando preparados com amostras lisas. Como toda bactéria, as brucelas podem sofrer variação de lisas (S) para rugosas (R), a qual, como sempre, acarreta modificações na forma da colônia e nas propriedades antigênicas do germe. A variante rugosa nem sempre é irreversível, podendo voltar ao tipo liso primitivo.

Com freqüência, encontram-se amostras intermediárias SR ou com mistura de caracteres, por exemplo: formação de película, aglutinabilidade reduzida em presença de soro específico e redução parcial da antigenicidade. Conforme a predominância de um dos mesmos ou de outros, têm designação especial, conforme será visto mais adiante.

A forma R típica apresenta colônias opacas, sem brilho, de consistência friável, secas, brancacentas, aparentando vidro despolido; estas alterações se acompanham de mudanças na morfologia do germe, que pode tornar-se alongado, apresentando, até, formas filamentosas (Fig. 9). Com muita facilidade, as colônias rugosas dão colônias filhas.

Desde cedo, fôra verificado que certas amostras de brucelas comportavam-se de maneira irregular quanto à aglutinabilidade em pre-

sença de soros específicos. A tais amostras, consideradas como tipos diferentes do germe, NÈGRE & RAYNAUD, já em 1912, chamaram de *para-melitensis*. Anteriormente, em 1908, SERGENT & Cols. já tinham verificado que certas amostras de *Br. melitensis* não eram aglutinadas com o sôro anti-*melitensis*. Atualmente, são elas consideradas variantes rugosas e perderam a importância, por isto mesmo, como entidades bacterianas específicas. Devem ser bem conhecidas, entretanto, para a boa seleção de amostras destinadas ao preparo de antígenos e vacinas.

Em resumo, pode-se dizer que as formas de variação bacteriana das brucelas distinguem-se daquelas que não sofreram o fenômeno, porque aglutinam espontaneamente em presença de agentes físicos ou químicos, além da perda parcial ou total da patogenicidade e da antigenicidade. MAZZETTI & TESI, em boa revisão, enumeram diversas características das variantes rugosas de brucelas, às quais acrescentamos algumas outras:

- 1) crescimento granuloso em caldo, às vezes formação de ligeira película na superfície;
- 2) colônias no agar, ligeiramente maiores e mais opacas do que as das respectivas amostras S; a superfície, à luz incidente, pode aparecer ligeiramente granulosa e opaca;
- 3) corpos bacterianos tendendo à forma tipicamente bacilar;
- 4) aglutinabilidade em presença de soluções salinas (NaCl a 0.7-1%), solutos ácidos, etc.;
- 5) aglutinabilidade com o reativo de Millon: a 3 ml de suspensão espessa de brucelas em água destilada, juntar 0.5-1 ml de reativo de Millon e aquecer até ebulição; as amostras R aglutinam em flocos grosseiros corados em rosa ou vermelho, enquanto as amostras S não são aglutinadas e a suspensão permanece corada, ligeiramente, em amarelo ocre, segundo WHITE;
- 6) termo-aglutinabilidade, segundo BURNET: suspende-se a cultura a examinar, em solução de NaCl a 0.7-0.8% e mantém-se em banho-maria a 90°C durante 2 horas; as amostras R floculam;
- 7) aglutinabilidade em solução de peptona a 1%, segundo FAVILLI: a 1 ml da referida solução juntam-se duas a três gotas da suspensão bacteriana; a aglutinação das suspensões R processa-se rapidamente; segundo DELLA VIDA, a prova não apresenta sensibilidade;
- 8) escassa produção de H<sub>2</sub>S pelas brucelas em fase R;
- 9) aglutinação pela tripaflavina a 1/1.000, segundo ALESSANDRINI & SABATTUCCI; a prova pode ser feita em tubos ou em lâminas; a) em lâmina: com uma alça grande, coloca-se sobre a lâmina um pouco de solução salina fisiológica (NaCl a 0,85%), na qual se suspende cuidadosamente uma porção da cultura a examinar e junta-se, homogenizando bem, uma alça igual com solução de tripaflavina a 1/500 em salina; leitura no fim de 1 minuto; b) método em tubo: em 0,5 ml de solução salina fisiológica, suspende-se uma alça da cultura em exame e juntam-se 0,5 ml de solução de tripaflavina a 1/500; leitura ao fim de poucos minutos;

- 10) inaglutinabilidade ou pouca aglutinabilidade em presença de sôro anti-S e aglutinabilidade com sôro anti-R;
- 11) diminuição da virulência e da toxicidade;
- 12) escasso poder antigênico;
- 13) aglutinabilidade em presença de solução aquosa de fucsina básica a 1/2.000, ao fim de duas horas na estufa a 37°C (DI AICHELBURG);
- 14) fagocitose mais intensa pelos leucócitos neutrófilos (MUNGER & HUDDLESON);
- 15) aglutinação em solução concentrada aquosa de estreptomicina (lg/3ml); a prova é quase imediata, sendo feita em lâmina (D'AMORE).

Outros detalhes podem ser encontrados nas revisões de HUDDLESON, em 1952, e de BRAUN, em 1949.

É bastante difícil manter em boas condições brucelas na fase S. Em geral, os repiques sucessivos tendem a selecionar as amostras R; por sua vez, as passagens em meios líquidos fazem, praticamente, uma seleção das formas não lisas, a não ser que tenham sido tomados cuidados especiais.

Tem sido aconselhado manter as culturas S em agar triptose mole, em agar placenta, em tubos com leite, fechados a lâmpada, e conservados na geladeira; dos mais aconselhados, tem sido o meio de agar batata. Conforme veremos, o conhecimento do mecanismo do aparecimento das formas não lisas possibilitou a manutenção da fase adequada para os trabalhos bacteriológicos.

Importa saber, ao trabalhar-se com amostra de brucela, em que fase de variação a mesma se encontra.

Verificada a existência de variantes que tinham comportamento sorológico anormal, procurou-se, logo, encontrar um meio de identificá-las.

BURNET, em 1928, observou que o aquecimento, durante duas horas em banho-maria a 80°C, numa suspensão de brucelas em salina, determinava a aglutinação das amostras *para-melitensis*, enquanto nada acontecia com as outras. Esta prova ficou sendo conhecida pelo nome de prova de termo-aglutinação ou termo-estabilidade.

Prova bem mais sensível foi a imaginada, em 1931, por ALESSANDRINI & SABATTUCCI e que já foi citada. Fazendo-se uma suspensão de brucelas em tripaflavina a 1/1000, em solução salina fisiológica, as amostras *para-melitensis* aglutinam, enquanto as *melitensis* e *abortus* não o fazem. ARDREY, trabalhando no laboratório de HUDDLESON, verificou que, se em vez de solução salina, na prova da tripaflavina, usava água destilada, apenas as amostras lisas aglutinavam, enquanto as rugosas permaneciam inalteradas. DELLA VIDA, trabalhando com 143 amostras de brucelas e comparativamente com outras técnicas, não confirmou tais verificações e declarou que esse método não é específico para a fase lisa, porque dá aglutinação com tôdas as amostras seguramente rugosas e também com outras, que, pelas demais provas, não se mostraram dissociadas.

MUNGER & HUDDLESON propuseram uma prova chamada de opsonocitofagia, com a finalidade de separar as amostras lisas de suas variantes. Em resumo, consiste em misturar uma suspensão da amostra a examinar, com o sangue citratado dum indivíduo normal, que não possua aglutininas anti-brucelas, e incubar a 37°C durante meia hora; os neutrófilos fagocitam em muito maior número as amostras rugosas do que as lisas. Esta prova não tem tido maior generalização, porque não é prática. Pela dificuldade de encontrar sangues humanos desprovidos de aglutininas, CASTAÑEDA utiliza o de cobaias normais.

Os estudos iniciais mais importantes sôbre a variação entre as brucelas devem-se a MORALES-OTERO; PLASTRIDGE & McALPINE e a HENRY; estudou êste o fenômeno sob o ponto de vista da morfologia das colônias. Utilizou, para isto, um microscópio binocular de dissecação ou entomológico. As culturas eram espalhadas em placas e, depois de crescidas durante 3 a 4 dias, examinavam-se as colônias com luz oblíqua e por transparência, através do fundo da placa, de maneira que as mesmas se destacavam contra um fundo escuro. Grande número de variantes foram estabelecidas por HENRY, sendo as principais a S (lisa) e a R (rugosa), com várias formas intermediárias.

A forma S pura apresenta-se bem homogênea, com superfície lisa e coloração azulada; tem consistência butirosa. A forma R pura é esbranquiçada ou amarelada, granulosa, às vêzes de superfície irregular; tem consistência friável e é opaca.

HENRY distingue ainda um tipo S, fracamente virulento e com reação de catalase também fraca, de outro S, virulento e com reação de catalase forte. O tipo "catalase e virulência fracas" forma colônias, aparentando o tipo R, mas na estabilidade das suspensões, na aglutinabilidade e na formação de aglutininas aproxima-se do S; designou êle êsse tipo como OW; ao lado dessas colônias, quando crescidas na superfície dos meios sólidos, sempre aparecem algumas colônias S.

Com freqüência, observam-se setôres (Figs. 48, 49) e colônias filhas (Fig. 50), a partir duma colônia bem isolada e de um tipo determinado.

Trabalhos em diversos países, feitos por grande número de autores, ampliaram os conhecimentos sôbre a dissociação entre as brucelas, e aperfeiçoaram os métodos para identificar as variantes não lisas. O mecanismo da variação, contudo, permanecia inexplicável, embora fôsse possível forçar a dissociação com meios e técnicas especiais de cultivo.

A partir de 1945, WERNER BRAUN com seus colaboradores passaram a estudar intensivamente o mecanismo da variação S-R em brucelas. Padronizaram a técnica para verificar o índice de dissociação, em meio a que BRAUN chamou de 2:1 e, depois de muitos trabalhos, provaram:

- 1) que existe, no plasma de animais normais e sucetíveis à infecção (bovínos, cobaias, embriões de pinto, etc.), uma substância que inibe o aparecimento de variantes não lisas. Mais tarde, foi identificada como sendo a fração  $\gamma$ -globulina do plasma desses animais. Ao fim de 10 dias de crescimento em caldo com sôro bovino, praticamente só existem formas S no meio, quando semeada uma mistura de populações S e R de brucelas (Fig. 51). O plasma de animais vacinados

ou infectados não possui a propriedade de evitar o aparecimento de variantes não lisas;

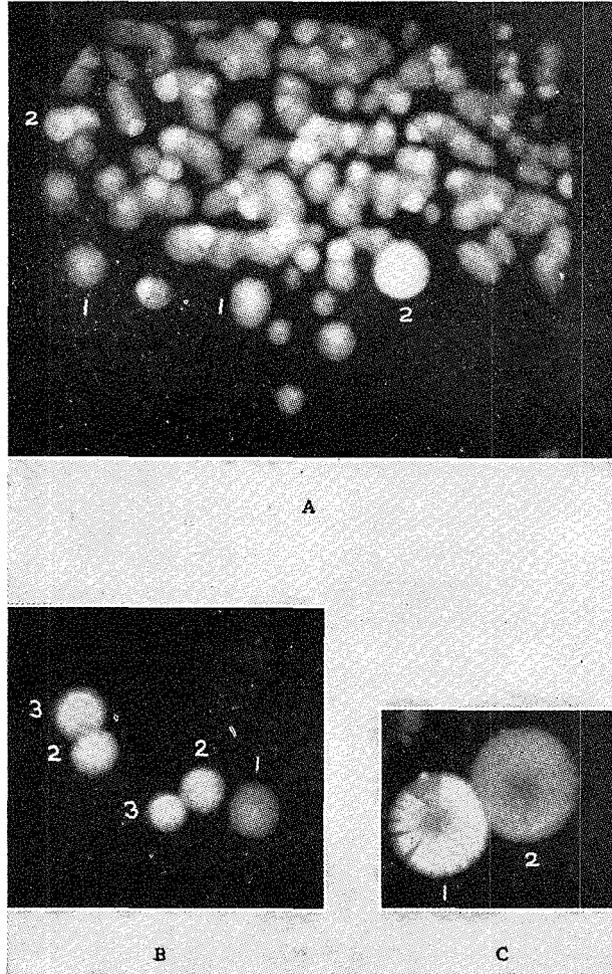


Fig. 48 — Diversas fases de variação em brucelas. A. 1 — Colônia lisa; 2 — Colônia rugosa. B. 1 — Colônia lisa; 2 — Colônia rugosa; 3 — Colônia rugosa-mucóide. C. 1 — Colônia com setores opacos; 2 — Colônia lisa. Segundo HUDLESON.

2) que, durante o crescimento do germe, vão se formando, no meio, ácidos aminados como metabólitos; alguns deles são tóxicos, em elevadas concentrações, para brucelas. Se forem semeadas, em determinado meio, populações misturadas de brucelas S e R, vai sendo formada, pouco a pouco, grande quantidade de D-alanina, que, sendo tóxica para as formas S, encontra resistência ao seu efeito nas formas R, daí acabarem estas por predominar no meio. Se for controlada a produção de D-alanina, crescem apenas as formas S.

Durante os anos de trabalhos sôbre dissociação, feitos por BRAUN & Cols., em Camp Detrick, Maryland, várias pesquisas colaterais foram realizadas, para provar êsses dois fatos importantes citados acima.

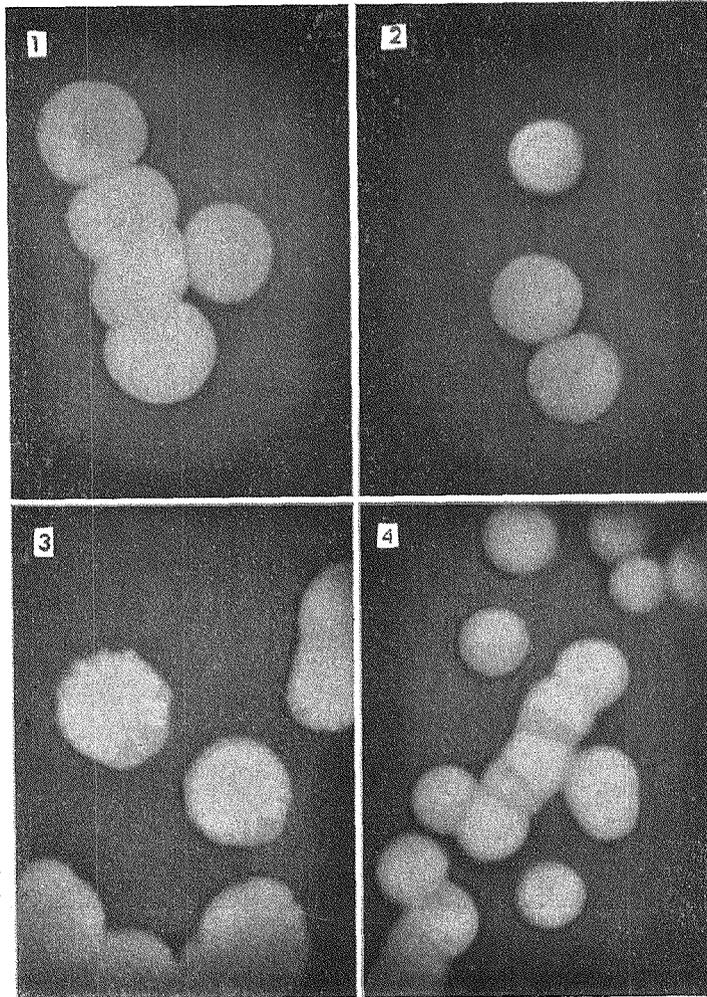


Fig. 49 — Aspectos culturais de *Br. abortus*. 1: Colônias S; 2: Colônias S em baixo e M em cima; 3: Colônias SM (setores); 4: Colônias SI. Meio de agar triptose; fotografias em cores naturais; iluminação oblíqua transmitida. Segundo HUBBLESON.

Muitos dêsses estudos serviram de base para o importante livro de BRAUN sôbre Genética Bacteriana. Algumas das suas pesquisas serão resumidas a seguir.

Para uniformidade no emprêgo da terminologia sôbre a variação em brucelas, BRAUN propôs, em 1947, que fôsse abandonado o têrmo dissociação. Relacionou as variações observadas nas bactérias em geral,

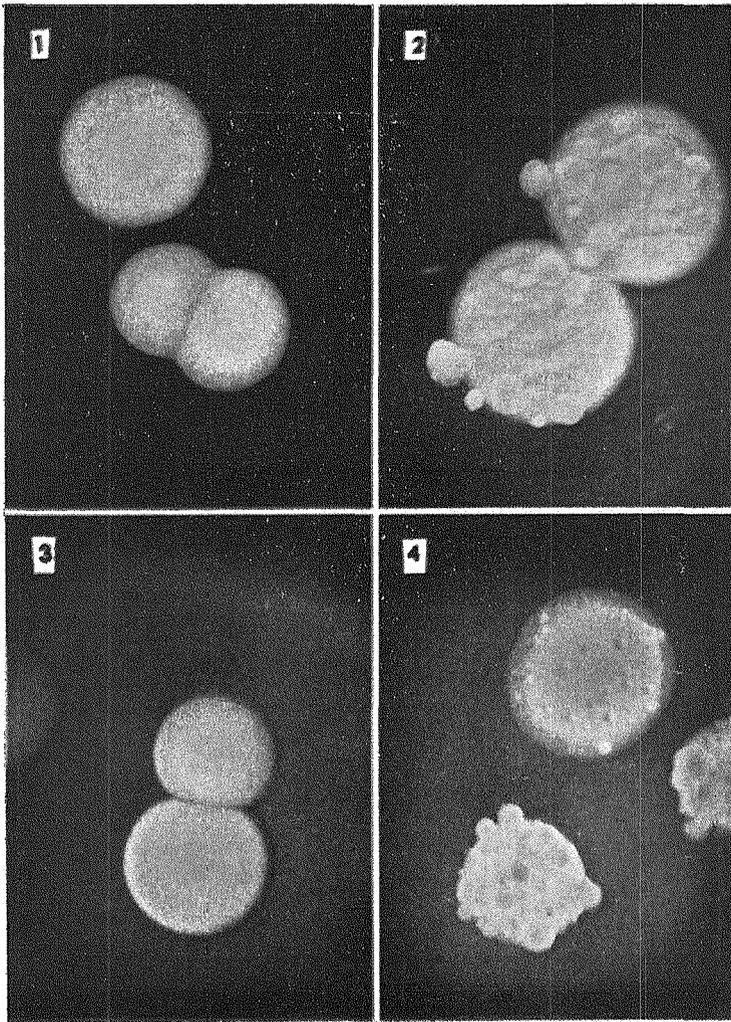


Fig. 50 — Aspectos culturais de *Br. suis*. 1: colônias S; 2: Colônias S com colônias filhas, após 25 dias de incubação; 3: colônias M; 4: colônias M com colônias filhas, após 25 dias de incubação. Meio de agar triptose; fotografias em cores naturais; iluminação transmitida oblíqua. Segundo HUDDLESON.

aos fenômenos genéticos, estudando-os detalhadamente, sempre baseado, na maior parte, em seus estudos sobre brucelas. Diz êle que os dados apresentados nesse seu trabalho indicam que a expressão descritiva “dissociação” — introduzida por DE KRUIF para as variações bacterianas relativas às modificações S-R (lisa-rugosa), e conseqüentes a alterações na antigenicidade, nas reações bioquímicas, etc. — é supérflua, já que êsses fenômenos podem ser explicados como devidos a mutação e seleção.

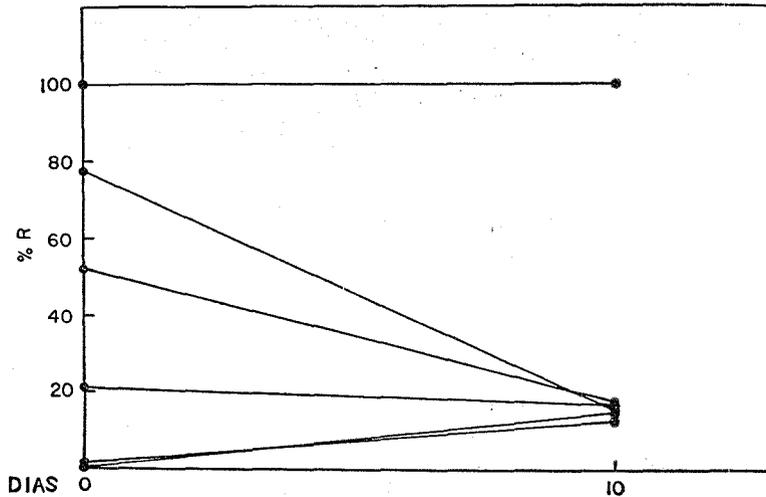


Fig. 51 — Porcentagem de células R em culturas de 10 dias, de *Br. abortus* em meio tamponado para evitar o acúmulo de alanina, inicialmente semeado com misturas, em várias proporções, de células S e R (As linhas a partir da sementeira inicial até 10 dias são esquemáticas e não representam os valores nos pontos intermediários, que apresentavam oscilações). Segundo BRAUN & Sols.

Neste mesmo ano de 1947, publica, em colaboração com BONESTELL, o trabalho, hoje clássico, em que estabelece as características dos principais tipos de variação e a maneira prática de reconhecê-los por meio da prova da tripaflavina, além do exame com luz transmitida, conforme propusera HENRY. A prova de ALESSANDRINI & SABATTUCCI, em lâmina, é muito mais prática do que como era feita anteriormente, em tubos. Essa prova, que chamou de microrreação, é executada da seguinte maneira:

- 1) Uma colônia isolada é emulsionada em lâmina, numa gota de solução salina fisiológica; escolher áreas da placa que mostrem colônias bem isoladas e não usar culturas de mais de 5 dias, porque as bactérias mortas dão resultados falsos;
- 2) Ao material emulsionado adicionar 1 gota de solução aquosa de acriflavina (tripaflavina) a 1/1000 e misturar com uma alça ou pequeno bastão;
- 3) Se a colônia é antigênicamente lisa, a emulsão continuará homogênea e, vista ao microscópio, os germes apresentam movimento browniano intenso; se não é lisa, formam-se grumos e aparece a flocculação, cujo aspecto é variável de acordo com o tipo de variação, desaparecendo o movimento browniano.

No trabalho de BRAUN & BONESTELL, as variantes descritas são ilustradas quanto ao tipo da colônia e ao aspecto observado com a reação da tripaflavina:

- a) No tipo S verdadeiro, as colônias aparecem lisas. A reação da acriflavina é tipicamente a das formas lisas. A amostra B-19 empre-

gada no fabrico de vacinas para o gado bovino deve apresentar essas características. Em algumas populações R, podem surgir colônias desse tipo S.

b) Tipos intermediários I são estabelecidos em certas populações S e R. Parecem compreender um grupo de mutantes que pode apresentar estreita semelhança com S e R. São, em geral, muito instáveis, isto é, são rapidamente suprimidos pelo aparecimento de mutantes S ou R. Ocasionalmente, entretanto, observam-se populações I que parecem ter um valor de seleção superior ao das populações S ou R e, assim, ficam predominantemente I. A reação da tripaflavina dá resultados variáveis com essas amostras.

c) Os tipos R são os das colônias rugosas típicas. A prova da acriflavina dá reação rugosa característica. As mutantes rugosas geralmente têm maior viabilidade *in vitro* do que os tipos S, e, assim, podem estabelecer-se, por si próprias em populações S.

d) Os tipos S<sup>R</sup> foram observados repetidamente, surgindo em populações R. Existem algumas evidências de que podem aparecer em populações S; as colônias são indiferenciáveis, morfológicamente, das colônias S, mas a reação da acriflavina é a de amostras tipicamente rugosas.

e) Os tipos mucóides M são variantes que surgem em populações S e R. As colônias do tipo M mais encontradas têm centro pardacento e bordos transparentes. As colônias velhas desse tipo perdem os bordos transparentes e ficam com uma aparência rugosa, de cor mais parda. Há um tipo M quase uniformemente transparente; outros, diferem na predominância de seus bordos transparentes e graus de coloração. Todos dão reação tipicamente mucosa à tripaflavina (formação de grumos aglutinados filamentosos).

f) O tipo S<sup>M</sup> é uma variante isolada de populações M. As colônias são difíceis de distinguir das colônias S mas a reação da acriflavina é tipicamente mucosa.

O seguinte quadro resume as observações de BRAUN & BONESTELL:

Fase da variação	Aspecto da colônia	Reação da tripaflavina
S	lisa	lisa
I	S ou R	variável
R	rugosa	rugosa
S <sup>R</sup>	lisa	rugosa
M	mucóide	mucóide
S <sup>M</sup>	lisa	mucóide

GOODLOW & Cols. estudando a variação quanto às propriedades antigênicas e tipos de colônias de *Br. abortus*, verificaram que as modificações na população durante o crescimento de culturas em meios líquidos sintéticos são controladas pela concentração de alanina que se acumula como produto final do metabolismo das células. Empregando

um meio sintético simples, sem alanina, BRAUN verificou que o aparecimento de amostras, dando variantes R e outras não lisas pelo aspecto das colônias e pelas propriedades antigênicas, em meios que tinham sido semeados com células de cultura S, ocorria como consequência do acúmulo de alanina que podia ser evidenciada por cromatografia em papel. Antes do aparecimento progressivo das formas R, havia diminuição ou estacionamento do número de formas S viáveis. A comprovação de que era realmente a alanina o agente responsável pôde ser feita, à vontade, pela adição de DL-alanina ao meio; as formas R eram mais resistentes aos efeitos tóxicos do ácido aminado do que as S. Continuando a formar-se alanina, outras variantes podiam ocorrer, com resistência ainda maior ao aminoácido. A seguir, GOODLOW & COLS. demonstraram que os efeitos desse catabolito sobre a variação em culturas de brucelas, quanto às propriedades antigênicas e aos tipos de colônias, eram devidos mais à forma D- do que à L-.

Investigações vinham sendo feitas no sentido de verificar as causas do aparecimento das variantes não lisas, além do acúmulo de alanina. BRAUN já havia demonstrado, em 1946, que existia no plasma e no sôro sanguíneo de bovinos um fator que evitava o aparecimento de variantes não lisas de *Br. abortus*, em culturas originariamente lisas, crescendo em caldo extrato (fator SS ou fator de seleção de formas S). Mais tarde, BRAUN verificou que êsse fator estava associado às globulinas (frações II e III-O). Estudos mais acurados, feitos por COLE & BRAUN, em 1950, demonstraram que a atividade seletiva do plasma bovino, evitando o aparecimento de variantes não lisas, devia-se à presença de duas proteínas existentes no plasma: uma gama-globulina e um componente que foi provisoriamente identificado como um complexo lipo-protéico. Foi então que COLE conseguiu purificar quimicamente o fator gama-globulina da fração II (Armor) e do sôro de bovinos; depois de purificado, êsse fator apresentava reações típicas de proteína e uma curva de sedimentação (ultra-centrífugo) característica duma proteína isolada. Muito importante, confirmando hipóteses anteriores, foi o fato de que quando o sôro sanguíneo de vacas vacinadas contra a brucelose era purificado dessa forma, nenhuma fração, tendo capacidade seletiva para evitar o aparecimento de variantes não lisas, podia ser isolada, enquanto os soros normais forneciam frações ativas.

Segundo BRAUN, diversas substâncias são capazes de neutralizar o fator SS existente no sôro normal de bovinos, de coelhos, de cobaia ou do homem, *in vitro*; essas substâncias são, por exemplo, albumina bovina (fração V), manganês, extrato de cérebro e extrato de embriões de pinto.

Verificou-se, também, que concentrações muito pequenas de pirofosfato são capazes de evitar o aparecimento de formas não lisas, fenômeno semelhante ao que se observa com os soros das espécies acima; êsse efeito do pirofosfato pode ser vencido se é juntado ao meio um excesso de íons Mn ou Mg.

Por sua vez, WARING & COLS., levantando a hipótese de que os efeitos dos íons Mg e Mn deviam ser indiretamente provocados por

alterações no conteúdo em ferro, do meio, fizeram experiências para comprová-la. Inicialmente, retiraram todos os traços desse cátion, do meio e dos recipientes; a seguir, adicionaram ferro em quantidades certas. Num meio sem ferro, em centenas de casos, as brucelas não mostraram alterações, enquanto bastava a adição de ferro para que todos os graus de modificações nas populações fôssem encontrados; a quantidade de alanina acumulada em meio sem ferro, depois do crescimento de *Br. suis* durante 12 dias, era extremamente pequena, em comparação com a encontrada nos meios com ferro. Nenhuma diferença significativa quanto a modificações nas populações ou no acúmulo de alanina foi notada em culturas sem ferro, comparadas com culturas em que os íons Mn e Mg tinham sido adicionados, um fato diverso das observações de BRAUN & COLE e de COLE, para esses íons, talvez explicável pela técnica usada por estes autores.

Um outro interessante fenômeno foi observado por BRAUN & Cols., relativamente aos efeitos da penicilina sobre as modificações genéticas em brucelas. Quando populações originariamente lisas de brucelas das 3 espécies eram repicadas em série, para caldo, contendo concentrações progressivamente maiores de penicilina, apareciam com rapidez modificações nas culturas, surgindo mutantes não lisas; esse efeito parece estar associado ao aumento de alanina durante o crescimento no meio contendo penicilina. Por outro lado, brucelas lisas e penicilino-resistentes manifestavam um fenótipo diferente, dependendo de terem crescido na presença ou na ausência de penicilina. Quando crescidas em meio com o antibiótico, apresentavam colônias não lisas e perda da virulência, o grau da modificação dependendo da amostra de brucela e da concentração da penicilina empregada. Esse efeito era reversível, pela aplicação de penicilinase, permitindo o aparecimento de colônias com centros não lisos e halos lisos formados por células lisas penicilino-resistentes, crescidas inicialmente em meio de agar com penicilina.

Contrastando com a relativa simplicidade dos trabalhos de BRAUN & Cols., que visam mais ao estudo sob o ponto de vista genético e dos fatores que condicionam as modificações, estão os trabalhos de HUDDLESON. Embora importantes, as pesquisas deste autor são passíveis de crítica porque dá êle importância exagerada às nuances de cor das colônias, além de outras características, multiplicando desnecessariamente os tipos de variação. Num de seus últimos trabalhos, por exemplo, cita nada menos de 18 tipos de colônias para *Br. abortus*, 34 para *Br. suis* e 19 para *Br. melitensis*. Afirma HUDDLESON não ser possível a reversão duma variante qualquer para o tipo S, ao contrário das observações de outros autores.

*Identificação, isolamento e manutenção de colônias S* — Anteriormente, já vimos que é de importância fundamental trabalhar-se com culturas de brucelas em formas S, quer para o preparo de antígeno, quer para o de vacinas.

Alguns dos meios de identificação das colônias S já foram citados. Espalhadas as brucelas em placas, de modo a obterem-se no máximo 200 colônias por placa, esta deve ser iluminada obliquamente, com luz

transmitida, observando-se logo as tonalidades características das colônias (Figs. 49, 50); também o contacto com um estilete permite ver a consistência butirosa das formas S, a friável das R e a pegajosa das M. A técnica de BRAUN & BONESTELL completará a identificação.

O melhor meio para a observação das colônias é o meio 2:1, de BRAUN, contendo glicerina (que intensifica as diferenças) e agar purificado (para evitar que certos detritos interfiram na boa visibilidade das colônias). A fórmula do meio é a seguinte:

Peptona Bacto .....	1,0 g
Cloreto de Sódio .....	0,5 g
Extrato de carne Bacto .....	0,5 g
Glicerina .....	2,0 g
Dextrose .....	1,0 g
Agar purificado Bacto .....	2,5 g
Água destilada .....	100 ml
pH 7.4 antes da autoclavagem	

Muitas vezes, o espalhamento das colônias não é perfeito; elas ficam muito próximas, confluentes, de modo a impossibilitar a observação de suas características ao microscópio entomológico; isso também exige bastante experiência para o reconhecimento dos tipos. Nesse caso, pode ser usada a técnica muito interessante de WHITE & WILSON, que consiste em espalhar a suspensão de brucelas em placas de agar Albimi com 2,5% de agar, 1% de dextrose e 5% de glicerina; as placas são deixadas a secar durante 24 horas para reduzir a umidade da superfície. A seguir, são incubadas durante 4 dias a 37°C, e então recobre-se a superfície de crescimento com solução aquosa de cristal violeta a 1/2.000, durante 15 segundos, apenas, sem agitar demasiadamente a placa para não levantar o crescimento. O corante é removido para um recipiente com desinfetante e as colônias são examinadas ao microscópio entomológico, com luz oblíqua transmitida. As colônias lisas são de cor verde-azulada clara, contrastando com o fundo violeta claro. As colônias não lisas aparecem vermelhas ou vermelho-azuladas. Nuanças de cor permitem identificar tipos de variação. Com o tempo, as colônias lisas vão tomando cor violeta-azulada mais escura, na periferia, mas a diferenciação ainda é nítida. A prova não interfere com a reação à tripaflavina e podem ser obtidos crescimentos a partir das placas assim tratadas. Alguns outros corantes podem ser usados mas não com a mesma nitidez diferencial.

HUDDLESON & BALTZER declaram ser possível diferenciar os tipos de variação de brucelas de acordo com o aspecto e a coloração das colônias crescidas em meio com sais de tetrazólio; mais tarde, HUDDLESON apresentou melhoramentos dessa técnica; estudos mais extensos poderão revelar a utilidade da mesma. É usada uma solução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio a 1%, esterilizada em autoclave; também podem ser utilizados o cloreto de neotetrazólio e o fosfato de neotetrazólio, em concentrações menores. Junta-se 1 ml da solução de cloreto de tri-fenil tetrazólio para 100 ml de agar triptose fundido e preparam-

se placas com o meio, na espessura de 5 mm; como a solução do sal é incolor, o meio terá côr normal; as placas devem ser incubadas a 37°C durante 20 horas, para evaporar o excesso de umidade da superfície. As colônias apresentam diferentes tonalidades de vermelho no centro (devido à redução do tetrazólio em formazana corada, no interior das células) e outras côres nas margens, conforme a espécie bacteriana ou a fase de variação em que se encontram. As placas devem ser incubadas durante 4 dias. Examinam-se as colônias da forma habitual, com luz transmitida oblíqua. As colônias tipo S de cada uma das 3 espécies apresentam as seguintes tonalidades:

*Br. abortus*: área central vermelho-brilhante e bordos de coloração verde-azulada clara;

*Br. suis*: área central vermelho-escuro, bordos de côr amarelo-claro opaca;

*Br. melitensis*: área central vermelho-claro, difundindo-se para os bordos que são de côr amarelo-avermelhada clara (Fig. 52).

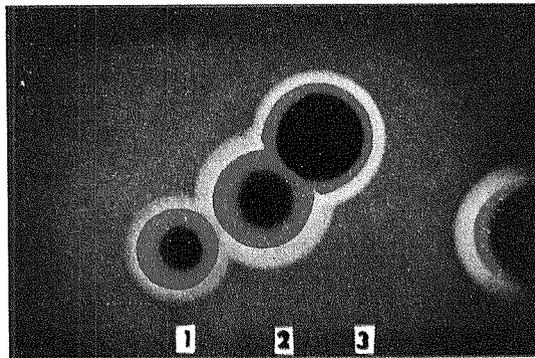


Fig. 52 — Colônias S de brucelas em meio de agar triptose contendo 0,1% de cloreto de trifenil-tetrazólio. 1 — *Br. abortus*; 2 — *Br. melitensis*; 3 — *Br. suis*. Iluminação oblíqua transmitida. Segundo HUDDLESON.

As colônias SI, R e M também apresentam diferenças de coloração na área central e nos bordos.

Na opinião de PICKETT & COLS., o exame cuidadoso das colônias e a prova da tripaflavina são muito superiores à prova de salino e termo-estabilidade, à prova com tetrazólio, de HUDDLESON, e à de cristal violeta, de WHITE & WILSON, para o reconhecimento de amostras não lisas de brucelas.

BRAUN & HOWELL imaginaram um dispositivo interessante que permite separar as brucelas em fase lisa contidas numa determinada suspensão. Baseia-se a técnica na filtração à pressão normal, através de uma placa de vidro filtrante, o que já descrevemos no tópico relativo à morfologia (Fig. 12). As brucelas não lisas, por serem salino-instáveis, aglutinam-se e não atravessam os poros do filtro, enquanto as lisas o fazem.

Um problema de solução mais difícil é o da manutenção das brucelas em fase lisa. Sendo sabido que a variação só pode ocorrer em consequência do crescimento, o melhor recurso seria o de efetuar repiques o menos freqüentemente possível, de preferência sem passar por meios líquidos, que facilitam muito as modificações. Além dêsse, alguns outros recursos podem ser empregados, de acôrdo com BRAUN: a) a maioria dos meios sólidos não apresenta as condições que determinam a seleção de variantes não lisas; portanto, é indicada a conservação das culturas em meios sólidos a 5°C, depois de 72 horas de crescimento a 37°C; b) quando fôr necessário semear em meios líquidos, juntar a êstes, sôro, sem aglutininas para brucelas, na proporção de 5%, de espécies animais bastante suscetíveis à brucelose (humano, bovino, de coelho, de cobaia, de porco e de gato). Não empregar soros de hamsters, ratos, camundongos e aves.

Segundo BRAUN, a liofilização das culturas também pode produzir modificações devidas à morte de diferentes tipos de brucelas; quaisquer mutantes com resistência mais elevada a êsse processo do que a cultura original, podem aumentar consideravelmente, em relação às lisas. BRAUN & Cols. observaram que culturas S, nas quais nenhum tipo "não S" podia ser encontrado (antes da liofilização), continham 1% de tipos "não lisos", após essa operação de secagem. BRAUN também sugere que a modalidade ideal de processo para a manutenção de culturas estáveis seria a conservação em presença de agentes bacteriostáticos mas não bactericidas (já foi visto que, pelo menos para a penicilina, isto seria contraproducente).

*Vacinas mucosas* — Ainda no que diz respeito à variação, é interessante assinalar que HUDDLESON estudou as possibilidades imunogênicas duma variante mucosa de *Br. suis*. A vacina viva feita com ela, é desprovida de patogenicidade e não engendra formação de aglutininas permanentes, mesmo nos animais vacinados, quando adultos. Contudo, o prazo de observação dessa amostra ainda é relativamente curto, para dizer-se de sua estabilidade quanto à falta de virulência. BRAUN chama a atenção para o fato de que vacinas vivas preparadas com um tipo M de *Br. suis* devem ser consideradas sob reserva, relativamente à variação. Quanto à amostra de *Br. abortus* 19, parece ter sofrido uma perda completa da capacidade de tornar-se virulenta (pelo menos falharam as experiências no sentido de aumentar ou restabelecer sua virulência). Apesar dessas observações de BRAUN, feitas em 1949, convém ter em vista que mesmo a amostra B-19 pode ser patogênica para o homem e para os animais domésticos, mas essa virulência é bastante atenuada; também a possibilidade de isolar-se dela uma variante patogênica pode ser considerada, pelo menos sob o ponto de vista teórico.

Ainda segundo BRAUN, um tipo M obtido de *Br. suis* ou de qualquer outra espécie virulenta representa uma forma que pode reverter aos tipos virulentos S, em condições adequadas. Julgamos que êsse inconveniente seria removido se, pelo menos, a vacina fôsse inativada, por exemplo, com luz ultra-violeta (como o fizeram SCHLINGMAN & Cols.) e mantivesse sua capacidade protetora.

Os resultados das últimas experiências com a vacina M, ainda não permitem conclusão satisfatória e, recentemente, BERMAN & IRWIN relatam os precários resultados obtidos com a vacina M de HUDDLESON em comparação com a B-19, na infecção experimental de bezerros. A conclusões semelhantes, chegou Woods, embora reconhecendo uma série de vantagens nesse tipo de vacinas; os seus trabalhos desenvolveram-se durante cêrca de 6 anos, em bovinos pertencentes a rebanhos naturalmente infectados.

#### R — DIFERENCIAÇÃO ENTRE AS ESPÉCIES OU TIPOS DE BRUCELAS

A diferenciação entre as espécies ou tipos de brucelas reveste-se de importância. Com a descoberta das brucelas do boi e do porco, três germes ficaram conhecidos, além da brucela da cabra, primeiro vista. Reunidas por MEYER & SHAW em um só gênero, alguns bacteriologistas adicionaram ao mesmo outra espécie, a *Br. bronchiseptica*, que já vimos dever ser excluída do grupo.

A princípio, como se viu no histórico, não se pensava na aproximação entre os vários germes. Chamada a atenção para o assunto por ALICE EVANS, reuniram-se as três brucelas numa única espécie, a *Br. melitensis*, com duas variedades: *abortus* e *suis*. A admissão de várias espécies de brucelas implica no conceito de espécie, em que se debatem, ainda, zoólogos e botânicos sistematicistas e, com êstes, os microbiologistas. No estado atual da questão, há elementos favoráveis e contrários à separação em espécies diferentes no grupo das brucelas.

Quer seja considerada uma só espécie, com vários tipos, quer consideremos espécies distintas, a diferenciação torna-se necessária, em alguns casos.

Antes de estar bem firmado em bases experimentais que qualquer das espécies ou tipos era capaz de produzir a doença humana ou em animais distintos daqueles onde são de ordinário encontradas, a importância da diferenciação era maior.

A epidemiologia dos casos humanos de brucelose pôde ser traçada, muitas vêzes, pela exata identificação da espécie de brucela. Assim, por exemplo, isolada a *Br. melitensis* e perfeitamente caracterizada esta, seria muito difícil afirmar-se ter o enfêrmo contraído a doença no Brasil, onde a infecção caprina por *Br. melitensis* parece desconhecida, até o momento.

Ainda para o tratamento e prognóstico, constitui um dado, até certo ponto de importância, a identificação da espécie causadora, porque a *Br. melitensis* produz os casos mais graves, a *Br. suis* determina lesões ósseas rebeldes ao tratamento e a *Br. abortus* é, de tôdas, a que causa doença de curso mais insidioso, embora de menor gravidade.

Desde que foi reconhecido serem as brucelas pertencentes a mais de uma espécie, imediatamente intensificaram-se as pesquisas tendentes a revelar diferenças que pudessem utilizar-se praticamente nos

trabalhos bacteriológicos. Revisões antigas, mas bastante interessantes foram feitas por MEYER & EDDIE e OLITZKI & BROMBERG, que citaram várias técnicas propostas, até 1931, para essa finalidade. Grande lista de métodos é encontrada em MAZZETTI & TESI.

Não há dúvida que apresentam elas diferenças entre si, mas exibem, tôdas, por outro lado, similitudes que as tornam, a bem dizer, indistinguíveis.

Não é nosso intento revisar aquelas técnicas passíveis de serem empregadas na indentificação. Antes, mesmo, de comentar as principais, é útil reunir, num quadro, as que, no consenso geral, constituem as melhores, até o momento. Assinale-se que nenhuma das provas, vista isoladamente, tem valor seguro. Também convém ressaltar as importantes contribuições de PICKETT & Cols., simplificando e padronizando as técnicas a serem utilizadas.

*Provas importantes na diferenciação de Brucelas*

<i>Prova</i>	<i>Br. abortus</i>	<i>Br. suis</i>	<i>Br. melitensis</i>
Crescimento em presença de			
Tionina.....	0	+	+
Fucsina.....	+	0	+
Pironina.....	+	0	+
Violeta de metila.....	+	0	+
Atividade ureásica.....	+	+++	+ ou ++
Exigência de CO <sub>2</sub> para o isolamento inicial.....	+	0	0
Produção de H <sub>2</sub> S.....	+ ou ++	+++ (americana) 0 (dinamarquesa)	0 ou +
Carbanato (DEDTC).....	+	++	+++
Patogenicidade para cobaias (formação de abscessos)...	+	+++	++
Fermentação de hidratos de carbono			
Inositol.....	+	0	0
Maltose.....	0	+	0
Ramnose.....	+	0	0
Trealose.....	0	+	0
Sensibilidade a nitritos.....	0	0	+

1 — *Crescimento em presença de corantes*

Desde muito se verificou que certas amostras de brucelas cresciam mal, ou não cresciam de todo, em presença de determinados corantes juntados aos meios de culturas, em proporções adequadas. MEYER & ZOBELL, em 1932, empregando meio semi-sólido adicionado de corantes, haviam tentado a separação, com resultados promissores.

A utilização dessa característica para a diferenciação entre as espécies de brucelas deve-se a HUDDLESON, que efetuou uma série de pesquisas minuciosas com essa finalidade. Num trabalho inicial, em colaboração com ABELL, verificou serem mais importantes, a fucsina básica, a tionina, a pironina e a violeta de metila. Mais tarde, foi notado que apenas os dois primeiros corantes eram suficientes para a identificação da maior parte das amostras.

Alguns requisitos são necessários para a realização da prova. Os corantes devem ser padronizados (HUDDLESON recomenda os da "National Aniline and Chemical Co. Inc.") e em soluções estoques a 0,1% em água destilada estéril, conservando-se utilizáveis por dois meses, no máximo; aquecer, em vapor fluente, durante 20 minutos, imediatamente antes de usar. Também pode ser feita uma solução estoque alcoólica a 1%, que é diluída convenientemente antes do uso.

Embora os trabalhos iniciais tenham sido feitos com meio líquido, logo depois as provas passaram a ser feitas em meio sólido, ao qual se incorporava o corante. Um problema sério na execução da prova reside na concentração final, de acôrdo com o meio utilizado: HUDDLESON, trabalhando com agar triptose, aconselha a concentração final de corante a 1/100.000. Com outros meios, a concentração é variável. É aconselhável, embora mais trabalhoso, fazer placas de meios com três concentrações diferentes de corantes: 1/50.000, 1/100.000 e 1/200.000. ARDREY afirma que a ação bacteriostática da fucsina básica e da tionina sobre as brucelas é influenciada pelo pH do meio e pela concentração de peptona.

O meio de cultura é fundido em banho-maria e entornado em placa estéril que deve conter a quantidade de solução do corante necessária para a concentração desejada (por exemplo: 0,1 ml de solução a 0,1% e 10 ml de meio, para a concentração final de 1/100.000). Mistura-se bem e deixa-se a placa na estufa para evaporar o excesso de água de condensação, depois da gelificação do meio. Para economia de meio, quando se trata de várias amostras a provar, divide-se a superfície da placa em setores, traçados no fundo da mesma com um lápis dermográfico, numerando-se cada setor. Para uma identificação perfeita, contudo, é conveniente dividir apenas em quatro setores (quadrantes) e semear em três dêles amostras típicas de cada uma das três espécies e no outro setor a amostra em exame.

A semeadura é feita por um pequeno traço ou esfregaço de alça, prèviamente introduzida na cultura em meio líquido, ou na suspensão em água, de cultura retirada de meio sólido. Deve-se ter cuidado em não semear excesso de germes porque a ação impediante dos corantes nem sempre se efetua sobre demasiado número de brucelas, as quais, neste caso, poderiam apresentar crescimento exíguo mas suficiente para dificultar a leitura ou a interpretação dos resultados. As placas são incubadas a 37°C durante 72 horas, no ar atmosférico ou em presença de 10% de CO<sub>2</sub>, quando há suspeita de se tratar de *Br. abortus* recentemente isolada. A leitura é feita com facilidade, anotando-se a ausência

ou a presença de crescimento; para os casos duvidosos, fazer incidência oblíqua de luz sobre a superfície da placa. Numa prova típica, os resultados são os seguintes:

<i>Brucella</i>	Tionina	Fucsina
<i>melitensis</i>	Cresce	Cresce abundantemente
<i>abortus</i>	Não cresce	Cresce abundantemente
<i>suis</i>	Cresce abundantemente	Não cresce

Essas diferenças, no entanto, nem sempre são regulares. O próprio HUDDLESON, provando amostras de várias origens, encontrou algumas comportando-se irregularmente. Também tivemos oportunidade de experimentar essa prova de bactério-impediência com corante em dezenas de amostras de coleção e os resultados foram, muitas vezes, irregulares.

É interessante referir que certos lotes de triptose são, por si sós, impiedantes ao crescimento de brucelas, devendo isto ser levado em consideração ao se realizar a prova, conforme assinalam RITA & della VIDA.

HUDDLESON refere ter visto 15 amostras de origem humana, bovina e eqüina, isoladas nos Estados Unidos e na França, as quais não se comportavam em presença da tionina e da fucsina como nenhuma das espécies ou tipos conhecidos de brucelas (caprina, bovina ou suína), pois que não cresciam nas placas, mesmo usando concentrações mais fracas do que 1/100.000. Realizando outras provas (saturação de aglutininas e propriedade sulfidrígena), as 15 amostras se revelaram do tipo bovino.

Apesar da prova de bactério-impediência clássica ser bastante simples, torna-se trabalhosa e dispendiosa, quando se trata de testar várias amostras ao mesmo tempo. Por isso, modificações têm sido propostas. As mais interessantes são as de CRUICKSHANK, as de VERNA & Cols. e as de PICKETT & Cols.

O método de CRUICKSHANK é bastante rápido e econômico, utilizando tiras de papel de filtro impregnadas com corante, e que podem ser conservadas por muito tempo. Cortam-se tiras de papel de filtro medindo 6 cm x 0,5 cm, colocam-se em placas de Petri e esterilizam-se em autoclave. Cada tira é segura com uma pinça estéril e uma extremidade é mergulhada na solução aquosa do corante, que rapidamente satura o papel. As tiras são recolocadas na placa e dessecadas a 37°C na estufa, dum dia para o outro; podem ser conservadas nas placas ou em frascos, sendo utilizáveis durante prazo indefinido. As concentrações de corante que foram vistas satisfatórias para a impregnação dos papéis foram as seguintes: tionina 1/600, fucsina básica 1/200, violeta de metila 1/400 e pironina 1/600. No momento de usar, as tiras impregnadas de corante e dessecadas são colocadas paralelamente na superfície de uma placa de meio sólido (utilizou êle agar-fígado); em seguida, um tubo dêsse meio de cultivo (12 ml), previamente fundido e resfriado a 50°C, é entornado sobre a superfície da placa e das tiras. Quando o agar se gelifica, a placa é posta a secar na estufa a 37°C. Suspensões da brucela a provar, e de amostras conhecidas das 3 espé-

cies (o que é essencial), são preparadas, adicionando-se 1 ml de caldo a um tubo de agar inclinado em que se desenvolveram por dois dias as amostras. A placa de meio que contém as tiras com corantes é previamente marcada em setores com lápis dermatográfico e inclinada ligeiramente, sendo semeada com a suspensão de brucelas por meio de uma espátula de cerca de 8 mm de largura em estrias, formando ângulo reto com as tiras de papel. Deixa-se secar o espalhamento das culturas e incuba-se a 37°C em atmosfera com 10% de CO<sub>2</sub>, examinando-se com 2 e 3 dias. Em geral, os resultados são nítidos no fim de 2 dias. Até 6 amostras podem ser provadas em cada placa de 10 cm de diâmetro, mas é melhor utilizar apenas 4 (Fig. 53).

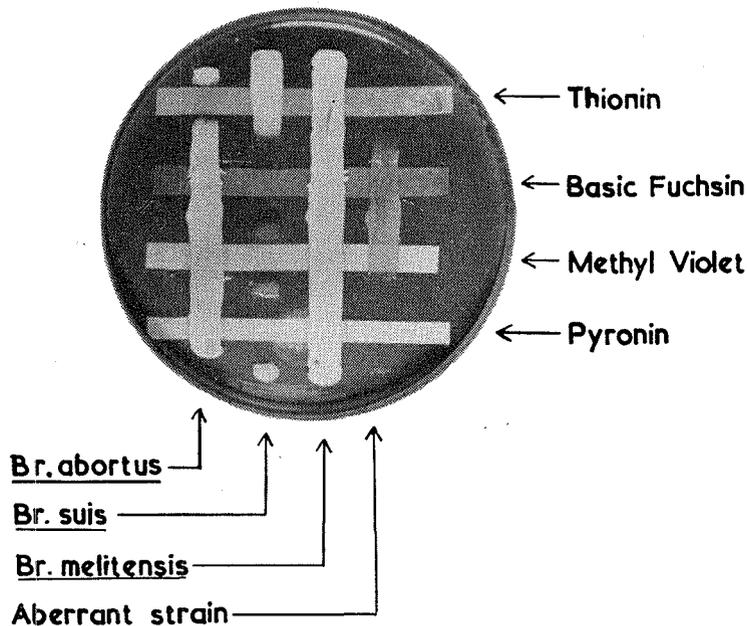


Fig. 53 — Diferenciação entre as espécies de *Brucella* por meio de tiras de papel de filtro impregnadas com corantes. Segundo CRUICKSHANK.

A maioria das amostras de *Br. abortus* é inibida pela tionina mas cresce em presença dos outros corantes; algumas amostras da Rodésia do Sul apresentaram resistência maior à tionina, enquanto pequeno número de amostras mostrou-se suscetível a todos os corantes. A maioria das amostras de *Br. melitensis* cresce em presença de todos os corantes, observando-se, às vezes, sensibilidade à pironina e, mais raramente, à tionina e à violeta de metila; as amostras de *Br. melitensis* que são sensíveis à tionina também o são à violeta de metila e, por isso, convém não omitir na prova este corante. *Br. suis* só cresce em presença de tionina; as amostras de origem dinamarquesa são mais sensíveis, para todos os corantes, que as americanas mas não são menos sensíveis à tionina do que aos outros corantes.

CRUICKSHANK fez estudos comparativos entre a técnica de papel de filtro e a comum, em placa, chegando à conclusão de que os resultados são idênticos.

VERNA & Cols. estudaram inicialmente a ação de diversos corantes sobre o desenvolvimento de brucelas, utilizando a técnica de discos de papel de filtro, impregnados com corantes e depositados sobre a superfície do meio. A seguir, aproveitaram sua experiência, no sentido de obter a diferenciação entre as espécies. Utilizaram o meio de agar-batata (glucose — 10 g, infuso de batata — 1 litro, agar — 20 g, peptonas — 10 g, extrato de carne — 5 g, glicerol — 20 ml; pH final 6.8; misturar tudo, menos a glucose, a pH 7.2; autoclavar a 115°C durante 5 minutos; filtrar em papel; juntar glucose; acertar o pH a 6.8 e esterilizar a 115°C durante 20 minutos). Os discos de papel de filtro (Whatman n.º 44) eram de 15 mm de diâmetro e esterilizados em autoclave. As soluções do corante eram recentemente preparadas. Faziam suspensões de cultivo de brucelas e depositavam 0,1 ml da mesma na superfície do meio distribuído em placa de Petri; a seguir, espalhavam a cultura em toda a superfície com o auxílio de alça de vidro, deixando a placa semi-aberta para evaporar a água de condensação. Um disco de papel de filtro era, então, depositado no centro da placa e, imediatamente, colocados sobre ele 0,05 ml da solução de corante a provar. As placas eram incubadas a 37°C durante 48 horas, após o que se faziam as leituras; estas consistiam na observação da inibição do desenvolvimento em torno do disco. Mais de um disco podem ser colocados em cada placa. VERNA & Cols. experimentaram numerosas substâncias corantes, em diferentes concentrações, chegando à conclusão de que as únicas úteis para uma diferenciação entre as espécies são as seguintes: tionina, fucsina básica, verde de malaquita, violeta de metila, violeta de genciana e tripaflavina; esta última substância permite diferenciar *Br. melitensis* das outras espécies. Os resultados, em resumo, são os seguintes:

	Tionina 1/10 000	Fucsina básica 1/1 000	Verde de malaquita 1/10 000	Violeta de metila 1/10 000	Violeta de genciana 1/10 000	Tripaflavina 1/10 000
<i>Brucella</i>						
<i>abortus</i>	Não cresce	Cresce	Cresce	Cresce	Cresce	Não cresce
<i>suis</i>	Cresce	Não cresce	Não cresce	Não cresce	Não cresce	Não cresce
<i>melitensis</i>	Cresce	Cresce	Cresce	Cresce	Cresce	Cresce

As dificuldades para padronização, estabilidade e concentração dos corantes, bem como dos meios a usar, parecem ter sido removidas com a técnica proposta recentemente por PICKETT & Cols., após estudos comparativos com os métodos de tiras e discos de papel de filtro, vistos acima. São utilizados tabletes (de fosfato dicálcico — 88 partes, amido — 10 partes, goma acácia — 2 partes e traços de estearato de cálcio) contendo, de mistura com o excipiente, o corante em concentrações adequadas — tionina: 1/800, fucsina básica: 1/200, cristal violeta: 1/400, pironina: 1/8.000. Os tabletes não necessitam de esterilização antes do uso, tendo duração aparentemente indefinida (são preparados por "Medical Re-

search Specialities, California”, nos Estados Unidos e pela “Roskilde Medical Co., Roskilde”, na Dinamarca). PICKETT & Cols. insistem que não devem ser apenas usadas a tionina e a fucsina básica. Para a realização da prova, semeia-se a amostra a provar na superfície do meio apropriado (agar Albimi com 0.0001% de nicotinamida e de tiamina, e 0,0004% de hemina, por exemplo). Suspensões espessas de culturas de 48 a 72 horas em meio sólido são semeadas em 4 estrias retas, paralelas, na superfície do meio, usando alça de 4 mm de diâmetro para cada estria. Um tablete de cada corante é colocado perto da extremidade de cada estria, alternadamente (Fig. 54).

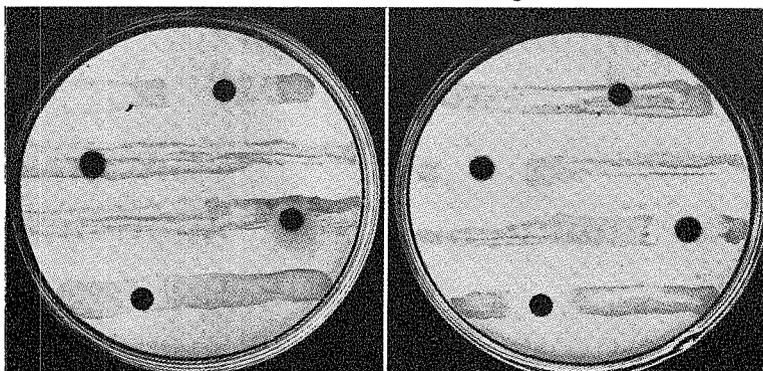


Fig. 54 — Diferenciação entre as espécies de *Brucella* por meio de tabletes com corantes. À esquerda, *Br. abortus*; à direita, *Br. suis*. De cima para baixo: tionina, fucsina, cristal violeta e pironina. Segundo PICKETT & Cols.

Para melhores resultados, PICKETT & Cols. aconselham deixar as placas semeadas com tabletes na geladeira a 4°C, dum dia para outro (14 a 16 horas), para permitir difusão dos corantes no meio, antes do crescimento dos germes. As placas são incubadas durante 48 horas a 35°C em atmosfera com 10% de CO<sub>2</sub>; a sensibilidade aos corantes é avaliada em milímetros de inibição da margem do crescimento até a periferia do tablete.

BENDTSEN confirma os excelentes resultados obtidos com os tabletes de fabricação dinamarquesa, semelhantes aos usados por PICKETT & Cols., e declara que o método significa um progresso decisivo na tipificação das espécies de brucelas.

Para finalizar êstes comentários sôbre a prova bacterio-impediente dos corantes para brucelas, convém referir que o mecanismo íntimo da inibição das brucelas pelos corantes não era bem conhecido. HOYER sugeriu, mesmo, que poderia êle ser melhor estudado com as técnicas de medida da respiração bacteriana com células lavadas. Um primeiro passo no sentido da elucidação da cromobacteriostase foi dado recentemente por CAMERON & MEYER. De início, estudaram comparativamente o efeito de certos grupamentos químicos sôbre o crescimento das três espécies de brucelas; três dos principais grupamentos químicos dos corantes sintéticos que são estruturalmente relacionados: quinona-imi-

da, fenil-metana e xanteno foram ensaiados; não pareceu, pelas experiências feitas, que a estrutura química do corante fôsse responsável pela variação específica observada no crescimento. No grupo quinonimidada (tionina, azul de metileno, etc.), os compostos eram mais tóxicos para *Br. abortus* e *Br. suis* (exceto tionina) do que para *Br. melitensis* que pareceu, por sua vez, ser inibida em doses menores do que as necessárias para as outras duas espécies, pelos corantes do grupo xanteno (de que faz parte a pironina). A seguir, foi investigada a possibilidade da tionina inibir a atividade sulfidrígena de *Br. suis*. Verificou-se, então, que a tionina era realmente capaz de inibir uma enzima (disulfidrase) aparentemente existente em brucelas; o ácido glutâmico impedia a inibição do crescimento de *Br. suis* pela tionina, justamente um dos aspectos sugeridos por HOYER, como dignos de investigação.

Um problema que parece em vias de solução, quanto à diferenciação das espécies de brucelas, é o que se refere à *Br. abortus* amostra B-19, utilizada como vacina. Sob o ponto de vista epidemiológico, é extremamente importante verificar se amostras de *Br. abortus* isoladas sem exigência de CO<sub>2</sub> são as utilizadas na vacinação do gado. McLEOD verificara a maior sensibilidade dessa amostra ao azul de tionina.

LEVINE & WILSON propuseram uma prova de inibição pela tionina, capaz de diferenciar B-19 das outras amostras de *Br. abortus*.

CRUICKSHANK & MADGE simplificaram muito a prova, utilizando

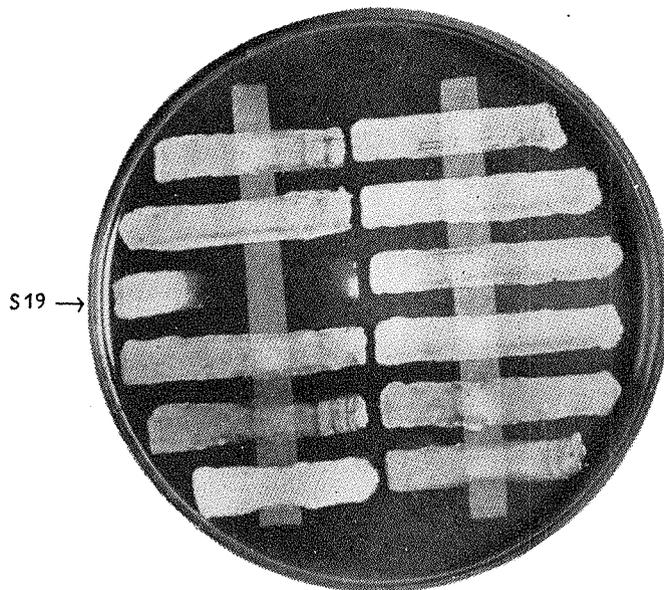


Fig. 55 — Diferenciação de *Br. abortus* amostra B-19, por meio do azul de tionina (método do papel de filtro). As outras amostras são de *Br. abortus*. Segundo CRUICKSHANK & MADGE.

tiras de papel de filtro impregnadas com solução de azul de tionina a 1/600, de acôrdo com a técnica já descrita antes. A amostra B-19 é im-

pedida pelo corante, enquanto as outras não o são. A prova parece bastante "específica" e sensível, porque de tôdas as amostras de *Br. abortus* ensaiadas, aquelas que foram inibidas de maneira até certo ponto semelhante à inibição apresentada por B-19 foram as que se mostraram sensíveis a todos os corantes usados na prova de bactério-impediência. Em resumo: se uma amostra suspeita de *Br. abortus* não é inibida pelo azul de tionina, não é a B-19. Se cresce sem CO<sub>2</sub> adicional logo no isolamento e é fortemente inibida pelo azul de tionina e não o é pela fucsina básica ou violeta de metila, *pode* ser a amostra B-19. (Fig. 55).

## 2 — Atividade ureásica

De tôdas as provas recentemente propostas para a diferenciação entre espécies de brucelas, destaca-se a da atividade ureásica que permite rápida separação de *Br. suis*. A prova tem sua importância em nosso meio, porque, só ocorrendo aqui, comumente, as espécies *Br. abortus* e *Br. suis*, a diferenciação entre ambas é extremamente precisa e segura, por meio dessa prova. As exceções verificadas só ocorrem com algumas amostras de *Br. melitensis* que podem comportar-se como *abortus* ou *suis*.

Já era conhecido que as brucelas hidrolisavam a uréia, conforme haviam verificado, entre outros, PUSCHL; WOHLFEIL & WEILAND; WOHLFEIL & WOLLENBERG. Mais tarde, em 1950, MORSE & WHITE, trabalhando com 120 amostras de *Br. abortus*, 20 de *Br. suis* e 8 de *Br. melitensis*, verificaram que tôdas manifestavam forte atividade ureásica. Os autores, contudo, não procuraram estabelecer diferenças nessa atividade.

Numa tese da Universidade de Minesota, BAUER expôs, em 1949, os resultados a que chegara em seus trabalhos com urease de brucelas e proteus. No mesmo ano, em setembro, HOYER divulgava suas pesquisas sobre tal assunto, propondo o uso da atividade ureásica para a diferenciação de *Br. abortus* das outras duas espécies.

Por essa época, também fazíamos experiências com a medida da atividade ureásica, o que permitiu a separação nítida de *Br. suis* das outras duas espécies. A prova se baseia no fato de que *Br. suis* apresenta uma atividade ureásica intensa, ao passo que *Br. abortus* hidrolisa a uréia com muita lentidão. O comportamento de *Br. melitensis* varia de acôrdo com a procedência das amostras.

Para provas feitas segundo a técnica de BAUER, usa-se uma mistura de solução de 5% de uréia com outra de fosfato de sódio (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) M/8, ajustando o pH a 4.0 com ácido clorídrico a 10%; à mistura, adiciona-se 0,0015% de vermelho de fenol como indicador. Uma alça de 2 mm de diâmetro, cheia de brucelas, crescidas em agar triptose durante 48 a 72 horas, é emulsionada em 1 ml da mistura do substrato. Incuba-se em banho-maria a 37°C. Quando a uréia é hidrolisada, a amônia formada modifica o pH da solução do substrato, até que o vermelho de fenol se torne róseo ou vermelho. O tempo necessário para que se efetue a modificação de côr é medido e usado como um índice da atividade ureásica.

BAUER verificou que *Br. abortus* levava de 2 a 8 horas para dar uma prova positiva, enquanto as outras espécies davam provas positivas de 15 a 60 minutos.

HOYER utilizou técnica bem mais precisa, medindo a quantidade de CO<sub>2</sub> desprendido, por meio da técnica manométrica de Warburg. *Br. suis* produziu maior quantidade que as outras duas, enquanto *Br. abortus* foi a que menos produziu, e *Br. melitensis* ocupava situação intermediária.

PACHECO & THIAGO DE MELLO fizeram provas semelhantes às que se utilizam na diferenciação de enterobactérias, sempre com resultados bastante uniformes, indicando maior atividade ureásica de *Br. suis*. Também por meio duma tira de papel de filtro, impregnada de vermelho de fenol e pendendo da boca do tubo, verificaram maior e mais pronta produção de amônia, com viragem do indicador no papel de filtro, com as amostras de *Br. suis*. Com o meio sólido de CRISTENSEN, os resultados foram muito nítidos e bastante práticos para a diferenciação de *Br. suis*. O meio é distribuído em tubos de 16 mm x 160 mm, com um bisel de cerca de 3 cm de comprimento e um fundo de cerca de 2 cm de altura; a superfície do meio torna-se imediatamente vermelha, quando se espalha uma alça de cultura de *Br. suis* sobre o bisel, enquanto que essa modificação de cor só se processa no fim de muitos minutos, ou, mesmo, horas, com *Br. melitensis* e *Br. abortus*. A observação prolongada dos tubos mostra que todas as amostras de *Br. suis* produzem modificações de cor muito mais intensas e rápidas do que as outras espécies; a cor vermelha penetra mais profundamente no meio do que com as amostras de *Br. melitensis* e *Br. abortus*.

Divulgados os trabalhos de BAUER, de HOYER, e de PACHECO & THIAGO DE MELLO, vários grupos de pesquisadores ensaiaram a prova de urease com numerosas amostras de brucelas.

FOSTER, em estudo sobre inibição da urease por soros específicos para brucelas, chegou à conclusão que realmente era a *Br. suis* a que possuía a maior atividade ureásica. Também verificou que lavagens repetidas dos germes em solução salina, aparentemente removem a urease. Em todos os tipos de experiências feitas por FOSTER, os resultados sempre indicaram maior atividade ureásica em *Br. suis*, com a medida do pH resultante da produção de amônia:

*Elevação da alcalinidade, em unidades de pH, ao fim de duas horas*

	Germes sem soro	Germes com soro normal de coelho, diluído a 1/10	Germes com soro de coelhos imunizados com brucelas
<i>Br. abortus</i>	1.42	1.1	Inibição de atividade ureásica durante 2 horas
<i>Br. melitensis</i>	1.62	1.4	Idem
<i>Br. suis</i>	2.1	1.8	Idem somente durante 10 a 20 minutos

A seguir, em 1951, RENOUX & QUATREFAGES comparam a prova da urease com as da bactério-impediência com os corantes, produção de  $H_2S$  e cultivo em meio de Petragnani. Seus resultados aproximaram-se mais dos de BAUER, porém confirmaram o que haviam visto PACHECO & THIAGO DE MELLO, que a mesma quantidade de uréia é hidrolisada rapidamente por *Br. suis* e mais lentamente por *Br. abortus*. Para a *Br. melitensis*, os resultados aproximaram-se mais de *Br. suis*, ao contrário do que haviam verificado PACHECO & THIAGO DE MELLO. Admitem RENOUX & QUATREFAGES a hipótese de que as diferenças com *Br. melitensis* fôssem devidas a diferenças relacionadas com os países de origem das amostras, fato que foi confirmado mais tarde por SANDERS & WARNER.

Estas duas pesquisadoras, trabalhando no Laboratório de HUDDLESON, fizeram investigações especialmente destinadas a verificar a eficácia da prova de urease na identificação das amostras de brucelas. Embora chegando, em princípio, aos mesmos resultados de BAUER e de PACHECO & THIAGO DE MELLO, concluíram que "a medida da atividade ureásica das brucelas não pode ser usada como auxiliar na diferenciação das 3 espécies de *Brucella*".

Apesar dessa afirmativa, contrária à própria evidência experimental das autoras, que afirmam em certo ponto ser a atividade ureásica de amostras de *Br. suis* aproximadamente 10 vezes maior do que a de *Br. abortus* e que cerca de 1/3 das amostras de *Br. melitensis* aproximavam-se de *Br. suis* e os outros 2/3, de *Br. abortus*, a prova da urease continua a ser usada por toda a parte e foi, mesmo, recomendada nas reuniões do Grupo de Peritos em Brucelose da FAO/WHO, em 1950 e 1952.

Trabalho importante para a apreciação do valor da prova foi feito por PICKETT & Cols., ao compararem a sensibilidade aos corantes, de espécies do gênero *Brucella*. Concluíram dizendo que "das diversas provas bioquímicas empregadas na diferenciação, a da hidrólise da uréia foi particularmente útil. Nas condições da experimentação (meio de RUSTIGIAN & STUART, distribuído em volume de 1 ml em tubos e semeado com aproximadamente 10 milhões de germes), todas as amostras de *Br. suis* deram provas positivas em 15 minutos, enquanto nenhuma amostra de *Br. abortus* ou *Br. melitensis* deu prova positiva em menos de 55 minutos. Os resultados estão em completo acôrdo com os de PACHECO & THIAGO DE MELLO, os quais também verificaram, que amostras de *Br. suis* davam provas de urease muito mais rápidas do que as das outras duas espécies".

FOSTER estudou a produção da urease por brucelas, em função da sua concentração, medindo o  $CO_2$  desprendido, no aparelho de Warburg. Seus resultados confirmaram que *Br. suis* era mais ativa, enquanto a *Br. abortus* era a menos ativa. Duas amostras de *Br. melitensis* foram menos ativas do que *Br. abortus* e uma desta última espécie foi tão ativa quanto a mais ativa amostra de *Br. melitensis*.

Num outro trabalho, PICKETT & Cols. examinaram mais detalhadamente a prova da urease comparativamente a outras, em 232 amostras de brucelas. Usaram, em linhas gerais, a técnica de RUSTIGIAN &

STUART. Das amostras ensaiadas, 214 mostraram características bem definidas das 3 espécies de brucelas. Declararam que tanto a prova da uréia quanto a do carbamato (recentemente experimentada) são práticas e fáceis de executar, para a identificação das espécies de brucelas; com raras exceções, apenas as amostras de *Br. suis* dão prova de urease fortemente positiva.

Também na Argentina, a prova da urease para a diferenciação de *Br. suis* foi experimentada por CEDRO que declara o seguinte: “os resultados concordam com os alcançados por PACHECO & THIAGO DE MELLO, já que as amostras de *Br. suis* mostram capacidade e rapidez para hidrolisar a uréia superiores às das outras duas espécies”. Examinou 54 amostras de *Br. abortus*, 20 de *Br. suis* e 16 de *Br. melitensis* e concluiu que suas investigações permitiam afirmar “ser a prova da urease, sem dúvida, um método rápido, prático e sensível para diferenciar *Br. suis* das outras espécies de brucelas e autorizavam a recomendar seu uso, combinando-a com outros métodos diferenciais”.

É interessante assinalar os tempos máximos e mínimos em que ocorreu a viragem do meio de FERGUSON & HOOK, modificação de ANDERSON, distribuído no volume de 2 ml em tubos de 10 x 120 mm; conforme pode ser visto, a média dos tempos de viragem com *Br. abortus* foi inferior à obtida com *Br. melitensis*. A nitidez com relação à *Br. suis* é extraordinária:

<i>Brucella</i>	Média	Limites	
		Mínimo	Máximo
<i>suis</i>	1 min. e 8 seg.	30 seg.	6 min.
<i>melitensis</i>	75 min.	15 min.	143 min.
<i>abortus</i>	40 min.	14 min.	280 min.

Em virtude das divergências quanto ao comportamento de *Br. melitensis* na prova de urease, SANDERS & WARNER fizeram uma investigação no sentido de avaliar até que ponto amostras de diversas regiões do globo podiam diferir quanto à capacidade de hidrolisar a uréia. Usaram o meio sólido de CHRISTENSEN. Resultado bastante interessante foi obtido com as 84 amostras de *Br. melitensis* com que trabalharam. As amostras isoladas nos Estados Unidos apresentaram atividade ureásica muito mais intensa, semelhante à da *Br. suis* (daí os resultados de BAUER e, depois, os de SANDERS & WARNER em seu primeiro trabalho). Já as amostras de reduzida atividade haviam sido isoladas fora dos Estados Unidos. Em têrmos de miligramas de uréia decomposta por 10 bilhões de germes em 30 minutos a 20°C, os resultados foram os seguintes, em média:

	Uréia decomposta mg
Estados Unidos (Centro e Leste) . . . . .	2,6
França (8 das 10 amostras examinadas) . . . . .	3,9
Ilhas do Mediterrâneo, África do Norte, Turquia Itália, outros países da Europa, América do Sul, México e Estados Unidos( Sudosete, nas proximidades do México, classificadas como amostras mexicanas) . . . . .	0,9

Também na Dinamarca, BENDTSEN fez ensaios com a prova de urease, sendo confirmada a maior atividade de *Br. suis*. A técnica utilizada foi a de BAUER.

Na Itália, GARGANI & DONNINI, revendo a coleção de culturas do Centro Italiano de Brucelose, utilizaram a prova de urease, comparando-a com outras. O meio usado foi o de BAUER, empregando 178 amostras, a maioria de origem italiana. Concluem dizendo que "a pesquisa da atividade ureásica, é bem caracterizada para a *Br. suis* que ataca a uréia rapidamente (cêrca de 15 minutos), e para a *Br. abortus* que ataca muito lentamente (6 a 8 horas); não se presta para tipificação das amostras de *Br. melitensis*, porque algumas se comportam como *Br. suis* e outras como *Br. abortus*".

### 3 — Exigência de CO<sub>2</sub> para o isolamento inicial

Esta é uma boa prova, quando feita na época apropriada, logo nos repiques iniciais, permitindo afirmar, com grande segurança, se se trata de *Br. abortus*. Esta espécie pode ser isolada apenas quando a cultura inicial é feita numa atmosfera contendo 5% a 10% de CO<sub>2</sub>, conforme foi visto no capítulo respectivo. Infelizmente, essa prova diferencial perde logo sua importância, porque nas subculturas, às vêzes muito rapidamente, as amostras perdem a capacidade de exigir CO<sub>2</sub> e crescem livremente no ar atmosférico.

Duas ordens de exceções para essa prova devem ser levadas em consideração, entretanto, para que os diagnósticos específicos de *Br. abortus* não se baseiem apenas nela. Uma é o fato, cada vez mais comprovado do isolamento, em vários países, de amostras tipicamente *abortus* pelas outras provas, mas que não exigem CO<sub>2</sub> para seu isolamento inicial. Uma hipótese bastante plausível para explicar êsse fato seria a de que estivessem sendo isoladas tais espécies como conseqüência do uso generalizado que se faz, nos últimos anos, da amostra atenuada e pouco patogênica, de *Br. abortus*, chamada B-19, como vacina para o gado, que dêsse modo se vai disseminando entre os animais. Essa é a opinião, entre outros, de HUDDLESON. Também poderia admitir-se que mutações tivessem ocorrido, em certas amostras de *Br. abortus*, capazes de fazer com que o germe se desenvolvesse na ausência de CO<sub>2</sub> mas ainda em condições de promover doença.

Outro fato interessante, referido uma única vez, segundo cremos, é o de *Br. suis*, em determinadas circunstâncias, só poder crescer em presença de CO<sub>2</sub>, isso quando se utiliza um meio complexo na sua composição, com diversos antibióticos (meio de KUZDAS & MORSE), para permitir o isolamento a partir de materiais contaminados. Ora, justamente no isolamento inicial, manifestando-se tal exigência, a observação do fenômeno poderia levar a diagnóstico errôneo da espécie, se apenas essa característica fôsse considerada. HUDDLESON refere que *Br. suis* não exige condições atmosféricas especiais para o isolamento inicial dos tecidos infectados, mas o crescimento a partir de sangue infectado é mais rápido se a cultura em meio líquido é incubada em atmosfera com 10% de CO<sub>2</sub>.

4 — Produção de  $H_2S$ 

Outra característica empregada na diferenciação entre as espécies de brucelas é a produção de gás sulfídrico ou “capacidade sulfidrígena”.

*Br. melitensis* dá produção muito pequena ou nenhuma; *Br. abortus* o produz fracamente e *Br. suis*, abundantemente. A produção de  $H_2S$  pelas brucelas foi primeiro vista por ZWICK & ZÖLLER, em 1912. O ensaio de produção, como um meio diferencial das brucelas, foi proposto por HUDDLESON & ABELL, em 1927. Certa inconstância foi vista por FAVILLI, pelo exame de 108 amostras; assim, 44 dentre 50 amostras de *Br. abortus* produziam  $H_2S$  abundantemente, 3 apenas traços e 3 não o produziam de todo; encontrou uma amostra de *Br. suis* não sulfidrígena. Foi verificado, também, que amostras de *Br. suis* isoladas na Hungria eram menos sulfidrígenas do que as provenientes dos Estados Unidos. Examinando amostras de *Br. suis* isolada na Dinamarca, verificou KRISTENSEN que elas não produziam  $H_2S$ , do mesmo modo que de *Br. abortus*, ao passo que encontrou amostras de *Br. melitensis* sulfidrígenas.

A produção de  $H_2S$  depende muito da técnica para a verificação dessa propriedade. Assinalam ZOBELL & MEYER que a composição do meio e seu estado físico (semi-sólido, etc.), o tempo de incubação, a presença de compostos orgânicos sulfurados — como cistina, ácido tioglicólico e outros —, o baixo rH do meio, a temperatura de incubação, etc., são fatores importantes na sua produção. Foi assim que ZWICK & ZÖLLER verificaram produção de  $H_2S$  com *Br. melitensis* prolongando por muitos dias a incubação; afirmam eles que entre *Br. abortus* e *Br. suis* não existe diferença na quantidade de  $H_2S$  produzida, mas não há dúvida que *Br. suis* o produz mais ativamente, o que se deve à sua maior capacidade vegetativa, a qual se reflete na clivagem da molécula dos compostos sulfurados dos meios de cultura empregados para a prova.

O exame de 228 amostras provenientes de países de vários continentes não revelou comportamento sulfidrígeno uniforme, nas mãos de ZOBELL & MEYER. Algumas das amostras de qualquer das espécies, em pequeno número, é verdade, discrepavam das normas estabelecidas por HUDDLESON. Assim, 136 de *Br. abortus* eram sulfidrígenas e 24 não; 4 de *Br. melitensis* o produziam e 6 não; 111 de *Br. suis* formaram  $H_2S$  e 8 não. Também recentemente, PICKETT & COLS. declaram que a produção de  $H_2S$  não contribui significativamente para a identificação das espécies.

A prova é realizada, conforme HUDDLESON a propôs, impregnando tiras de papel de filtro em solução de acetato de chumbo a 10%; depois de secas, conservam-se indefinidamente. As tiras são introduzidas no interior de tubos contendo meio de agar fígado semeado com brucelas, e mantidas suspensas prêsas entre a rôlha de algodão e o vidro. Deve-se cuidar de evitar que o papel se umedeça ou se impregne de agar. Com o desenvolvimento da cultura se vai produzindo e desprendendo  $H_2S$ , o qual se combina com o acetato de chumbo, escurecendo o papel, pela formação de sulfureto de chumbo. Em cada 24 horas de

incubação a 37°C, os papéis são renovados, até o 4.º dia, e dispostos numa folha de papel comum, notando-se a intensidade de produção de H<sub>2</sub>S nos diversos dias. (Fig. 56).

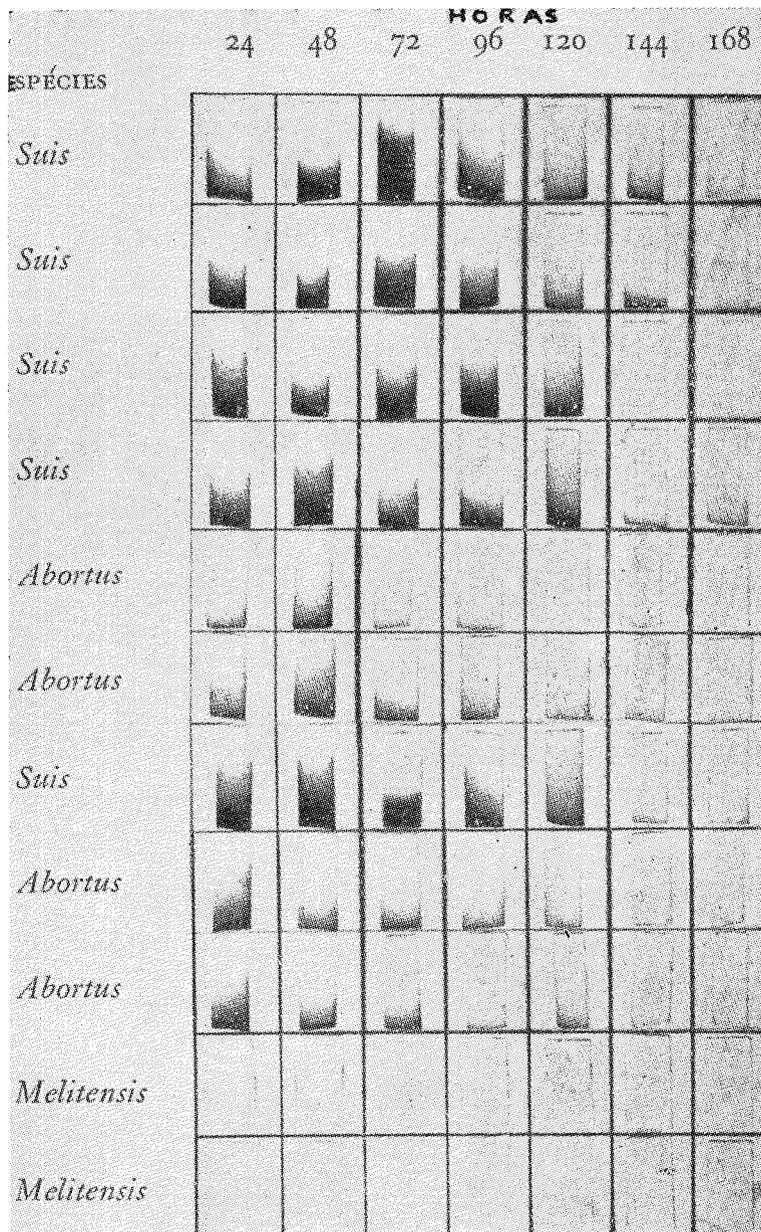


Fig. 56 — Produção de H<sub>2</sub>S pelas espécies de brucelas. Isolamentos de várias origens; tiras de papel de filtro substituídas diariamente. Segundo HUDDLESON.

BENDTSEN aconselha não remover o papel diariamente porque uma certa quantidade de  $H_2S$  pode escapar-se do tubo, o que não pode ser evitado. Basta fazer as leituras com 24, 48 e 72 horas de incubação.

Se a produção de  $H_2S$  prolonga-se até o 4.<sup>o</sup> dia e é abundante, a amostra é de *Br. suis*; se é apenas durante dois dias, a amostra é de *Br. abortus*; quando nenhum  $H_2S$  ou apenas um traço é produzido durante êsse período, a amostra é de *Br. melitensis*.

O meio de agar fígado foi preferido aos outros para a pesquisa de  $H_2S$  porque a cistina, de que é rico o fígado, favorece a evidenciação. A capacidade sulfidrígena é uma propriedade geral das bactérias heterotróficas, segundo PACHECO & COSTA o demonstraram, confirmando verificações anteriores de PETRI & MASSEN. É claro que a produção de  $H_2S$  depende da existência, nos gêrmes, de enzimas dissulfidrásicas, conforme assinala FROMAGEOT; uma dessas enzimas é específica para a cistina, logo a presença dêste composto num meio em que se desenvolvem brucelas evidencia a atividade sulfidrígena dêstes germes. Na prova proposta por HUDDLESON, o que se procura fazer é uma análise quantitativa diagnóstica, bastante eficiente.

Tal qual acontece com a prova de bactério-impediência, a capacidade sulfidrígena não é uniforme nos seus resultados, conforme viu ARTIGAS.

Também amostras isoladas de porcos analisadas por THOMSEN, na Dinamarca, mostraram-se pouco sulfidrígenas, diferindo das amostras americanas, neste particular.

Os meios atualmente empregados como preferenciais para o cultivo de brucelas prestam-se para a verificação da atividade sulfidrígena.

##### 5 — Prova de carbamato (DEDTC)

Em 1952, RENOUX propõe, juntamente com QUATREFAGES, um novo método para diferenciação das espécies de brucelas, utilizando o di-etil-di-tio-carbamato de sódio (DEDTC). Esta prova conseguiu grande aceitação porque é realmente bastante simples, permitindo, pelo menos, a identificação de *Br. melitensis*. O sal pode ser colocado num disco de papel de filtro ou em tabletes.

Na superfície duma placa de agar Albimi, bem sêca, é semeada abundantemente uma suspensão espessa de brucelas cultivadas durante 48 horas em meio sólido; recolhe-se o excesso da suspensão com uma pipeta e coloca-se a placa na estufa a 37°C para secar a superfície semeada. A seguir, deposita-se no centro da placa um disco de papel de filtro (11 mm de diâmetro) esterilizado em forno, embebido em solução a 1% de DEDTC preparada na hora; incuba-se durante 2 dias e observam-se os halos formados em tórno do disco, com iluminação oblíqua sôbre fundo negro. No caso dos tabletes, como o fizeram PICKETT & Cols., o DEDTC é misturado na proporção de 1/200; os autores assinalam que os tabletes são preferíveis aos discos de papel de filtro não só pela facilidade de manêjo como também pela conservação prolongada, porque o carbamato se altera em solução aquosa. Os resultados da prova são os seguintes:

a) *Meio não semeado*: em torno do disco, um halo mais transparente do que o próprio meio, circundado por uma auréola branca opaca, tendo em volta um círculo castanho-avermelhado e outro muito fino, vermelho (diâmetro total cêrca de 34 mm). (Fig. 58).

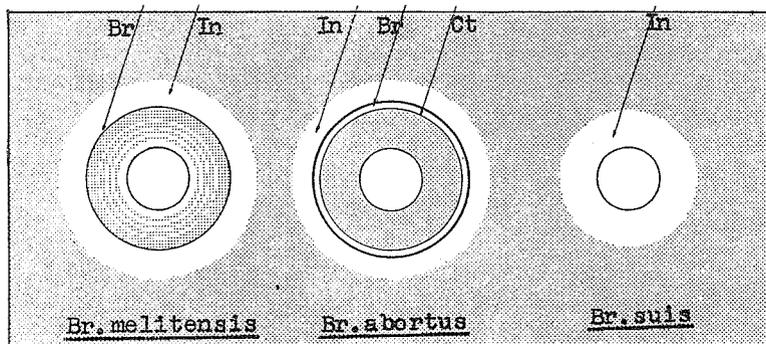


Fig. 57 — Prova do carbamato. Br = Anel branco; In = Inibição; Ct = Anel castanho. Segundo RENOUX & QUATREFAGES.

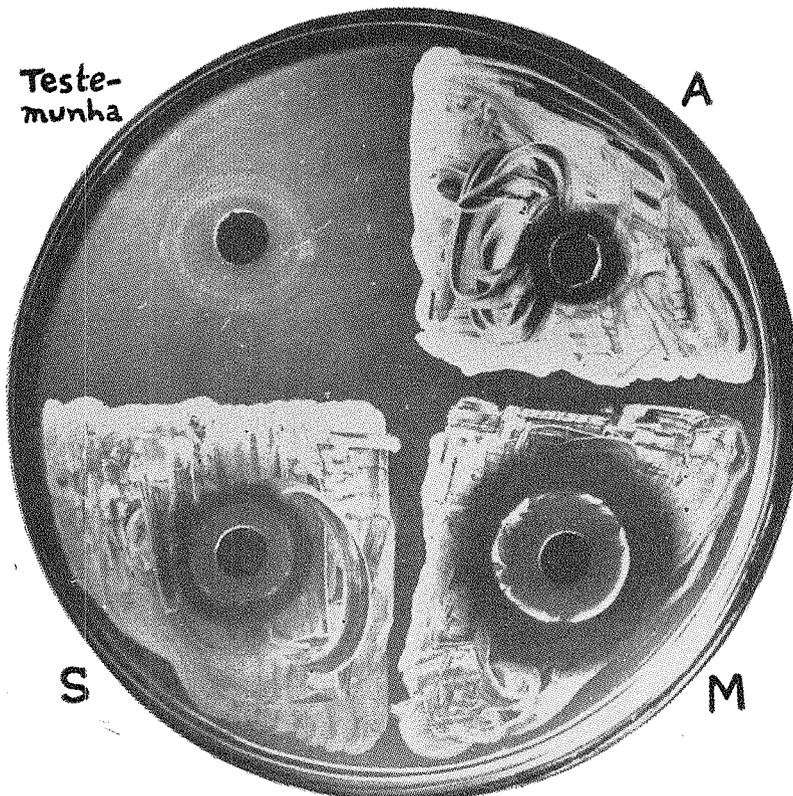


Fig. 58 — Resultados de provas do carbamato (DEDTC) utilizando tabletes, para diferenciação de espécies de bruceelas. Segundo PICKETT & COLS.

b) *Br. melitensis*: em tórno do disco, uma região de cultura homogênea mais ou menos intensa, que pode faltar completamente no centro e se vai espessando na direção da periferia; esta zona é nitidamente delimitada na parte externa por um anel branco opaco que a separa duma zona larga (3 a 4 mm) de inibição ou de desenvolvimento muito escasso, destacando-se nitidamente, por sua transparência, do restante da cultura normal. (Figs. 57, 58).

c) *Br. abortus*: cultura que pode ser escassa em tórno do disco, sem tendência a espessamento. Na direção da periferia, aparecem dois anéis: o interno é fino e castanho e o externo é branco, separados por uma auréola fina, clara, sutil. A inibição externa é reduzida tanto nas dimensões (1 mm) como na intensidade. (Figs. 57, 58).

d) *Br. suis*: inibição de 20 a 30 mm em tórno do disco, podendo não ser total; não existe anel de separação entre esta região e a cultura normal ou, quando êle existe, é extremamente fino, esbranquiçado na parte interna e castanho côr de tijolo no limite com a cultura normal (Figs. 57, 58).

GARGANI & DONNINI examinaram, com essa técnica, 178 amostras de brucelas comparativamente com outras técnicas e acharam-na bastante útil como meio de identificação, exigindo, apenas, uma certa prática para a observação dos halos.

PICKETT & Cols., usando tabletes de carbamato em 232 amostras lisas, de várias procedências, e comparando também com outras técnicas, comprovaram os bons resultados do método de Renoux. Concluem que as duas provas — da urease e do carbamato, juntamente com a dos corantes — são suficientes para separar as espécies de brucelas; a prova de urease identifica seguramente *Br. suis* e a do carbamato, a *Br. melitensis*.

MORELLI, trabalhando com 35 amostras de brucelas, também confirma as vantagens da prova do carbamato.

Contudo, recentemente, BRUNI & DE FELIP referem resultados desfavoráveis em cerca de metade das amostras examinadas. Trabalharam com 94 amostras de brucelas, sendo 89 em fase lisa e 5 rugosas; compararam com as provas de H<sub>2</sub>S, cromobacteriostase e urease. De 50 amostras de *Br. melitensis*, confirmadas pelas outras três provas, somente 24 deram carbamato típico para essa espécie; de 30 amostras de *Br. abortus* e 7 de *Br. suis*, não foi possível estabelecer o diagnóstico pela prova do carbamato, respectivamente em 15 e 2; em 28 outras, os resultados foram intermediários e pouco nítidos. Os autores obtiveram resultados similares tanto com a técnica de RENOUX (papel de filtro) como com a de PICKETT & Cols. (tabletes). Concluem que o método do DEDTC não dá bons resultados, confirmando o que já fôra visto por CRUICKSHANK & MADGE, em número limitado de amostras. Dizem êstes últimos que nas poucas amostras de *Br. suis* com que trabalharam, apareceu a zona clara de inibição referida por RENOUX mas com amostras de *Br. abortus* e *Br. melitensis* surgiram muitas zonas e anéis mais ou menos complexos, que não puderam ser facilmente interpretados.

6 — *Virulência e patogenicidade*

Não é a mesma a virulência das brucelas, segundo a espécie animal.

Para o homem, pela ordem de virulência, colocam-se a *Br. melitensis*, a *Br. suis* e a *Br. abortus*. Não só a infecção produzida pela *Br. melitensis* é mais grave, como também com mais frequência determina epidemias.

Em animais de laboratório, a patogenicidade das 3 espécies permite, até certo ponto, diferenciá-las, mas isso não é muito prático, embora os resultados sejam, às vezes, impressionantes. Além disso, o perigo das infecções de laboratório, ao se lidar com animais infectados experimentalmente, não aconselha que a prova seja usada extensivamente, embora útil.

O animal que se revelou mais sensível foi a cobaia. A inoculação pode ser feita por qualquer via, sendo preferida a subcutânea. Geralmente, a infecção evolui sem sintoma. Algumas vezes, tumefazem-se os gânglios e as articulares. De qualquer modo, formam-se nos órgãos internos, principalmente no fígado e no baço, focos necróticos, de pequenas dimensões, em número variável, quase sempre dispersos na superfície, podendo ser encontrados, contudo, no interior dos órgãos. A *Br. suis* possui uma tendência para formar abscessos relativamente grandes, bem como lesões ósseas e articulares. GODGLÜCK & COLS. e WELLMANN consideram possível, mesmo, separar *Br. suis* de *Br. abortus*, por essa característica. (Figs. 41, 46).

A constância da virulência de acôrdo com a espécie de brucela foi muito bem demonstrada nos trabalhos de BRAUDE & ANDERSON e de BRAUDE. Em resumo, suas conclusões foram as seguintes, confirmando o que já se conhecia sobre o assunto: nas cobaias inoculadas com *Br. suis* há formação de abscessos em quase todos os animais; a tendência para a formação de abscessos é muito menos nítida com *Br. melitensis*, porém os animais apresentam doença mais grave do que os injetados com *Br. suis*; *Br. abortus* produz apenas ligeira destruição dos tecidos (Fig. 41).

O seguinte quadro comparativo dá uma idéia da patogenicidade diferencial entre as brucelas das três espécies:

Espécie de brucela	Número de amostras usadas	Número de cobaias infectadas com cada espécie	Número de amostras que produziram abscessos visíveis a olho nu	Número de cobaias em que se formaram abscessos	Ganho médio em peso das cobaias infectadas com cada espécie	Peso médio dos baços das cobaias infectadas com cada espécie
<i>Br. abortus</i> .....	6	18	1	2	180 g	2 996 mg
<i>Br. suis</i> .....	6	18	6	16	126 g	2 043 mg
<i>Br. melitensis</i> .....	6	18	3	5	119 g	1 932 mg

7 — *Fermentação de hidratos de carbono*

Foi ligeiramente referido, antes, que a utilização da glucose constituía um caráter diferencial, para MCALPINE & SLANETZ. Esse carboi-

drato seria pouco utilizado por *Br. abortus*, decompondo menos de 4% do mesmo, enquanto as outras duas espécies consumiriam de 4% a 18%. ZOBELL & MEYER, MALLARDO, CONFALONI e DI AICHELBURG não puderam confirmar êsses resultados que, por outro lado, o foram por diversos autores: PLASTRIDGE; BROTZU; OLITZKI & BROMBERG. A prova, tal como era feita, além de trabalhosa, nem sempre dava resultados apreciáveis. Eram feitas passagens sucessivas em caldo e, depois, eram as brucelas semeadas em água peptonada glicosada a 1%, incubando-se durante uma semana e dosando o açúcar restante, pelos processos usuais ou com prévia eliminação da cultura.

Em 1933, PACHECO propôs a diferenciação das brucelas por meio de provas de fermentação, utilizando um meio de cultura com a seguinte composição: peptona Witte — 1%, nutrose — 2%, agar — 0,75% a 1%, cloreto de sódio — 0,5% e vermelho de fenol — 1%; depois de preparado, juntava-se o açúcar a 1% e esterilizava-se a 108°C durante meia hora ou esterilização descontínua. O número de amostras experimentadas foi pequeno, apenas 7, mas representativas das 3 espécies. Utilizou glicose, levulose, galactose, manose, arabinose, xilose, ramnose, sacarose, maltose, lactose, rafinose, dextrina, inulina, manita, glicerina, sorbita, dulcita, inosita e salicina. A *Br. melitensis* seria distinguida principalmente pela fermentação de dextrose, levulose, galactose e glicerina o que não fariam as outras duas espécies que, por sua vez, seriam diferenciáveis pelas provas de H<sub>2</sub>S e cromobacteriostase.

Passando de largo sôbre as modificações, de vez em quando propostas para as técnicas de apreciação de atividade fermentadora das brucelas, vejamos a contribuição recente de PICKETT & NELSON, que veio simplificar bastante uma técnica até então completamente relegada a plano secundário, por não ser prática. Êsses autores acham, mesmo, que a fermentação qualitativa dos carboidratos permite diferenciar as espécies de gênero *Brucella*, às vêzes mais rapidamente do que pelos métodos usuais de sensibilidade aos corantes. O meio básico é isento de carboidratos; contém 0,002% de vermelho de cresol e 0,2% de agar, com pH 7.6 mantido com tampão de fosfatos a 0,01 M. É distribuído no volume de 0,8 ml, em tubos de 12 mm de diâmetro externo, e esterilizado durante 15 minutos a 120°C; em seguida, adiciona-se 0,1 ml da solução de carboidrato esterilizada por filtração em Seitz e 0,1 ml duma suspensão em água destilada, da brucela a examinar, crescida durante 48 horas em agar Albimi. O inóculo para os tubos de fermentação não deve ser inferior a 10 bilhões de germes por tubo. Os resultados, com amostras de *Br. melitensis* e *Br. suis*, podem, com raras exceções, ser lidos com 48 horas de incubação, enquanto *Br. abortus*, em geral, requer incubação de 4 a 7 dias.

As provas são feitas com 6 tubos, sendo um do meio sem hidrato de carbono, outro com glicose, que é fermentada por tôdas as amostras, e 4 com os açúcares diferenciadores.

Os resultados são resumidos no seguinte quadro:

<i>Brucella</i>	Testemunha	Glucose	Inositol	Maltose	Ramnose	Trealose
<i>abortus</i> (44 amostras)	—	+	+	—	+	—
<i>melitensis</i> (14 amostras)	—	+	—	—	—	—
<i>suis</i> (33 amostras)	—	+	—	+	—	+

Em provas preliminares, PICKETT & NELSON verificaram que eram fermentados pelas três espécies de brucelas os seguintes hidratos de carbono: adonitol, arabinose, eritritol, frutose, galactose, ribose, sorbose e xilose; não foram fermentados por nenhuma amostra: celobiose, dulcitol, inulina, lactose, manitol, melezitose, melibiose, rafinose, salicina, sorbitol e amido; o glicerol e a sacarose foram fermentados pela maioria das amostras.

#### 8 — Redução de nitratos e toxicidade de nitritos

ZOBELL & MEYER propuseram diferenciar brucelas pela prova de redução dos nitratos, usando um meio semi-sólido com a seguinte composição: peptona — 2 g, extrato de carne — 1 g, cloreto de sódio — 3 g, agar — 2 g, água destilada — 1 litro e nitrato de potássio — 2 g, ajustar o pH a 6.8. O meio semi-sólido facilita a verificação da produção de gás (nitrogênio), ao mesmo tempo que permite boa multiplicação das culturas e o crescimento abaixo da superfície. Depois da sementeira, o critério para a avaliação da redução dos nitratos era dado pela presença de nitritos (com o uso do reativo de ácido sulfanílico-naftilamina alfa), desaparecimento de nitratos e desprendimento de gás. *Br. abortus* e *Br. suis* crescem difusamente no meio e a *Br. melitensis* permanece estritamente a alguns milímetros da superfície. Outros detalhes relativamente complexos tornaram essa prova de uso muito limitado, não sendo, mesmo, utilizada na prática.

Recentemente, PICKETT & NELSON estudaram a questão da redução dos nitratos pelas brucelas. Todas as amostras de *Br. melitensis* deram provas negativas ou muito fracamente positivas, enquanto todas as de *Br. abortus* e *Br. suis* deram provas positivas, moderadas ou fortes. *Br. suis* diferia, contudo, no fato de que culturas incubadas por muito tempo (10 dias) em caldo nitrado, freqüentemente davam provas negativas para nitritos. Os resultados de PICKETT & COLS., bem como os de ZOBELL & MEYER, sugerem a hipótese de que *Br. suis* é capaz de utilizar nitratos e nitritos; *Br. abortus* somente nitratos e *Br. melitensis* nenhum dos dois. VAN ESPEN, em provas cuidadosas, verificou que tanto *Br. abortus* quanto *Br. melitensis* reduzem nitratos a nitritos, desprendendo nitrogênio. Nenhuma tentativa foi feita para diferenciar as espécies.

Vários fatores que condicionam a redução dos nitratos a nitritos por parte das brucelas foram minuciosamente estudados por PICKETT

& NELSON: espécie de brucela, natureza e concentração do nitrato, quantidade de brucelas semeadas e período de incubação. Assim, tornou-se possível realizar uma prova que permitia distinguir claramente a *Br. melitensis* das outras duas espécies; apesar disso, a prova não foi considerada eficiente e sim uma de suas conseqüências, a comparação da toxicidade de nitritos para brucelas.

A prova de *toxicidade de nitritos* consiste em empregar tabletes de 4 mm de diâmetro, contendo 2% de nitrito e proceder como na prova do carbamato. Uma prova positiva mostra inibição completa do crescimento numa zona que ultrapassa de 4 mm ou mais a margem do tablete. Os resultados das experiências iniciais de PICKETT & NELSON mostraram que tôdas as 36 amostras de *Br. abortus* e *Br. suis* empregadas apresentaram provas negativas, enquanto que de 34 amostras de *Br. melitensis* testadas, somente 3 não deram resultados positivos. Ressalte-se que mesmo amostras francamente atípicas de *Br. abortus* e *Br. suis* deram provas de nitrito negativas. O seguinte quadro resume o assunto:

Grupo	<i>Br. abortus</i>		<i>Br. melitensis</i>		<i>Br. suis</i>	
	Número estado	Número com toxicidade ao nitrito positiva	Número testado	Número com toxicidade ao nitrito positiva	Número testado	Número com toxicidade ao nitrito positiva
Amostras típicas.....	13	0	29	26	11	0
Amostras ligeiramente atípicas.....	3	0	2	2	4	0
Amostras francamente atípicas.....	4	0	3	3	1	0
Total.....	20	0	34	31	16	0

### 9 — Provas sorológicas

*Aglutinação* — As provas sorológicas de aglutinação foram das primeiras utilizadas na diferenciação entre espécies de brucelas, sendo um dos trabalhos iniciais o de FEUSIER & MEYER, em 1920. Mais tarde, VEAZIE & MEYER, em 1936, melhoraram a técnica e classificaram mais de 400 amostras procedentes de 20 países diferentes; suas conclusões gerais foram as de que tôdas as culturas lisas são facilmente separadas em 2 grupos principais correspondentes aos tipos *abortus-suis* e *melitensis*; pequeno subtipo foi observado, constituído por 26 amostras muito semelhantes ao tipo *abortus-suis*, mas contendo uma proporção maior de antígeno *melitensis*. Daí por diante, têm sido empregadas e, mesmo, recomendadas. Evidentemente, o seu uso não se generalizou porque envolve não só técnicas delicadas como também exige que se trabalhe com soros rigorosamente padronizados e obtidos com amostras padrões. KRISTENSEN, por exemplo, não conseguiu, por meio de prova de aglutinação comum e de saturação de aplutininas, de CASTELLANI, separar *Br. melitensis* das amostras de *Br. abortus* e *Br. suis* que experimentou, enquanto a prova dos corantes e do H<sub>2</sub>S permitiram a separação. Por

isso mesmo, PICKETT & COLS. acham que são suficientes as provas de carbamato, da urease e dos corantes, não sendo necessária a aglutinação com soros absorvidos. Além disso, para o nosso meio, onde são isoladas com frequência apenas *Br. abortus* e *Br. suis*, a prova é completamente destituída de importância, porque não consegue separar essas duas espécies .

Quando ALICE EVANS procurou aproximar as brucelas da cabra e do boi num só grupo, não conseguiu encontrar diferenças sorológicas apreciáveis entre ambas. Contudo, as provas de absorção ou saturação das aglutininas, de CASTELLANI, forçaram EVANS a cindir o grupo em subtipos ou variantes mas sem possibilidade de separar *Br. abortus* de *Br. suis*.

O motivo pelo qual estas duas últimas amostras comportam-se diferentemente da *Br. melitensis*, quando se procede à análise sorológica das espécies com o auxílio da prova de CASTELLANI, foi, aparentemente, descoberto por MILES que verificou haver dois tipos de antígenos superficiais (ecto-antígenos) em brucelas: *A* e *M*. O primeiro, em maior quantidade em *Br. abortus* e *Br. suis*, na proporção de 20:1 e o segundo, em maior quantidade em *Br. melitensis*, na proporção de 20:1 também. O esquema clássico de Miles elucidava o assunto. (Fig. 34).

Anteriormente, WILSON & MILES haviam perfeitamente estabelecido que os dois principais tipos ou espécies de brucelas distinguem-se não pela presença de antígenos diversos em cada uma e sim pela diferente distribuição quantitativa dos mesmos antígenos nas espécies. Isso foi o que o trabalho de MILES confirmou, com o isolamento das frações *A* e *M*.

O processo de obterem-se soros mono-específicos (anti-*melitensis* e anti-*abortus-suis*) pode ser visto com muitos detalhes no livro de HUDDLESON. Em geral, tais soros são fornecidos por instituição especializada. Atualmente, podem ser obtidos do Dr. A. W. STABLEFORTH, WEYBRIDGE, SURREY, Inglaterra, ou por intermédio do Dr. M. KAPLAN, da Divisão de Epidemiologia da Organização Mundial de Saúde, Genebra, Suíça.

Para a realização das provas aglutinantes diferenciais, é necessário trabalhar com soros em natureza e com soros absorvidos mono-específicos.

Os trabalhos recentes de revisão e comparação das técnicas diferenciadoras de brucelas têm incluído as provas sorológicas mas os autores assinalam que, na maioria dos casos, elas são perfeitamente dispensáveis.

CRUICKSHANK preparou da seguinte forma os soros mono-específicos que utilizou na identificação das 800 amostras estudadas. Fazia a absorção quantitativa dos soros anti-*abortus* e anti-*melitensis* com brucelas de tipo heterólogo, respectivamente *melitensis* e *abortus*. Para obter o soro, injetam-se coelhos, endovenosamente, com suspensões vivas de brucelas, o número mínimo de vezes necessário para produzir um título homólogo (para a amostra injetada) de cerca de 1/2560; em geral, bastam duas injeções; maior número de inoculações pode estimular a produção em quantidade excessiva de anticorpos para a menor

fração antigênica existente na brucela. É indispensável verificar previamente a ausência de aglutininas nos animais. O soro obtido é diluído a 1/10 ou 1/20, no máximo e é misturado com suspensão da amostra heteróloga em solução salina fenicada a 0,5%. Se o soro é anti-*abortus*, as suspensões, devem ser de *Br. melitensis* e vice-versa. Os ótimos de diluição do soro e da suspensão microbiana só podem ser determinados por tentativas. CRUICKSHANK utilizou suspensões de brucelas, equivalentes, por turvação, a uma suspensão de 3 bilhões de colibacilos e misturou partes iguais da mesma com soro diluído. Incuba-se a mistura a 37°C durante duas ou três horas, agitando de vez em quando. Em seguida, centrifuga-se até que o líquido sobrenadante fique completamente límpido. Este é removido e ensaiado, juntamente com um soro não absorvido, contra amostras homólogas e heterólogas, e deve comportar-se especificamente com as amostras típicas. Os soros podem ser conservados, depois de filtrados em Seitz, se forem guardados em ampolas na geladeira, prontos para o uso.

Para a realização da prova de identificação sorológica, é sempre necessário fazer aglutinações da amostra com os soros anti-*abortus* e anti-*melitensis*, antes e depois de eliminadas as aglutininas heterólogas.

Como pode ser visto, a prova não é prática e deve reservar-se para a identificação de amostras atípicas. Mesmo sob este aspecto, é difícil, em muitos casos, afirmar-se com segurança, pois que, às vezes, são certas amostras tão tipicamente identificadas pelas outras provas e comportando-se diferentemente com a prova sorológica, que as dúvidas persistirão. Isso foi um dos motivos que levaram RENOUX a propor uma nova espécie de brucela, a *Br. intermedia*.

Incidentalmente, convém referir que, em geral, não se admite a possibilidade de, pelo simples exame dum soro em natureza, identificar-se a espécie de brucela causadora da infecção. Contudo, ALICE EVANS refere que HUDDLESON empregou a prova de absorção de aglutininas com soros desconhecidos, obtendo bons resultados, desde que os soros originais tivessem títulos superiores a 1/160. CRUICKSHANK teve ocasião de seguir essa técnica, obtendo resultados extraordinariamente claros. Mistura-se o soro com suspensões espessas de *Br. abortus* e *Br. melitensis*, separadamente, incuba-se a 37°C durante 2 horas, centrifuga-se, faz-se a aglutinação com o líquido sobrenadante convenientemente diluído, uma série para cada germe. Num dos casos de CRUICKSHANK, os resultados foram os seguintes:

	<i>Br. abortus</i>	<i>Br. melitensis</i>
Sôro do paciente, em natureza .....	1/2560	1/1280
Sôro do paciente absorvido com <i>Br. abortus</i> .....	0	0
Sôro do paciente absorvido com <i>Br. melitensis</i> .....	1/1280	0

Portanto, a saturação das aglutininas com *Br. abortus* removeu do soro as aglutininas para ambos os germes, enquanto a absorção com

*Br. melitensis* deixou o sôro ainda capaz de aglutinar *Br. abortus*. Donde se concluiu que o paciente estava infectado por *Br. abortus*, o que foi mais tarde confirmado pelo isolamento de amostra dessa espécie.

*Aglutinação seletiva* — Para a substituição da prova de absorção de aglutininas na classificação das brucelas, CASTAÑEDA realizou uma nova prova a que deu o nome de aglutinação seletiva. Essa prova merece divulgação, porque pode tornar-se bastante útil com tal finalidade, Permite separar sorolôgicamente as espécies de brucelas, ou melhor, separa *Br. melitensis* do grupo *abortus-suis*; é uma prova rápida e fácil de executar. Consiste em comparar as aglutinações obtidas com soros de títulos conhecidos, anti-*abortus* e anti-*melitensis*, empregando antígenos também conhecidos de *Br. abortus* e *Br. melitensis*, corados em vermelho com safranina. A amostra desconhecida é corada em azul com azul de metileno. É claro que todos êsses reativos são convenientemente padronizados, sendo os detalhes encontrados nas publicações de CASTAÑEDA. Uma gôta do antígeno desconhecido é misturada com uma gôta do antígeno conhecido e juntado o sôro; são necessárias, portanto, 4 provas e os resultados, quanto à formação de anéis característicos da aglutinação seletiva, é resumido no quadro abaixo:

Sôro conhecido diluído a 1/100	Antígenos		Côr dos anéis, se o antígeno desconhecido é:	
	Desconhecido (Azul)	Conhecido (Vermelho)	<i>Br. melitensis</i>	<i>Br. abortus</i>
Anti- <i>abortus</i> .....	X	<i>abortus</i>	vermelho	púrpura
Anti- <i>abortus</i> .....	X	<i>melitensis</i>	púrpura	azul
Anti- <i>melitensis</i> .....	X	<i>abortus</i>	azul	púrpura
Anti- <i>melitensis</i> .....	X	<i>melitensis</i>	púrpura	vermelho

*Precipitinas* — As provas de precipitação não têm sido empregadas em brucelas com a mesma intensidade com que o são para diferenciar outras espécies bacterianas. Contudo, as experiências em que se utilizassem produtos purificados extraídos de brucelas seriam bastante úteis.

Foi por isso que MORALES-OTERO & POMALES-LEBRÓN efetuaram tentativas nesse sentido, em 1943, com extratos em formamida, feitos de acôrdo com a técnica clássica de FULLER, para extração de polissacarídeos de estreptococos. Com uma pipeta capilar, duas ou três gôtas de sôro imune, previamente preparado com amostras individuais de brucelas, são colocadas em tubos de precipitação; a seguir, cobre-se com igual quantidade de extrato do germe a testar. Os tubos são deixados à temperatura ambiente e observados continuamente durante 30 minutos, para ver se surge um precipitado na interface (entre o sôro e o extrato). Cada extrato deve ser provado contra soros para as 3 espécies de brucelas. Todos os extratos de *Br. abortus* e *Br. suis* produzem um anel de precipitação nítido, com os soros anti-*abortus* e anti-*suis* mas não o produzem com o sôro anti-*melitensis*, mesmo depois de 30 minutos. Por sua vez, os extratos de *Br. melitensis* produzem facilmente um precipitado com o sôro anti-*melitensis*. Essa prova merece melhor aproveitamento e, se padronizada convenientemente ou com as modifica-

ções de OUDIN, em meios semi-sólidos ou suas variantes em placas, poderá tornar-se de grande utilidade prática, mesmo para diferenciar *Br. abortus* de *Br. suis*.

#### 10 — Cultivos em meios com ovo

MARIA DE SANTIS utilizou o meio seletivo de Petragnani na diferenciação de *Br. melitensis* e *Br. abortus*. Enquanto a primeira vegeta abundantemente, tornando escura a côr verde do meio, a *Br. abortus* não cresce. (Fig. 59).

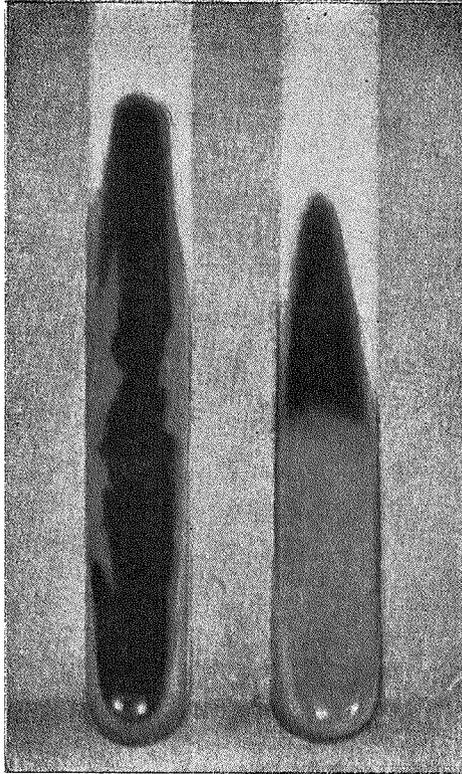


Fig. 59 — Meio de Petragnani. Semeado com *Br. melitensis* (à esquerda) e com *Br. abortus* (à direita); dez dias de incubação. Notar o crescimento exuberante de *Br. melitensis*, escurecendo o meio, e ausência de crescimento de *Br. abortus*. Segundo MARIA DE SANTIS, em PONS & VALENTI.

Surgiram contestações a esta prova, mas viu-se que eram as discrepâncias devidas a imperfeições do meio, sobretudo pelo seu aquecimento a temperaturas acima de 80°C durante o preparo. Contudo, foi êle muito usado, principalmente na Itália, tendo, mesmo, recebido a denominação de método italiano para a diferenciação das espécies de brucelas. Resumimos, de SIGNORELLI, alguns comentários sôbre o assunto.

MARTINI atribuiu a ação impediante do meio de Petraghani para *Br. abortus* à acidez do meio, o que estaria de acôrdo com as observações de IZAR e FAMULARI, os quais viram que ácido láctico em diversas concentrações inibe *Br. abortus*; em pequena concentração, não inibe *Br. suis* e em tôdas as concentrações usadas não inibe *Br. melitensis*. DE SANTIS pensa que é devida à ação impediante da clara do ôvo, bem conhecida e produzida graças à presença de um fermento bactério-impediante; num meio composto de três partes de ôvo total e uma parte de caldo glicerinado a 5%, foi obtido o mesmo resultado. Por sua vez, CASTAGNOLLI verificou que, em água de batata *Br. melitensis* e *Br. suis* crescem rapidamente, enquanto *Br. abortus* somente cresce após 48 horas de incubação a 37°C. ALESSANDRINI substituiu o verde malaquita do meio de Petraghani por solução a 1% de tionina, na proporção de 10%, obtendo resultado absolutamente constante de impediência para *Br. abortus*, mesmo aquecendo o meio a 85°C durante o preparo. Outras modificações do meio de Petraghani surgiram com a mesma finalidade. CONTUFO, por exemplo, vale-se do meio de Loewenstein. SCHWARTZMAYER substitui o verde malaquita pela hematina, verificando crescimento de *Br. melitensis* e *Br. abortus* e inibição de *Br. suis*.

É provável que a impediência de *Br. abortus* no meio deva-se realmente à presença do verde malaquita pois, conforme viram CAMERON & MEYER, essa espécie é inibida por uma concentração de 2 microgramas por ml de meio, enquanto *Br. melitensis* só o é na concentração de 10 microgramas por ml.

Sobre a prova do crescimento no meio de Petraghani se pode resumir, dizendo que *Br. melitensis* cresce no meio com e sem verde malaquita; *Br. suis* só cresce sem verde malaquita e *Br. abortus* não cresce em qualquer dos dois meios, com ou sem verde malaquita.

A prova de cultivo em meio de Petraghani, com verde malaquita ou tionina, não permite diferenciar *Br. suis*, pois esta comporta-se, às vezes, como *abortus* e outras vezes como *melitensis*. Por êsse motivo, DEL VECCHIO usa ao mesmo tempo meios com tionina e com fucsina básica; a fucsina é usada na proporção de 0,14% (a 100 ml do meio juntam-se 14 ml de solução aquosa a 1% de fucsina básica). Em presença de fucsina básica, *Br. abortus* e *Br. suis* não se desenvolvem, enquanto *Br. melitensis* cresce bem; no meio com tionina, somente *Br. abortus* não se desenvolve.

Recentemente, o assunto foi retomado, comparando-se a eficiência do meio de Petraghani na diferenciação de brucelas, com outras provas.

RENOUX & QUATREFAGES utilizaram-no para a diferenciação de 45 amostras das 3 espécies de brucelas, fazendo leituras do crescimento com 4 e 8 dias de incubação a 37°C. Em 30 amostras típicas de brucelas, houve 4 provas com resultado falso no meio; em 15 amostras atípicas, os resultados falsos foram maiores ainda.

GARGANI & DONNINI, em 1954, em provas comparativas com a de urease, inibição pelos corantes e pelo carbamato e produção de H<sub>2</sub>S, utilizaram o meio de Petraghani sem verde malaquita, que foi substituído por diversos corantes, na proporção uniforme de 1/100.000: fucsi-

na básica, tionina, violeta de metila (corantes da "Aniline Co.", N. York). As leituras do crescimento foram feitas com 2 e 4 dias. *Br. melitensis* e *Br. suis* cresceram bem nos 3 meios, enquanto *Br. abortus* não se desenvolveu.

### 11 — *Morfologia*

Desde os primeiros trabalhos de BRUCE, ficara bem clara a noção de que as brucelas existentes em Malta eram cocóides, daí a denominação de *Micrococcus melitensis*. Quando BANG e STRIBOLT descreveram o bacilo causador do abôrto contagioso bovino, caracterizaram perfeitamente a forma bacilar. O germe descrito por TRAUM, nos porcos, também foi caracterizado como bacilo. A diferença, entretanto, é muito sutil para merecer utilização generalizada, já o vimos no capítulo de morfologia das brucelas. Há vêzes em que *Br. melitensis* pode apresentar formas bacilares, principalmente quando cultivada em meios líquidos ou quando está com tendência para as formas rugosas. Também *Br. abortus*, a que se apresenta regularmente bacilar, pode revelar, em algumas amostras, formas extremamente curtas, cocóides, no isolamento inicial, enquanto outras amostras são bacilares.

### 12 — *Colorações específicas*

Diversas investigações têm sido realizadas no sentido de diferenciar brucelas com o auxílio de técnicas de coloração específicas. Em geral, os métodos visam a separar *Br. melitensis* de *Br. abortus*. Um dos mais interessantes, embora demorado, é o de BEZSSONOF, revisto por VARCELLANA. Esfregaços finos de culturas de 48 horas são deixados durante 20 horas a 37°C, na seguinte solução: bicromato de potássio — 1 g, tártaro emético — 0,4 g, água destilada — 100 ml (o bicromato e o tártaro emético devem ser dissolvidos separadamente em água destilada e misturados depois); esta solução age como mordente. Lava-se a lâmina e mergulha-se em água corrente e em água destilada, renovando várias vêzes a água. Depois, coloca-se a preparação durante duas horas a 100°C numa solução de "wasserblau", a 0,17% em água destilada. Lava-se novamente a lâmina em água comum e em água destilada. A preparação é colocada, em seguida, durante 1 ½ horas a 100°C, em solução de crisoidina a 0,07% em água destilada; lava-se depois em água destilada três vêzes e em água comum. A seguir, mergulha-se a lâmina, durante 15 minutos, a 65°C e durante 14 horas a 37°C em solução de rosa de Bengala a 0,32% em água destilada. Lava-se em água destilada. Resultado: *Br. melitensis* corada em róseo, mais ou menos intenso e *Br. abortus* com nítida coloração azul.

### 13 — *Meios com tetrazólio*

A prova do cultivo em meios com tetrazólio foi proposta por HUDDLESON & BALTZER e aperfeiçoada por HUDDLESON mas parece não ter tido, ainda, aceitação prática. As amostras lisas, de cada uma das espécies de brucelas, apresentam colônias de coloração vermelha mas com tonali-

dades diferentes, principalmente nos bordos, conforme a espécie. (Fig. 52). Para outros detalhes, ver o tópico relativo à variação.

#### 14 — Medida do potencial de óxido-redução

Embora não seja de natureza prática, essa prova diferencial merece referência. TUTTLE & HUDDLESON mediram o potencial de óxido-redução de culturas de brucelas em caldo fígado, contendo tionina ou fucsina básica. Verificaram que *Br. abortus*, em presença de tionina, é incapaz de reduzir o potencial do meio; *Br. suis* não reduz esse potencial em presença de fucsina básica; *Br. melitensis*, em presença de qualquer um dos corantes, reduz o potencial de óxido-redução.

#### 15 — Medida do pH do meio

Essa prova também não é prática nas condições em que tem sido feita mas é possível que certas modificações permitam incluí-la como auxiliar na diferenciação.

Semeando-se um meio, contendo 1% de peptona e 2% de glucose, com as 3 espécies de brucelas e determinando-se diariamente o pH do meio, verifica-se que êste vai baixando diariamente com as amostras de *Br. abortus* e *Br. melitensis* ao passo que não existem alterações com *Br. suis*. Se o meio não contiver glucose, a curva do pH é idêntica para as 3 espécies (Fig. 27).

SANDERS & HUDDLESON, retomando o assunto, verificaram que o pH do meio em que se desenvolvem brucelas varia de acôrdo com as concentrações de peptona, glucose e oxigênio. A utilização da glucose é preferencial, no início, à da peptona, em *Br. abortus* e *Br. melitensis*; em consequência, o pH nos primeiros dias baixa ligeiramente, enquanto que mais tarde, começando a utilização da peptona, liberta-se a amônia que vai alcalinizar o meio. Já com *Br. suis* a produção de amônia dá-se desde o princípio, de modo que o pH, com essa espécie, é desde os primeiros dias neutro ou alcalino.

#### 16 — Formação de cristais de fosfatos

HUDDLESON & COLS. acreditavam ser possível a distinção entre as espécies de brucelas pela formação de cristais de fosfato amoníaco-magnésiano nos meios sólidos. *Br. melitensis* cresce, formando cristais desse fosfato muito rapidamente, enquanto *Br. abortus* não os forma com a mesma intensidade.

Essa prova parece destituída de interêsse maior, atualmente.

#### 17 — Composição química

Sob o ponto de vista prático de diferenciação entre as espécies de brucelas, a composição química desses germes ainda não oferece vantagens, a não ser que algumas das frações possam ser utilizadas em outras provas, como a de precipitação, vista acima.

HUDDLESON, em sua monografia, aponta alguns dos componentes químicos que poderiam servir para tal fim. A revisão recente de PENNELL

mostra a grande complexidade do assunto, ainda em evolução, e sobre o qual são vistos alguns detalhes na parte de constituição antigênica das brucelas.

### 18 — *Sensibilidade a antibióticos*

As possibilidades dos antibióticos para a diferenciação das espécies de brucelas não foram ainda suficientemente aproveitadas.

Com relação à tirotricina e à garlicina PACHECO & THIAGO DE MELLO não encontraram diferenças apreciáveis.

Em 1953, THIAGO DE MELLO observou diferenças na atividade bacteriostática de terramicina e do antibiótico micoína, tão nítidas e constantes que parece possível que um método seguro resulte dessas experiências. Foram usadas 82 amostras de brucelas das 3 espécies, semeadas em meio líquido, ao qual era adicionado o antibiótico em doses que variaram de 2 a 50 microgramas. A observação diária dos tubos permitiu verificar que as amostras de *Br. abortus* eram muito sensíveis à micoína e praticamente insensíveis à terramicina, em concentrações adequadas. Justamente o contrário era observado com *Br. suis*, que se mostrou extremamente sensível à terramicina e resistente à micoína, em concentrações e em prazos de observação convenientes (Fig. 60). As amostras de *Br. melitensis* apresentaram comportamento intermediário.

CASTAÑEDA & CARRILLO-CÁRDENAS, em 1954, efetuaram provas semelhantes mas empregando a eritromicina (iloticina). Desde que os meios em que havia sido incorporado o antibiótico (25 microgramas) fossem incubados em presença de gás carbônico, isto permitia boa diferenciação de *Br. abortus* que crescia abundantemente, enquanto *Br. suis* não crescia. *Br. melitensis* apresentava um comportamento intermediário, crescendo com pouca intensidade.

### 19 — *Atividade catalásica*

HUDDLESON propôs a medida da atividade catalásica para a diferenciação das espécies, dando-lhe muita importância. De acordo com seus trabalhos, pelo menos as amostras de *Br. suis* podiam ser facilmente diferenciadas quanto ao grau de decomposição da água oxigenada.

As amostras de *Br. melitensis* podiam apresentar resultados próximos dos de *Br. abortus* mas em geral eram superiores.

A técnica de evidenciação da atividade catalásica consistia na titulação com permanganato de potássio (Fig. 61).

Devido à discrepância encontrada no comportamento de *Br. melitensis*, SANDERS & WARNER examinaram 84 amostras dessa espécie, de diversas procedências, paralelamente com a prova de urease, que vimos noutro ponto. Considerando a atividade catalásica, com a técnica do

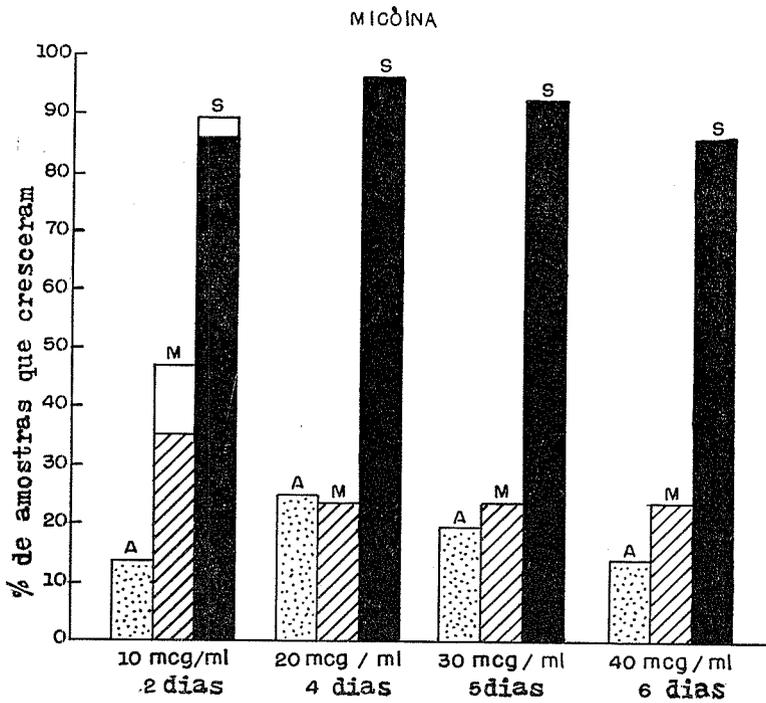
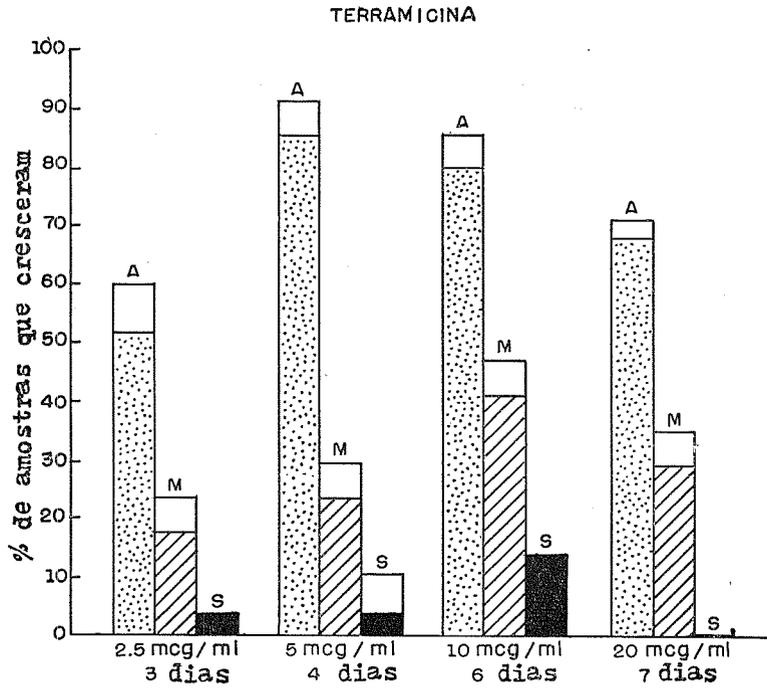


Fig. 60 — Sensibilidade diferencial de brucelas aos antibióticos terramicina e micoína. Segundo THIAGO DE MELLO.

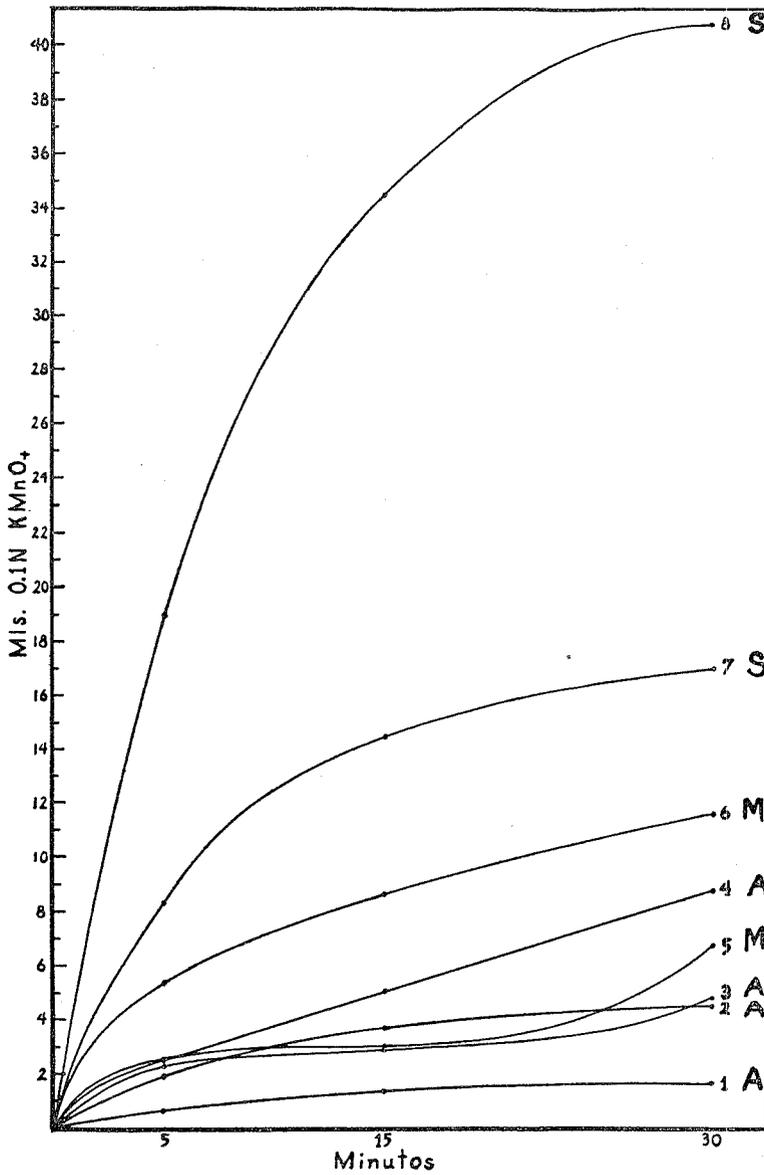


Fig. 61 — Atividade catalásica das 3 espécies de brucelas. Segundo HUDDLESON.

permanganato e os resultados expressos em mililitros de água oxigenada decompostos por 2 bilhões de brucelas em 30 minutos, observaram o seguinte:

	Água oxigenada decomposta (mililitros)
Estados Unidos (Centro e Leste) . . . . .	47.2
França (8 das 10 amostras examinadas) . . .	7.5
Ilhas do Mediterrâneo, África do Norte, Turquia, Itália, outros países da Europa, América do Sul, México e Estados Unidos (Sudoeste, nas proximidades do México, classificadas como amostras mexicanas) . . . . .	10.9

A prova da catalase não tem sido empregada, correntemente, para a diferenciação das espécies.

#### 20 — Comentários sobre as amostras atípicas de brucelas

Apesar de todas essas provas que acabamos de enumerar, muitas amostras não conseguem ser classificadas convenientemente, sendo comumente chamadas *atípicas*. Desde que se procurou fazer a distinção entre as espécies de brucelas, tais amostras têm constituído um entrave aos estudos desses germes. Muitas vezes, criam-se espécies novas ou variedades para as mesmas. Foi por isso que PACHECO, em 1933, propôs a espécie *Br. evansi* e, mais recentemente, RENOUX, a *Br. intermedia*, além de outras.

Só o exame de grande número de amostras, empregando várias técnicas comparativamente, permitirá estabelecer as proporções reais dessas amostras atípicas. Mesmo assim, nem sempre será isto possível; muito razoável é a opinião de CARRÈRE, para quem só existem as três espécies clássicas, acrescentando: “A constituição de novo tipo no qual, como num necrotério, fôsem sendo jogadas as amostras chamadas atípicas, parece-nos inadequada; se as atípicas não podem constituir um tipo, menos ainda uma espécie”.

O mais interessante trabalho a esse respeito é a recente descrição feita por CRUICKSHANK & MADGE, das características diferenciais de 800 amostras de brucelas, de cujo trabalho transcrevemos o trecho a seguir:

“A maioria das amostras desta série foi facilmente identificada e comportou-se tipicamente em todas as provas. Outras afastavam-se ligeiramente das típicas, por exemplo, amostras de *Br. abortus* que não exigiam atmosfera contendo gás carbônico para o isolamento inicial; outras afastavam-se mais, como certas amostras de *Br. abortus* sensíveis a todos os corantes. O comportamento de pequena proporção de amostras era tão atípico que elas não podiam ser, com segurança, relacionadas a qualquer das espécies conhecidas; por exemplo, os caracteres bioquímicos de *Br. abortus* ou *Br. melitensis* e o comportamento sorológico das outras espécies.

Essas amostras com comportamento atípico têm sido observadas por todos os pesquisadores experientes nesse terreno (WILSON; HUDDLESON; RENOUX; Relatório do Comitê de Peritos em Brucelose). VEAZIE & MEYER encontraram 224 em sua série de 427 amostras e RITA & DELLA VIDA, 22 numa série de 176. PICKETT & Cols., numa série de 232 amostras em fase S, encontraram 18 que não puderam ser convenientemente classificadas; êsses autores verificaram que as provas de urease e de carbamato, que apresentam boa correlação com as provas dos corantes e a sorologia, definiam corretamente tôdas as 197 amostras procedentes dos Estados Unidos e do México; concluem que, com os 4 corantes usuais e as provas de carbamato e de urease, a grande maioria das amostras pode ser identificada, deixando apenas algumas, para as quais o emprêgo de soros mono-específicos seria necessário.

RENOUX, recentemente, descreveu a classificação de 2598 amostras por meio de provas bioquímicas, sem provas sorológicas, que êle considera de pouco valor. Verificou que 5% das amostras (11%, quando examina sòmente as de origem bovina) não podem ser classificadas como nenhuma das 3 espécies. Embora admitindo o valor prático da classificação nessas 3 espécies, prefere êle incluir os germes em discussão numa espécie única, a *Br. brucei*, com 5 variedades: *melitensis*, *abortus*, *suis* (tipo americano), *thomseni* (tipo dinamarquês de *Br. suis*) e *lisbonnei* (amostras tionina-resistentes produtoras de H<sub>2</sub>S). A nova espécie proposta, a *Br. intermedia*, de RENOUX, e as sub-espécies *Br. abortus* (WILSON) e *Br. abortus* (VAN DER SCHAFF), de HUDDLESON, foram relacionadas à espécie acima. Recentemente, VAN DRIMMELEN propôs o nome *Br. melitensis* var. *Karakul* para amostras isoladas de carneiros Karakul no sudoeste da África e que não exigem atmosfera com CO<sub>2</sub> para o isolamento inicial, produzem quantidades constantes mas reduzidas de H<sub>2</sub>S, não são inibidas por nenhum dos corantes e mostram as mesmas diferenças antigênicas tanto para *Br. abortus* B-19 como para *Br. melitensis*. Uma dessas amostras, enviada pelo Dr. VAN DRIMMELEN, examinada nas suas características bioquímicas, teve-as confirmadas e verificou-se que aglutinava com um sôro mono-específico para *Br. melitensis* e não aglutinava com um sôro anti-*abortus*, isto é, comportava-se como *Br. melitensis* exceto quanto à produção de consideráveis quantidades de H<sub>2</sub>S nos três primeiros dias de crescimento. É de desejar-se que maiores informações sôbre os caracteres e a distribuição dessas amostras atípicas sejam reunidas e examinadas, de modo que possam receber uma designação apropriada. Observações sôbre a variabilidade dos tipos também devem ser feitas, principalmente em vista das pesquisas de RENOUX & CARRÈRE que isolaram colônias resistentes de placas de corantes ou reisolaram amostras depois de passagens em animais, verificando que diferiam da cultura original, em seu comportamento bioquímico e seriam, por estas provas, classificadas como um tipo diferente”.

Em 1954, HUDDLESON & WHITE descreveram o isolamento, diretamente de leite de vacas pertencentes a um rebanho de Michigan, nos Estados Unidos, de amostras de *Br. abortus* tipo II, de WILSON. Foram isoladas em placas de agar triptose sem cristal violeta, em presença

de CO<sub>2</sub>; em placas com cristal violeta não cresciam, bem como nas placas com fucsina básica ou tionina, ao contrário das amostras comuns de *Br. abortus* que crescem nos meios com cristal violeta ou fucsina. As características dessas amostras de *Br. abortus* de comportamento diferente são as seguintes: exigem CO<sub>2</sub> para o crescimento, colônias muito pequenas em agar, não crescem em meios com os corantes diferenciadores, não crescem em meios contendo diminutas concentrações de penicilina e determinam infecções nos úberes das vacas com alterações semelhantes às da mastite estreptocócica.

O número de amostras atípicas encontradas por diversos pesquisadores, trabalhando com grande quantidade de amostras, pode ser apreciado no quadro abaixo:

Autores	Número de amostras examinadas	Número de amostras atípicas	Porcentagem de amostras atípicas	Provas feitas
RENOUX.....	2 598		5%	
CRUICKSHANK & MADGE.....	800	111	13,8%	CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, corantes, aglutinação (às vezes urease, tetrazólio e carbamato)
VEAZIE & MEYER	427	24	5,6%	
PICKETT & Cols.	232	18	7,7%	Urease, corantes, H <sub>2</sub> S, carbamato, aglutinação
GARGANI & DONNINI.....	178	17	9,5%	H <sub>2</sub> S, corantes, carbamato, urease
RITA & DELLA VIDA.....	176	22	13,1%	
MORELLI.....	35	2	5,7%	Corantes, H <sub>2</sub> S, meio com ovo, urease, CO <sub>2</sub> , carbamato

Para terminar o assunto, convém fazer referências a uma complicação que tem sido citada por diversas vezes e que recentemente foi investigada por BRAUN & OGLESBY. Embora seja sabido que a variação entre as espécies de brucelas não lhes altera as características diferenciais, de vez em quando aparecem referências a transformações no decurso de repiques; por exemplo, amostras resistentes aos corantes, quando deveriam ser sensíveis, etc. Para examinar precisamente a questão da sensibilidade aos corantes, BRAUN & OGLESBY fizeram experiências nesse sentido não apenas *in vitro* mas também *in vivo*. Observaram, então, que realmente surgem espontaneamente mutantes, apresentando caracteres aberrantes, ou sejam, amostras atípicas. Por isso mesmo, esses pesquisadores estão de acordo com RENOUX, quando este

admite a existência duma só espécie de brucela, com vários tipos; em todo caso, concluem, “não pode ser negado que, sob o ponto de vista prático, talvez continue a ser útil conservar as espécies denominadas *Br. abortus*, *Br. suis* e *Br. melitensis* como elementos de referência, mesmo que elas não devam representar mais do que os biótipos mais comuns duma espécie.”

Finalmente, uma observação de RENOUX parece descabida. Esse pesquisador, comentando as provas diferenciais correntemente usadas, disse que elas são quantitativas e não qualitativas, o que não seria suficiente para formação de espécies e sim de tipos. Contudo, algumas provas parecem ter características francamente qualitativas, como a de fermentação dos hidratos de carbono selecionados por PICKETT & NELSON.

### BIBLIOGRAFIA

- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. *Ann. San. Publ.*, 10(5):1195-1325.
- MEYER, K. F. & SHAW, E. B.  
1920. *J. Inf. Dis.*, 27:173-184.
- A — *Histórico*
- BANG, B.  
1897. *Ztschr. f. Tiermed.*, 1:241-278.
- BRUCE, D.  
1887. *Practitioner*, 39:161-170.  
1893. *Ann. Inst. Pasteur*, 7:289-304.
- HUTYRA, F.  
1909. Em “Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals”, F. Hutyra, J. Marek & R. Manninger 4th engl. ed., Vol. I, London, 1938:794.
- TRAUM, J.  
1914. *Ann. Rep. Bureau An. Ind.*, 30:86.
- ZAMMITT, T.  
1905. *Rep. Comm. Medit. Fever*, Part III:83.  
1906. *Rep. Comm. Medit. Fever*, Part IV:96.
- B — *Nomenclatura e posição sistemática*
- BERGEY, D. H. & Cols.  
1923. *Manual of Determinative Bacteriology*, 1st. ed.
- BREED, R. S. & Cols.  
1948. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th ed., London: 545; 560-563.
- BRUCE, D.  
1887. *Practitioner*, 39:161-170.  
1893. *Ann. Inst. Pasteur*, 7:289-304.
- EVANS, A. C.  
1918. *J. Inf. Dis.*, 22:580-593.  
1950. Em “Brucellosis. A symposium”. Bethesda, Sept. 1949:1-8.

- FERRY, N. S.  
 1911. J. Inf. Dis., 8:399-420.  
 1912. Vet. J. 68:376-391.  
 1912-1913. Amer. Vet. Rev., 41:77-79.
- HOLLAND, D. T.  
 1920. J. Bact., 5:215-229.
- MEYER, K. F. & SHAW, E. B.  
 1920. J. Inf. Dis., 27:173-184.
- PACHECO, G.  
 1933. Rev. Paul. Med. Vet., N. S. 3(1-2):1-14.  
 1953. WHO/Bruc. Inform. Series, Febr. n.º 94; Brasil-Médico, 67(10-11): 170-171.
- PITTMAN, M.  
 1953. Comunicação pessoal. Meet. Soc. Amer. Bact., Maryland, April 28.
- RENOUX, G.  
 1952. Ann. Inst. Pasteur, 82(3):289-298.  
 1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 89.
- TRAUM, J.  
 1914. Ann. Rep., Bureau Animal Ind., 30:86.  
 1920. North Amer. Vet., 1(2). Em BERGEY & Cols.
- WILSON, G. S.  
 1933. J. Hygiene, 33:516-541.
- C — *Morfologia*
- ARIAS-STELLA, J.  
 1949-51. Rev. Med. Exper., 8:215-225.  
 1951. An. Fac. Med., Lima, Peru, 34:429-517.
- BABÉS & SALVAT  
 1912. Em "La Brucellosis Humana", A. Pedro-Pons & P. F. Valentí, Barcelona, 1944:31.
- BANG, B.  
 1897. Ztschr. f. Tiermed., 1:241-278.
- VON BORRIES & Cols.  
 1938. Year Book Gen. Med. Em "Brucellosis", H. J. Harris, 1st. Edition, New York, 1941:9.
- BRAUN, W. & HOWELL, E. V.  
 1950. J. Bact., 60:366-367.
- BRUCE, D.  
 1887. Practitioner, 39:161-170.  
 1893. Ann. Inst. Pasteur, 7:289-304.
- BUDDINGH, G. J. & WOMACK, F. C., JR.  
 1941. J. Exp. Med., 72:213-222.
- CASTAÑEDA, M. R.  
 1947. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 64:298-302.  
 1949. Gac. Med. Mexicana, 79:7-12.  
 1949. Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 25:72-74.
- CHRISTOFFERSEN, P. A. & OTTOSEN, H. E.  
 1941. Skand. Vet.-Tidskrift., 31:599-607.

- DUNCAN, J. T.  
1928. Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg., 22:269-280.
- FABYAN, M.  
1912. J. Med. Res., 26:441-487.
- FOSTER, J. W.  
1950. Proc. Virginia Acad. Sci., 29.  
1952. Comunicação pessoal.
- FRÖHNER, E. & ZWICK, G.  
1933. Patologia y Terapéutica Veterinarias, 2.<sup>a</sup> ed. espanhola, Barcelona, Tomo III:84.
- GARGANI, G. & SANTONI, M. G.  
1952. Boll. Ist. Sier. Mil., 31:265-273.
- GOODPASTURE, E. W. & ANDERSON, K.  
1937. Am. J. Path., 13:149-174.
- Groupe Mixte FAO/WHO d'Experts de la Brucellose  
1951. Rapport Prem. Session, Washington. 1950. Org. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 37:34 pp.  
1953. Rapport Deux. Session, Florence. 1952. Org. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 67:36 pp.
- HANSEN, K & KÖSTER, H.  
1936. Dtsch. Tierärztl. Wscht., 44:739. Em Christoffersen & Ottosen.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant Fever) 2nd. ed., rev. New York: 671 pp.
- HUDDLESON, I. F.  
1934. Brucella infections in animals and man, New York.  
1940. J. Amer. Vet. Med. Ass., 96:708.  
1941. Tech. Bull. n.º 177, Mich. Agric. Exp. Station: 11-14.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. edition, New York: 379 pp.
- HUGHES, M. L.  
1892. Medit. Naturalist, 2:325-327.
- LEMBKE, A. & Cols.  
1950. Z. Bakt., I Abt., Orig., 155:16-31.
- MALFATTI, M. G. & ITHURRALDE, D.  
1951. La Semana Medica, 98(2991):704-710.
- MEYER, K. F.  
1943. Em "Essays of Biology", Berkeley: 437-459.
- MICKLE, W. A.  
1940. J. Inf. Dis., 66:271-277.
- MUDD, S. & Cols.  
1951. J. Bact., 62:459-475; 729-739.
- NELSON, E. L. & PICKETT, M. J.  
1951. J. Inf. Dis., 89:226-232.
- NOVAK, J.  
1908. Ann. Inst. Pasteur, 22:541-556.
- NYKA, W.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc. México, 1946:675-690.

- OLSON, A.  
1941. Sv. Veterinärt. 46:69.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. Observações não publicadas.
- PIJPER, A.  
1952. J. Path. Bact., 64:529-538.
- PREISZ, H.  
1903. Z. Bakt., I Abt., Orig., 33:190-196.
- RITA, G. & DELLA VIDA, B. L.  
1951. Nuovi Ann. Ig. Microb., 2(4):324-329.
- SCANGA, F.  
1950. Rend. Ist. Sup. San., 13:1-66; 534-545.
- SHAFFER, J. M. & Cols.  
1953. J. Exp. Med., 97(1):77-90.
- SMITH, A. G.  
1950. J. Bact., 59:575-587.
- SMITH, TH.  
1919. J. Exp. Med., 29:451-456.
- SPINK, W. W.  
1952. New Engl. J. Med., 247:603-610.
- THIAGO DE MELLO, M. & SILVA, NÍBER P. M.  
1952. Ciência e Cultura, 4(3-4):126-127.  
1950-54. Observações não publicadas.  
1955. Mem. Inst. Osw. Cruz, 53(1):45-58.

D — *Caracteres culturais*

- HUDDLESON, I. F.  
1952. Studies in brucellosis, III, Memoir 6, Michigan State College, Part I: 7-63.
- PACHECO, G.  
1953. WHO/Bruc. Inform. Series. Febr., n.º 94. Brasil-Médico, 67(10-11): 170-171.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. Observações não publicadas.
- THOMSEN, A.  
1934. Acta Path. Microb. Scand., Suppl. 21:253 pp.

E — *Meios de cultivo*

- ARDREY, W. B.  
1941. Tech. Bull. n.º 177, Mich. Agric. Exp. Station: 3-10.  
Baltimore Biological Laboratory, Inc.  
1948. Culture media, materials and apparatus for the bacteriological laboratory, Baltimore: 118 pp.
- BANG, B.  
1897. Ztschr.f.Tiermed., 1:241-278.

- BRAUN, W.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:26-36.
- BROWN, J. H.  
1948. J. Bact., 55(6):871-872.
- Difco Laboratories, Inc.  
1948. Difco Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures, 8th ed., Detroit: 224 pp.
- FRÖHNER, E. & ZWICK, G.  
1933. Patologia y terapéutica veterinarias, 2.<sup>a</sup> ed. espanhola, Barcelona, Tomo III:82-126.
- GARGANI, G. & DONNINI, M. V.  
1953. WHO/Bruc. Inform. Series, July, n.º 96.  
1954. Riv. Ital. Igiene, 14(3-4). Em separata.
- GLASSMAN, H. N. & ELBERG, S.  
1946. J. Bact., 52:423-430.
- GORELICK, A. N. & Cols.  
1951. J. Bact., 61(4):507-513.
- Groupe Mixte FAO/WHO d'Experts de la Brucellose  
1951. Rapport Prem. Session, Washington, 1950. Org. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 37:34 pags.  
1953. Rapport Deux. Session, Florence, 1952. Org. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 67:36 pp.
- HOLTH, H.  
1911. Zeitsch. Infekt. Haust., 10:207-273.
- HUDDLESON, I. F.  
1937. J. Am. Med. Ass., 109:1971-1974.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed., New York: 379 pp.  
1954. Quart. Bull. Mich. Agric. Exp. Sta., 37:3-13.  
1955. Bact. Proc. Soc. Amer. Bact., 55th Gen. Meet.: 122.
- LANKFORD, C. E. & Cols.  
1952. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 80:727-731.
- LOPEZ, M. C.  
1936. Off. Intern. Épiz., 12:89-106.
- MARUCCO, G.  
1939. Pathologica, 31(575):389-391.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Washington, Nov.: 145-150.
- PANGALOS  
1932. C. R. Sc. Biol., 111:504-505.
- RENOUX, G.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 63.
- RODE, L. J. & Cols.  
1950. J. Bact., 60:661-668.  
1951. J. Bact., 62:571-582.
- SANDERS, E. & HUDDLESON, I. F.  
1950. Amer. J. Vet. Res., 11:75-83.

- SATTA, E.  
1948. *Giorn. Batt. Immun.*, 39:419-428.
- SCHUBERT, J. H.  
1951. *Am. J. Clin. Path.*, 21:894-896.
- SCHUHARDT, V. T. & Cols.  
1947. *J. Bact.*, 54(2):282.  
1949. *J. Bact.*, 57:1-8; 58:665-674.  
1950. *J. Bact.*, 60:655-660.  
1952. *J. Bact.*, 63:123-128.
- SOHRAB, H.  
1947. *Ann. Inst. Pasteur*, 73(9):916-918.
- SOUZA, H. R.  
1948. *O Hospital*, 34:207-211.
- SPINK, W. W.  
1952. *WHO/Bruc. Infor. Series*, Sept., n.º 70.
- STAFSETH, H. J.  
1920. *Tech. Bull. N.º 49*, Mich. Agric. Exp. Station.
- VERA, H. D.  
1944. *J. Bact.*, 47:455.
- F — *Condições para o cultivo*
- BANG, B.  
1897. *Ztschr. f. Tiermed.*, 1:241-278.
- BARCLAY, E. S.  
1953. *Bact. Proc., Soc. Amer. Bact.*: 25.
- CRUICKSHANK, J. C.  
1954. *J. Hygiene*, 52:105-118.
- GLASSMAN, H. N. & ELBERG, S.  
1946. *J. Bact.*, 52:423-430.
- HUDDLESON, I. F.  
1921. *Cornell Vet.*, 11:210-215.
- KUZDAS, C. D. & MORSE, E. V.  
1953. *J. Bact.*, 66(4):502-504.
- MARR, A. G. & WILSON, J. B.  
1950. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 75:433-440.  
1950. *Third Inter-Amer. Congr. Bruc.*, Washington. Nov.: 151-156.  
1951. *Arch. Bioch. Bioph.*, 34:442-448.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. *Ann. San. Publ.*, 10(5):1195-1325.
- MCALPINE, J. G. & SLANETZ, C. A.  
1928. *J. Inf. Dis.*, 42:66-72; 73-78.
- NEWTON, J. W. & Cols.  
1954. *J. Bact.*, 67:233-236; 68:74-76.
- NOVAK, J.  
1908. *Ann. Inst. Pasteur*, 22:541-556.

- PREISZ, H.  
1903. Z. Bakt., I Abt., Orig., 33:190-196.
- SANDERS, E. & HUDDLESON, I. F.  
1950. Amer. J. Vet. Res., 11:70-75; 75-83.
- TOPLEY, W. W. & WILSON, G. S.  
1936. The Principles of Bacteriology and Immunity, 2nd ed.  
London: 631-653.
- WILSON, G. S.  
1930. Brit. J. Exp. Path., 11:157-163.  
1931. Brit. J. Exp. Path., 12:88-92; 152-165.
- WILSON, G. S. & MILES, A. A.  
1946. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 3rd ed., London, Vol. I:814-837.

G — *Exigências nutritivas*

- GERHARDT, P. & WILSON, J. B.  
1948. J. Bact., 56:17-24.
- HOYER, B. H.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:9-25.
- KOSER, S. A. & Cols.  
1941. J. Inf. Dis., 69:114-124.
- LANKFORD, C. E. & Cols.  
1952. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 80:727-731.
- McCULLOUGH, W. C. & DICK, L. A.  
1943. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 52:310-311.
- McCULLOUGH, W. G. & Cols.  
1947. J. Bact., 55:5-15.
- RODE, L. J. & Cols.  
1950. J. Bact., 60(5):661-668.
- SANDERS, T. H. & Cols.  
1953. J. Bact., 66(3):294-299.
- SCHUHARDT, V. T. & Cols.  
1952. J. Bact., 63:123-128.
- WARING, W. S. & Cols.  
1953. J. Bact., 66(1):82-91.

H — *Cultivo em massa*

- BROWN, J. H. & WOOD, R. M.  
1948. Science, 107(2781):402.
- GEE, L. L. & GERHARDT, P.  
1946. J. Bact., 52:271-281.
- GERHARDT, P.  
1946. J. Bact., 52:283-292.
- GERHARDT, P. & GEE, L. L.  
1946. J. Bact., 52:261-269.

GLASSMAN, H. N. & ELBERG, S.  
1946. J. Bact., 52:423-430.

GORELICK, A. N. & Cols.  
1951. J. Bact., 61(4):507-513.

HOYER, B. H.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949:9-25.

SANDERS, E. & HUDDLESON, I. F.  
1950. Amer. J. Vet. Res., 11:70-75; 75-83.

I — *Atividades bioquímicas*

BERGEY, D. H. & Cols.  
1923. Manual of Determinative Bacteriology, 1st. edition.

CAMERON, H. S. & MEYER, M. E.  
1952. Amer. J. Vet. Res., 13(47):161-163.

CASELLI  
1947. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 23:825-826.

COLEMAN, M. B. & Cols.  
1930. J. Lab. Clin. Med., 15:641-642.

D'AMBROSIO, L.  
1943. Boll. Ist. Sier. Mil., 22:246-248.

DI AICHELBURG  
1935. Giorn. Batt. Immun., 7:17. Em Mazzetti & Tesi.

VAN ESPEN, J.  
1949. Rev. Belge Path. Méd. Expér., 19(6):299-308.

FROMAGEOT, C.  
1950. Em "The Enzymes", Academic Press. New York, 1950:1237.

GERHARDT, P.  
1949. The metabolism of amino acids and related compounds by Brucellae. Tese. Universidade de Wisconsin. Em Hoyer.

HOYER, B. H.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949:9-25.

HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed., New York: 379 pp.

KIEN-HUN, B. & KAN, W.  
1935. Z. Hyg. Infekt., 117:399-402.

LEVINE, H. B.  
1949. Studies on *Brucella abortus*. I — Experimental vaccines. II — Respiratory studies. Tese. Universidade de Wisconsin. Em Hoyer.

MANNOZZI-TORINI, M. & VENDRAMINI, R.  
1941. Boll. Ist. Sier. Mil., 20:4-12; 13-18.

MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325

MCALPINE, J. G. & SLANETZ, C. A.  
1928. J. Inf. Dis., 42:66-72; 73-78.

- MCCULLOUGH, N. B. & BEAL, G. A.  
1951. J. Inf. Dis., 89:266-271.
- MCNUTT, S. H. & PURWIN, P.  
1931. J. Inf. Dis., 48:292-294.
- MEYER, K. F. & SHAW, E. B.  
1920. J. Inf. Dis., 27:173-184.
- PACHECO, G.  
1933. Rev. Paul. Med. Vet., 3, N. Série (1-2):1-14.
- PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
1940. Mem. Inst. Osw. Cruz, 35(2):381-397.
- PICKETT, M. J. & NELSON, E. L.  
1955. J. Bact., 69(3):333-336.
- PLASTRIDGE, W. N. & McALPINE, J. G.  
1930. J. Inf. Dis., 47:478-484.  
1931. J. Inf. Dis., 49:127-134.
- SANDERS, E. & HUDDLESON, I. F.  
1950. Amer. J. Vet. Res., 11(38):70-75; 75-83.
- SCHUHARDT, V. T. & Cols.  
1950. J. Bact., 60:655-660.  
1952. J. Bact., 63:123-128.
- STEINBACH, K. F.  
1940. Investigations into bacterial respiration with special reference to hydrogen donors. Tese. Universidade de Zurich: 79 pp.
- THIAGO DE MELLO, M. & SILVA, NÍBER P. M.  
1952. Ciência e Cultura, 4(3-4):126-127.  
1955. Mem. Inst. Osw. Cruz, 53(1):45-58.
- TYLER, M. E.  
1948. A study of the aerobic metabolism of *Brucella abortus* strain 19. Tese. Universidade de Ohio. Em Hoyer.
- J — Atividade respiratória
- ALTENBERN, R. A. & HOUSEWRIGHT, R. D.  
1951. J. Bact., 62(1):97-105.
- ATTIMONELLI, R.  
1942. Boll. Ist. Sier. Mil., 21:238-240. Em Hoyer.
- CAMERON, H. S. & Cols.  
1952. J. Bact., 64:709-712.
- CAMERON, H. S. & MEYER, M. E.  
1954. J. Bact., 67(1):34-37.  
1954. Amer. J. Vet. Res., 15(56):472-474.  
1955. Amer. J. Vet. Res., 16(58):149-151.
- ERLANDSON JR., A. L. & GERHARDT, P.  
1954. Comunicação pessoal.
- FREI, W.  
1936. Erg. Allg. Path. u. Path. Anat., 31:1-200.

- GERHARDT, P.  
1949. The metabolism of amino acids and related compounds by *Brucellae*. Tese. Universidade de Wisconsin. Em Hoyer.
- GERHARDT, P. & COLS.  
1950. *J. Bact.*, 60:459-467.  
1953. *J. Bact.*, 65:581-586.
- HOYER, B. H.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:9-25.
- KIEN-HUN, B. & KAN, W.  
1935. *Z. Hyg. Infekt.*, 117:399-402.
- LEVINE, H. B.  
1949. Studies on *Brucella abortus*. I — Experimental vaccines. II — Respiratory studies. Tese. Universidade de Wisconsin. Em Hoyer.
- MANNOZZI-TORINI, M. & VENDRAMINI, R.  
1941. *Boll. Ist. Sier. Mil.*, 20:4-12; 13-18.
- MARR, A. G. & COLS.  
1953. *J. Bact.*, 66(5):606-610.
- MCCULLOUGH, N. B. & BEAL, G. A.  
1951. *J. Inf. Dis.*, 89:266-271.  
1952. *J. Inf. Dis.*, 90:196-204.
- SPÖRRI, H.  
1936. Tese. Universidade de Zurich. Em Steinbach.
- STEINBACH, K. F.  
1940. Investigations into bacterial respiration with special reference to hydrogen donors. Tese. Universidade de Zurich: 79 pp.
- THIAGO DE MELLO, M. & SILVA, NÍBER P. M.  
1952. *Ciência e Cultura*, 4(3-4):126-127.  
1955. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 53(1):45-58.
- K — *Enzimas*
- FOSTER, J. W.  
1950. Comunicação pessoal.
- FOSTER, J. W. & COLS.  
1950. *Proc. Virginia Acad. Sci.*, 29.
- GARY, N. D. & COLS.  
1955. *J. Bact.*, 69(4):478-479.
- HOYER, B. H.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:9-25.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. *Brucellosis in man and animals*. Rev. ed., New York: 379 pp.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. *J. Bact.*, 59:689-691.
- ROESSLER, W. G. & COLS.  
1952. *J. Biol. Chem.*, 194(1):207-213.
- SANDERS, E. & WARNER, J.  
1953. *Amer. J. Vet. Res.*, 14(52):388-391.

L — *Composição química e estrutura antigênica*

- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 pp.
- FOSTER, J. W.  
1954. Comunicação pessoal.
- GARY, N. D. & COLS.  
1955. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact., 55th Gen. Meet.: 138.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Pub., 10(5):1195-1325.
- MILES, A. A. & PIRIE, N. W.  
1939. Em Topley & Wilson.
- MINOPRIO, J. L.  
1953. Assoc. Méd. San Juan, Diciembre: 1-7. Em separata.
- PENNELL, R. B.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:37-49.
- PENNELL, R. B. & HUDDLESON, I. F.  
1937. Tech. Bull. n.º 156, Mich. Agric. Exp. Station: 1-31.
- RENOUX, G. & MAHAFFEY, L. W.  
1955. WHO/Bruc. Inform. Series, Febr., n.º 108.
- TOPLEY, W. W. C. & WILSON, G. S.  
1936. The principles of Bacteriology and Immunity. 2nd. ed., London: 631-653.

M — *Resistência aos agentes físico-químicos*

- BALL, O. C.  
1943. Industrial Eng. Chem., 35:71-84.
- BOAK, R. & CARPENTER, C. M.  
1928. J. Inf. Dis., 43:327-329.  
1931. J. Inf. Dis., 49:485-489.
- BOSGRA, O.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 22.
- BOYD, D. M. & CASMAN, E. P.  
1951. Publ. Health Rep., 66(2):44-49.
- BRAUN, W.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:26-36.
- BRYER, M. S. & COLS.  
1949. Bull. Johns Hopkins Hosp., 84(5):444-460.
- BUNNELL, D. E. & COLS.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8(29):367-373.
- CAMERON, H. S. & MEYER, M. E.  
1954. Amer. J. Vet. Res., 15(56):472-474.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 pp.
- COSTA, E. & LODDO, B.  
1951. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 27(12):1622-1624.

- COTTON, C. M. & SWOPE, R. E.  
1948. Amer. J. Vet. Res., 9:164-168.
- CRISCUOLO, E. & COLS.  
1950. Rev. Fac. Ci. Méd. Córdoba, 8(5-6).  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Washington, Nov.: 285-295.  
1951. El Dia Médico, 23(12); (17):695-697; (18):735-739.
- CRUICKSHANK, J. C.  
1949. Monthly Bull. Min. Health & Pub. Health Lab. Service, 8:190-202.
- DEL VECCHIO, G. & COLS.  
1946. Em Mazzetti & Tesi.
- DUQUÉNOIS, P. & GREIB, É.  
1953. C. R. Acad. Sci., 237:1354-1355.
- ELBERG, S. S. & COLS.  
1955. J. Bact., 69(6):643-648.
- ELBERG, S. S. & GLASSMAN, H. N.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8(28):314-316.
- ERLICH, J. & COLS.  
1947. Science, 106:417.
- EYRE, J. W. H.  
1908. Lancet, 1:1677-1682.
- FEINSILVER, O.  
1955. Amer. Pract. Dig. Treat., 6(1):34-41.
- FELSENFELD, O. & COLS.  
1950. J. Lab. Clin. Med., 35(3):428-433.
- FOSTER, H. G. & COLS.  
1953. J. Milk & Food Techn., 16(3).
- GARGANI, G.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 73.  
1953. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 29(9-11):1851-1852.
- GILMAN, H. L. & COLS.  
1946. J. Dairy Science, 29(2):71-85.
- GILMAN, H. L. & MARQUADT, J. C.  
1951. J. Milk & Food Techn., 14(2).
- GIULIANO, O. & GIUSEPPE, P.  
1949. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 25(11-12):1477-1480; 1480-1482.
- GOTTLIEB, D. & COLS.  
1951. Phytopathology, 41(5):393-400.
- GREIB, É.  
1954. Comunicação pessoal.
- GREIB, É. & DUQUÉNOIS, P.  
1953. Bull. Acad. Nat. Med. 137(21-23):319-322.  
1954. Bull. Acad. Nat. Med. 138(3-4):63-65.
- HARDING, H. B. & RALEIGH, G. W.  
1950. J. Inf. Dis., 86:88-94.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant Fever). 2nd. ed., rev. New York: 671 pp.

- HATA, T. & COLS.  
1949. *Kitasato Arch. Exper. Med.*, 22(4):1-14.
- HEILMAN, F. R.  
1945. *Em Waksman & Schatz*.
- HEILMAN, F. R. & COLS.  
1952. *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic*, 27:285-304.
- HERZBERG, M. & COLS.  
1953. *J. Bact.*, 66(5):600-605.
- HERZBERG, M. & ELBERG, S.  
1953. *J. Bact.*, 66:585-599.
- HIPÓLITO, O. & HUDDLESON, I. F.  
1953. *Arq. Esc. Sup. Vet., Estado de Minas Gerais*, 6:75-95.
- HORNIBROOCK, J. W.  
1950. *J. Lab. Clin. Med.*, 35(5):788-792.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. *Brucellosis in man and animals*. Rev. ed., New York: 379 pp.  
1948. *Amer. J. Vet. Res.*, 9(32):277-285.  
1954. *Quart. Bull. Mich. Agric. Exper. Station*, 37(1):14-22.  
1955. *Quart. Bull. Mich. Agric. Exper. Station*, 37(4):574-580.
- HUDDLESON, I. F. & COLS.  
1932. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 83:16-30.  
1950. *Amer. J. Vet. Res.*, 11(41):366-370.
- HUTCHINGS, L. M. & COLS.  
1951. *Publ. Health Rep.*, 66(43):1402-1408.
- HUTTON, R. S. & COLS.  
1951. *J. Bact.*, 61(3):309-319.
- JURADO, F. R. & COLS.  
1951. *Publ. Misc., Min. Agric. Ganaderia, Bs. Aires*, n.º 353:1-15.
- VON KENNEL, J. & COLS.  
1943. *Klin. Woch.* (16-17):321.
- KNIGHT, V. & COLS.  
1951. *A. M. A. Arch. Int. Med.*, 87:835-843.
- KOLLE, W. & WASSERMANN, A. VON  
1928. *Handbuch d. path. Mikroorg.*, 3.<sup>a</sup> ed., 4(1):511-584.  
1929. *Handbuch d. path. Mikroorg.*, 3.<sup>a</sup> ed., 6(2):693-750.
- KRONENWETT, F. R. & COLS.  
1954. *J. Dairy Sci.*, 37(11):1291-1302.
- LACY, H. & LANKFORD, C. E.  
1949. *Texas Rep. Biol. Med.*, 7(2):260-269.
- LEAR, S. A. & FOSTER, H. G.  
1949. *J. Dairy Sci.*, 32:509-514.
- LEMBKE, A. & COLS.  
1950. *Z. Bakt., I Orig.*, 155:153-159.
- LEÓN, A. P. & CANO, C.  
1954. *Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop.*, 14(1):5-18.

- LEVINSON, S. O. & Cols.  
1944. J. A. M. A., 125:531-532.
- LIMA, O. G. & Cols.  
1954. An. Soc. Biol. Pernambuco, 12(1):9-17.
- LUSTIG, A. & VERNONI, G.  
1928. Em Kolle & Wassermann, Handb. path. Mikroorg., 3.<sup>a</sup> ed., 4(1):511-584.
- MACEDO, L. R. T.  
1949. Ação bacteriostática e bactericida, "in vitro", do ácido para-amino salicílico (sal sódico) sobre as brucelas. Tese. Escola Fluminense de Medicina Veterinária: 61 pp.  
1951. Rev. Mil. Rem. Vet., 11(1):1-17.
- MARAL, R.  
1947. C. R. Soc. Biol., 141(17-18):942-943.
- MARTIN-DUPONT, C.  
1952. Recherches sur la mycoine C. Tese. Faculdade de Medicina de Bordeaux: 87 pp.
- MAZÉ, P. & CÉSARI, E.  
1931. C. R. Soc. Biol., 108:630-632.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325.
- MCGUIRE, J. M. & Cols.  
1952. Antib. & Chemoth., 2:281-283.
- MELLO, G. C. & Cols.  
1951. J. Lab. Clin. Med., 37(4):579-583.
- MICHELIO, P. A.  
1729. Nova Plantarum Genera. Florença.
- MOLINELLI, E. A. & Cols.  
1950. El Dia Medico, 22(76):3307-3362.
- MORALES-OTERO, P.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 135-139.
- MURRAY, R. & Cols.  
1947. New Engl. J. Med., 236(19):701-712.
- NEGRI, R. & RAVAIOLI, L.  
1951. Rend. Ist. Sup. San., 14:179-185.
- OLITZKI, A. L. & SZENBERG, E.  
1953. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 82:539-541.
- PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
1941. Rev. Bras. Biol., 1(1):87-93.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1948. Brasil-Médico, 62(12-13):131-135.  
1948. Mem. Inst. Osw. Cruz, 46(4):661-667.  
1951. Observações não publicadas.
- PULASKI, E. J. & ROSENBERG, M. L.  
1949. J. Urology, 62(4):564-573.
- REIMANN  
1945. Em Waksman & Schatz.

- RENOUX, G. & ROUX, J.  
1951. *Ann. Inst. Pasteur*, 80:189-195.
- RHODES, M.  
1949. *J. Gen. Microb.*, 4(3):450-456.
- ROSSI, F. A. & CEDRO, V. C. F.  
1950. *Gac. Vet., Bs. Aires* (59).
- SANCHEZ, F. R. & COLS.  
1953. *Medicina, México*, 33 (685):449-455.
- SANDERS, G. P. & SAGER, O. S.  
1948. *J. Dairy Sci.*, 31:845-857.
- SCANGA, F.  
1950. *Rend. Ist. Sup. San.*, 13:534-545.
- SCHLINGMAN, A. S. & MANNING, M. C.  
1950. *Proc. 53rd Ann. Meet. U. S. Liv. San. Ass.*: 48-57.
- SERRA, A.  
1950. *Arch. Vet. Ital.*, 1:153-167.  
1951. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.*, 5:11pp.
- SICCA, G. T.  
1952. *Nuovi Ann. Ig. Microb.*, 3(1):1-5.
- SIEGRIST, U. J.  
1953. *Comunicação pessoal*.
- SIGNORELLI, S.  
1949. *L'Infezione Brucellare nell'Uomo*, 2.<sup>a</sup> ed., Napoli: 437 pp.
- SLAVIN  
1945. *Em Waksman & Schatz*.
- SMITH, G. N. & COLS.  
1948. *J. Bact.*, 55(3):425-448.
- SPINK, W. W. & ANDERSON, D.  
1950. *J. Lab. Clin. Med.*, 35(3):440-445.
- TERNI, M. & TESI, A.  
1949. *Boll. Ist. Sier. Mil.*, 28:259-263.
- THIAGO DE MELLO, M.  
1953. *Science*, 118(3067):413-415.  
1953. *WHO/Bruc. Inform. Series*, July, n.º 97.
- VERNA, L. C. & COLS.  
1949. *Arch. Farm. y Bioq. Tucumán*, 4(3):219-232.  
1950. *Arch. Farm. y Bioq. Tucumán*, 4(4):327-332.
- VERWEY, W. F.  
1944. *Proc. 48th Ann. Meet. U. S. Liv. San. Assoc.* (1945):68-73.
- VERWEY, W. F. & MATT, C.  
1950. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 116(877):296-297.
- VERWEY, W. F. & SCHEIDY, S. F.  
1946. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 99:362-365.
- VIOLLE, H.  
1936. *C. R. Soc. Biol.*, 122:370-372.

- WAKSMAN, S. & SCHATZ, A.  
1945. J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 34(11):273-291.
- WAKSMAN, S. & WOODRUFF, H. B.  
1942. J. Bact., 44(3):373-384.
- WOODWARD, T. E. & COLS.  
1949. J. Clin. Invest., 28(5):968-976.
- YAW, K. E. & KAKAVAS, J. C.  
1952. J. Bact., 62(2):263-268.
- YOW, E. M. & SPINK, W. W.  
1949. J. Clin. Invest., 28(5):871-885.
- N — *Patogenicidade*
- ABERNATHY, R. & SPINK, W. W.  
1952. J. Clin. Invest., 31(11):947-957.
- BAY, W. W. & COLS.  
1951. Proc. Book, Amer. Vet. Med. Assoc., 88th Ann. Meet.: 142-148.
- BER, A.  
1936. C. R. Soc. Biol., 122:845-846.
- BERTHELON, M.  
1947. Les brucelloses animales. Toulouse: 217 pp.
- BOAK, R. A. & COLS.  
1953. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact.: 46.
- BRAUDE, A. I.  
1951. J. Inf. Dis., 89(1):76-86; 87-94.
- BRAUDE, A. I. & ANDERSON, D.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:50-61.
- BRAUDE, A. I. & SPINK, W. W.  
1950. J. Immun., 65(2):185-199.  
1951. J. Inf. Dis., 89:272-276.
- BUNNELL, D. E. & COLS.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8(29):367-373.
- CAMERON, H. S.  
1951. Cornell Vet., 41(2):110-114.
- CARPENTER, C. M. & COLS.  
1953. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact.: 47.
- CRISCUOLO, E. & COLS.  
1951. El Dia Medico, 23(12).
- CRUICKSHANK, J. C.  
1949. Monthly Bull. Min. Health & Publ. Health Lab. Service, 8:190-202.
- DEVERELL, M. W. & KAKAVAS, J. C.  
1955. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact., 55th Gen. Meet.: 105.
- DISHON, T. & OLITZKI, L.  
1949. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 71:698-700.
- FABYAN, M.  
1912. J. Med. Res., 26(132):441-487.

- FLOYD, T. M. & HOOGSTRAAL, H.  
1954. *J. Hygiene*, 52(4):516-524.
- GARGANI, G.  
1952. *WHO/Bruc. Inform. Series*, Sept., n.º 71.
- GODGLÜCK, G.  
1952. *Z. Bakt., I Orig.*, 159(1-2):63-70.
- HARDY, A. V. & COLS.  
1930. *Em Morales-Otero*.
- HILLAERT, E. L. & COLS.  
1950. *Amer. J. Vet. Res.*, 11(38):84-88.
- HOLM, L. W. & McNUTT, S. H.  
1949. *Amer. J. Vet. Res.*, 10(37):336-340.
- HOLM, L. W. & MOORE, W. G.  
1950. *Amer. J. Vet. Res.*, 11(39):211-213; 214-216.
- HOERLEIN, A. B.  
1952. *Amer. J. Vet. Res.*, 13(46):67-73.
- HUDDLESON, I. F.  
1948. *Amer. J. Vet. Res.*, 9(32):277-285.
- HUDDLESON, I. F. & COLS.  
1945. *Science*, 101(2623):358-359.  
1945. *J. Bact.*, 50(3):261-277.
- HUTCHINGS, L. M. & COLS.  
1950. *Amer. J. Vet. Res.*, 11(41):338-392.
- IRWIN, M. R. & BEACH, B. A.  
1946. *J. Agric. Res.*, 72(2):83-91.
- IRWIN, M. R. & BELL, F. N.  
1935. *J. Inf. Dis.*, 57:74-77.
- JACOTOT, H. & VALLÉE, A.  
1954. *Ann. Inst. Pasteur*, 86:29-37; 101-104.
- JONES, L. M.  
1953. *J. Inf. Dis.*, 92:26-32.
- JONES, L. M. & BERMAN, D. T.  
1951. *J. Inf. Dis.*, 89:214-223.
- KELLY, E. H. & HENLEY JR., T. F.  
1947. *J. Bact.*, 54(1):80-81.
- KNIGHT, V.  
1950. *Ann. N. York Acad. Sci.*, 53(2):332-344.
- LARSON, C. L. & COLS.  
1949. *Ann. N. York Acad. Sci.*, 51(5):982-986.
- LEÓN, A. P. & CANO, C.  
1954. *Rev. Inst. Salub. Enf. Trop.*, 14(1):5-18.
- LIVE, I. & GIULIANI, L. A.  
1953. *J. Immun.*, 71(4):187-191.
- MAZZETTI, G.  
1950. *WHO/Bruc. Inform. Series*, Nov., n.º 25.

- MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
1939. Rev. Ind. Animal, 8, N. Série, 2(4):93-108.
- MINOPRIO, J. L.  
1951. Rev. Med. Cordoba, 39:77-81.  
1953. Asoc. Méd. San Juan. Dec.: 1-7.
- MORALES-OTERO, P.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 173 pp.
- MORSE, E. V. & COLS.  
1951. Amer. J. Vet. Res., 12(44):219-223; (45):324-325.
- NUNNO, R.  
1914. Deut. Arch. Klin. Med., 116:275-294.
- OLITZKI, A. L.  
1953. Acta Med. Orientalia, 12(7-8):230-237.
- OLITZKI, L. & OREN, R.  
1950. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73:617-618.
- PACHECO, G. & COLS.  
1955. WHO/Bruc. Inform. Series, March, n.º 109.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. 5.º Congr. Intern. Microb. Rio de Janeiro. Em impressão.  
1951. Observações não publicadas.
- PARFENTJEV, I. A.  
1953. 6.º Congr. Intern. Microb. Roma. Comun., Vol. III, Sez. XVII-XXII: 38.  
1953. J. Gerontology, 8(3). Em separata.  
1953. Yale J. Biol. Med., 26(1):75-77.
- PENNELL, R. B.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949:37-49.
- POMALES-LEBRÓN, A. & FERNÁNDEZ, C.  
1953. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 84:535-538.
- RENOUX, G. & ROUX, J.  
1951. Ann. Inst. Pasteur, 80:425-428.
- RICHARDSON, M. A. & HUDDLESON, I. F.  
1952. Studies in Brucellosis, III. Memoir 6, Mich. State Coll., Agric. Exp. Station: 84-114.
- SHAFFER, J. M. & COLS.  
1953. J. Immun., 70(1):31-38.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo. 2.ª ed. Napoli: 437 pp.
- STUBBS, E. L. & COLS.  
1945. Amer. J. Med. Sci., 209:78-85.
- TAVONI, V. & FACCINCANI, F.  
1950. Riv. Med. Vet. Zoot., 2(3-4):71-78.
- TEMPEREAU, C. E. & COLS.  
1951. Ann. Western Med. Surg., 12(5):997-999.
- THOMSEN, A.  
1949. Nord. Vet., 1:797-804.  
1950. Brit. Vet. J., 106:41-54.

- TOPLEY, W. W. C. & WILSON, G. S.  
1936. *The Principles of Bacteriology and Immunity*. 2nd. ed. London: 631-653.
- VICTOR, J. & COLS.  
1952. *J. Inf. Dis.*, 91:19-25.
- WARING, W. S. & COLS.  
1953. *J. Bact.*, 66(1):82-91.
- WASHKO, F. V. & COLS.  
1951. *Amer. J. Vet. Res.*, 12(45):320-323.
- WASHKO, F. V. & HUTCHINGS, L. M.  
1951. *Amer. J. Vet. Res.*, 12(44):165-174.
- WEIMER, H. E. & COLS.  
1954. *Bact. Proc., Soc. Amer. Bact.*: M 65.
- WELLMANN, G.  
1952. *Z. Bakt., I Orig.*, 158(7-8): 513-518.
- WERNER, C. H. & KNIGHT, V.  
1950. *J. Immun.*, 65(5):509-514.
- WIPF, L. & COLS.  
1952. *Amer. J. Vet. Res.*, 13(48):366-372.
- O — *Imunidade na brucelose*
- BEACH, A. P.  
1935. *J. Inf. Dis.*, 56:38-40.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1948. Informação pessoal.
- HUDDLESON, I. F.  
1948. *Amer. J. Vet. Res.*, 9:277-285.
- HUDDLESON, I. F. & COLS.  
1945. *Science*, 101(2623):358-359.  
1945. *J. Bact.*, 50(3):261-277.
- IRWIN, M. R. & BEACH, B. A.  
1946. *J. Agric. Res.*, 72(2):83-91.
- IRWIN, M. R. & BELL, F. N.  
1935. *J. Inf. Dis.*, 57:74-77.
- IRWIN, M. R. & COLS.  
1936. *J. Inf. Dis.*, 58:15-22.
- KELLY, E. H. & COLS.  
1953. *J. Inf. Dis.*, 93:181-186; 187-191.
- LACERDA JR., P. M. G. DE  
1948. Contribuição para o estudo das variações do poder bastericida do plasma na brucelose bovina. Tese. Fac. Med. Vet. São Paulo: 35 pp.
- LACERDA JR. P. M. G. & COLS.  
1949. *Ciência e Cultura*, 1(3):104-106.
- MINOPRIO, J. L.  
1951. *Rev. Méd. Cordoba*, 39:77.  
1955. *Prensa Méd. Argent.*, 42(14):943-951.

- POMALES-LEBRON, A. & FERNÁNDEZ, C.  
1953. Proc. Soc. Exp. Biol. Méd., 84:535-538.
- RICHARDSON, M. A. & HUDDLESON, I. F.  
1952. Studies in brucellosis, III. Memoir 6, Michigan State College, Part 5:84-114.
- ROGER, H.  
1921. Em "Traité de Path. Méd. Thér. Appl. XV — Inf. a germe connu, Paris: 487-513.
- VICTOR, J. & COLS.  
1952. J. Inf. Dis., 91:19-25.
- WRIGHT, A. E.  
1895. Em Roger.
- P — *Bacteriófagos*
- PICKETT, M. J. & NELSON, E. L.  
1950. J. Hygiene, 48(4):500-503.
- SMITH, H. W.  
1949. J. Hygiene, 47(4):414-415.
- Q — *Variacão*
- ALESSANDRINI, A. & SABATTUCI, M.  
1931. An. d'Igiene, 41:29-34.
- ARDREY, W. B.  
1943. Em Huddleson.
- BERMAN, D. T. & IRWIN, M. R.  
1954. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 125(932):401-405.
- BRAUN, W.  
1945. Science, 101(2616):182-183.  
1946. J. Bact., 51:327-349; 579-580; 52:243-249.  
1947. J. Bact., 53:250-251.  
1947. Bact. Rev., 11:75-114.  
1947. Amer. Natur., 81(799):262-275.  
1948. Proc. Soc. Amer. Bact., 1:4.  
1949. J. Bact., 58:291-297; 299-305.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949:26-36.  
1953. Bacterial Genetics, W. B. Saunders, Filadelfia.
- BRAUN, W. & BONESTELL, A. E.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8(29):386-390.
- BRAUN, W. & COLS.  
1951. J. Bact., 62(1):45-52.  
1952. J. Bact., 64(1):41-47.
- BRAUN, W. & HAUGE, S.  
1948. J. Immun., 60:443-453.
- BRAUN, W. & HOWELL, E. V.  
1950. J. Bact., 60:366-367.
- BRAUN, W. & MEAD, D.  
1949. Soc. Amer. Bact., 49th Gen. Meet., Abstr. papers: M 41.

- BURNET, E.  
1928. Arch. Inst. Pasteur Tunis, 17(2):128-146.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucellosis. México: 253 pp.
- COLE, L. J.  
1950. J. Immun., 65(5):485-490.
- COLE, L. J. & BRAUN, W.  
1950. J. Immun., 64:111-122.
- D'AMORE, A.  
1952. Rend. Ist. Sup. San., 15:439-447.
- DI AICHELBURG, V.  
1934. Boll. Sez. Ital., 6:30. Em Huddleson.
- FAVILLI  
1926. Lo Sperimentale, 80:395. Em Mazzetti & Tesi.
- GOODLOW, R. J. & COLS.  
1950. J. Bact., 60:291-300.  
1951. Arch. Biochem., 30(2):402-406.  
1951. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 76:786-788.  
1952. J. Bact., 63:681-685.
- HENRY, B. S.  
1933. J. Inf. Dis., 52:374-402; 403-406.
- HUDDLESON, I. F.  
1946. Amer. J. Vet. Res., 7(22):5-10.  
1952. Studies in Brucellosis, III. Memoir 6, Mich. State Coll., Agric. Exp. Station: 7-63; 77-83.
- HUDDLESON, I. F. & BALTZER, B.  
1950. Mich. Agric. Exp. Station, Jour. Art. 1129, N. S.: 50-51.  
1950. Science, 112(2918):651-652.  
1950. 5.º Congr. Intern. Microb., Rio de Janeiro. Res. trab.; 40-41.
- HUDDLESON, I. F. & BENNETT, G. R.  
1948. Mich. Agric. Exp. Station Quart. Bull., 31(2):139-156.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325.
- MORALES-OTERO, P.  
1931-32. Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 7:233-273.
- MUNGER, M. & HUDDLESON, I. F.  
1938. J. Bact., 35:255-260.
- NÈGRE, L. & RAYNAUD, M.  
1912. C. R. Soc. Biol., 72:791-793.
- PICKETT, M. J. & COLS.  
1953. J. Bact., 66(2):210-219.
- PLASTRIDGE, W. N. & McALPINE, J. G.  
1930. J. Inf. Dis., 46:315-323.
- SCHLINGMAN, A. S. & MANNING, M. C.  
1950. Proc. 53rd Ann. Meet. U. S. Liv. San. Assoc.: 48-57.
- SERGEANT & COLS.  
1908. Em Mazzetti & Tesi.

DELLA VIDA, B. L.

1949. Atti XIII Congr. Ig., S. Remo: 5 pp.

1950. Nuovi Ann. d'Igiene Microb., 1(3):174-187.

WARING, W. S. & COLS.

1953. J. Bact., 66(1):82-91.

WHITE, P. B.

1929. J. Path. Bact., 32:85-94.

WHITE, P. G. & WILSON, J. B.

1951. WHO/Bruc. Inform. Series, Jan., n.º 35.

1951. J. Bact., 61(2): 239-240.

WOODS, G. T.

1954. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 124(925):310-313.

R — *Diferenciação entre as espécies ou tipos de brucelas*

ANDERSON, T. C.

1945. Science, 101(2627):470.

ARDREY, W. B.

1941. Tech. Bull. n.º 177, Mich. Agric. Exp. Station: 3-10.

ARTIGAS, P. T.

1934. An. Paul. Med. Cir., 27(2):153-191.

BANG, B.

1897. Ztsch. Tiermed., 1:241-278.

BAUER, H.

1949. A study of *Brucella* and *Proteus* urease. Tese. Universidade de Minnesota. Em Hoyer.

BENDTSEN, H.

1954. Nord. Vet. Med., 6:355-365.

BRAUDE, A. I.

1951. J. Inf. Dis., 89(1):76-86; 87-94.

BRAUDE, A. I. & ANDERSON, D.

1950. Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949:50-61.

BRAUN, W. & OGLESBY, G.

1953. WHO/Bruc. Inform. Series, Aug., n.º 100.

BROTZU

1927. Em Mazzetti & Tesi e Signorelli.

BRUCE, D.

1887. Practitioner, 39:161-170.

1893. Ann. Inst. Pasteur, 7:289-304.

BRUNI, A. & DE FELIP, G.

1954. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 30(7):793-795.

CAMERON, H. S. & MEYER, M. E.

1952. Amer. J. Vet. Res., 13(46):10-12; (47):161-163.

CARRÈRE, L.

1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 65.

- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 pp.  
1942. J. Immun., 43:203-211.
- CASTAÑEDA, M. R. & CARRILLO-CÁRDENAS, C.  
1954. WHO/Bruc. Inform. Series, March, n.º 105.
- CEDRO, V. C. F.  
1953. Publ. Misc. n.º 377, Min. Agric. Ganad., Bs. Aires: 7 pp.
- CHRISTENSEN, W. B.  
1946. J. Bact., 52:461-466.
- CONFALONE, R.  
1932. Em Signorelli.
- CRUICKSHANK, J. C.  
1948. J. Path. Bact., 60:328-329.
- CRUICKSHANK, J. C. & MADGE, B.  
1954. J. Hygiene, 52(1):105-118.
- DEL VECCHIO, V.  
1938. Ann. Igiene, 48(12):717-732.
- DI AICHELBURG, V.  
1934. Boll. Sez. Ital., 6:30. Em Huddleson.
- DRIMMELEN, G. C. VAN  
1953. South Afr. J. Sci., 49:299-302.
- ESPEN, J. VAN  
1949. Rev. Belge Path. Méd. Exp., 19(6):299-308.
- EVANS, A. C.  
1918. J. Inf. Dis., 22:580-593.
- FAVILLI, G.  
1930. Sper. Arch. Biol. Norm. Patol., 84:287-299.  
1931. Z. Bakt., 120:24-34.
- FERGUSON, W. W. & HOOK, H. E.  
1943. J. Lab. Clin. Med., 28:1715-1719.
- FEUSIER, M. L. & MEYER, K. F.  
1920. J. Inf. Dis., 27:185-206.
- FOSTER, J. W.  
1950. Comunicação pessoal.  
1952. Comunicação pessoal.
- FROMAGEOT, C.  
1950. Em "The Enzymes", Academic Press: 1237.
- FULLER, A. T.  
1938. Brit. J. Exper. Path., 19:130-139.
- GARGANI, G. & DONNINI, M. V.  
1954. Boll. Ist. Sieroter. Milan., 33(5-6):274-281.
- GODGLÜCK, G.  
1952. Z. Bakt., I Orig., 159(1-2):63-70.
- GODGLÜCK, G. & COLS.  
1954. Z. Bakt., I Orig., 161:138-145.

## Groupe Mixte FAO/WHO d'Experts de la Brucellose

1951. Rapport Prem. Session, Washington, 1950. Org. Mond. Santé, Sér. Rap. Tech., 37:34 pp.
1953. Rapport Deux. Session, Florence, 1952. Org. Mond. Santé, Sér. Rap. Tech., 67:36 pp.
- HOYER, B. H.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949:9-25.
- HUDDLESON, I. F.  
1929. Tech. Bull. n.º 100, Mich. Agric. Exp. Station.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed. New York: 379 pp.  
1952. Studies in brucellosis, III. Memoir 6, Mich. State Coll., Agric. Exp. Station: 7-63; 77-83.
- HUDDLESON, I. F. & ABELL, E.  
1927. J. Bact., 13:13-15.  
1928. J. Inf. Dis., 43(1):81-89.
- HUDDLESON, I. F. & BALTZER, B.  
1950. Mich. Agric. Exp. Station Journal Article n.º 1129, N. S.: 50-51.  
1950. Science, 112(2918):651-652.  
1950. 5.º Congr. Intern. Microb., Rio de Janeiro. Res. trabalhos: 40-41.
- HUDDLESON, I. F. & WHITE, E. A.  
1954. Mich. Sta. Coll. Veterinarian, 14(3):120-121.
- HUDDLESON, I. F. & WINTER, O. B.  
1927. J. Inf. Dis., 40:476-478.
- KRISTENSEN, M.  
1931. Z. Bakt., 120:179-196.
- KUZDAS, C. D. & MORSE, E. V.  
1953. J. Bact., 66(4):502-504.
- LEVINE, H. B. & WILSON, J. E.  
1949. J. Inf. Dis., 84:10-14.
- MALLARDO, C. A.  
1930. J. Trop. Med. Hyg., 33:125-126.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325.
- MCALPINE, J. G. & SLANETZ, C. A.  
1928. J. Inf. Dis., 42:66-72; 73-78.
- MCLEOD, D. H.  
1944. J. Comp. Path. Therap., 54:248-252.
- MEYER, K. F. & EDDIE, B.  
1930. J. Lab. Clin. Med., 15:447-456.
- MEYER, K. F. & SHAW, E. B.  
1920. J. Inf. Dis., 27:173-184.
- MEYER, K. F. & ZOBELL, C. E.  
1932. J. Inf. Dis., 51:72-90.
- MILES, A. A.  
1939. Brit. J. Exp. Path., 20:63-82.
- MORALES-OTERO, P.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 173 pp.

- MORALES-OTERO, P. & POMALES LEBRÓN, A.  
1943. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 52(3):197-198.
- MORELLI, E.  
1954. L'Igiene Moderna, 47(1-2):44-50.
- MORSE, E. V. & WHITE, P. G.  
1950. Cornell Vet., 40(3):313-314.
- OLITZKI, L. & BROMBERG, J.  
1931. Z. Bakt., 120:347-364.
- LOUDIN, J.  
1947. Bull. Soc. Chimie Biol., 29(1-3):140-149.
- PACHECO, G.  
1933. Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 3(1-2):1-14.
- PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
1940. Mem. Inst. Osw. Cruz, 35(2):381-397.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1948. Mem. Inst. Osw. Cruz, 46(4):661-667.  
1948. Brasil-Médico, 62(12-13):131-135.  
1950. J. Bact., 59:689-691.  
1950. Observações não publicadas.
- PENNELL, R. B.  
1949. Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949:37-49.
- PETRI, R. J. & MAASSEN, A.  
1893. Arb.a.d.Keysergesundh., 8:318. Em Pacheco & Costa.
- PICKETT, M. J. & COLS.  
1952. J. Lab. Clin. Med., 40(2):200-205.  
1953. J. Bact., 66(2):210-218.
- PICKETT, M. J. & NELSON, E. L.  
1954. J. Bact., 68(1):63-66.  
1954. Bact. Proc., Amer. Soc. Bact., 54th Gen. Meet.: 74.  
1955. J. Bact., 69(3):333-336.
- PLASTRIDGE, W. N. & McALPINE, J. G.  
1930. J. Inf. Dis., 46:315-323; 47:478-484.
- PONS, A. P. & VALENTI, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 pp.
- POPPE, K.  
1929. Em W. Kolle, R. Kraus & P. Uhlenhuth, Handb.d.Path. Mikroorg., 3.<sup>a</sup> ed., 6(2):693-749.
- PUSCHELL, J.  
1933. Klin. Woch., 15:375-378.
- RENOUX, G.  
1952. Ann. Inst. Pasteur, 82(3):289-298; 556-562; 83:814.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 89.
- RENOUX, G. & CARRÈRE, L.  
1952. Ann. Inst. Pasteur, 83:277-288.
- RENOUX, G. & QUATREFAGES, H.  
1951. Ann. Inst. Pasteur, 80:182-188.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, April, n.º 47.

- RITA, G. & DELLA VIDA, B. L.  
1951. Nuovi Ann. Ig. Microb., 2(4):324-329.
- RUSTIGIAN, R. & STUART, C. A.  
1941. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 47:108-112.
- SANDERS, E. & WARNER, J.  
1951. J. Bact., 62(5):591-598.  
1953. Amer. J. Vet. Res., 14(52):388-391.
- SANTIS, MARIA DE  
1933. Em Signorelli.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo. 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 pp.
- THIAGO DE MELLO, M.  
1953. Science, 118(3067):413-415.  
1953. WHO/Bruc. Inform. Series, July, n.º 97.
- THOMSEN, A.  
1934. Acta Path. Microb. Scand., Suppl. 21:253 pp.
- TOVAR, R. M.  
1953. Medicina, México, 33(668):27-38.
- TRAUM, J.  
1914. Ann. Rep., Bureau Animal Industry, 30:86.
- TUTTLE, C. D. & HUDDLESON, I. F.  
1934. J. Inf. Dis., 54:259-272; 273-279.
- VEAZIE, L. & MEYER, K. F.  
1936. J. Inf. Dis., 58:280-287.
- VERCELLANA, G.  
1925. Pathologica, 17(406):553-554.
- VERNA, L. C. & COLS.  
1949-50. Arch. Farm. Bioq. Tucumán, 4(3):219-232; (4):327-332.
- WELLMANN, G.  
1952. Z. Bakt., I Orig., 158:513-518.
- WILSON, G. S.  
1933. J. Hygiene, 33:516-541.
- WILSON, G. S. & MILES, A. A.  
1932. Brit. J. Exp. Path., 13:1.
- WOHLFEIL, T. & WEILAND, P.  
1936. Z. Bakt., I Orig., 138:388-400.
- WOHLFEIL, T. & WOLLENBERG, H.  
1937. Z. Bakt., I Orig., 140:281-288.
- ZOBELL, C. E. & MEYER, K. F.  
1932. J. Inf. Dis., 51:91-108; 109-116.
- ZWICK & ZELLER  
1913. Arb. Kais. Gesund. 43:1. Em Poppe.
-

### Distribuição geográfica

Restringia-se muito a área de distribuição das duas bruceloses conhecidas: a de origem caprina ou “febre de Malta”, nome pelo qual era mais conhecida, limitava-se aos países ou zonas banhadas pelo Mediterrâneo; a de origem bovina ocupava os outros países do continente europeu e de outros continentes.

Depois, verificou-se que a difusão de ambas estava condicionada à presença do animal depositário natural do germe. Foi assim que a brucelose de origem caprina se encontrava nos Departamentos do sul da França, e a de origem bovina nos do norte, onde as cabras não existiam ou eram pouco abundantes. (Fig. 62).

À medida que se foram aperfeiçoando os meios diagnósticos e conhecendo as manifestações clínicas da brucelose, o número de casos foi crescendo vultosamente. Um fato, aliás, que tem acontecido com tôdas as doenças, dando a errônea impressão de que seu número e disseminação aumentam todos os dias.

Tudo leva a crer que, a não ser em certas circunstâncias, como recentemente sucedeu no sul da França (LISBONNE), a difusão está na estreita dependência do índice de contaminação animal, da espécie dêste, e de condições higiênicas locais. Parece não haver dúvida que a brucelose é tão velha como a maioria dos males que acometem o homem e os animais, pois que suas características parecem referidas entre os sintomas das doenças febris registradas nos tempos da criação da medicina.

Sua difusão está na estreita dependência de falhas higiênicas que mais abundaram e são ainda encontradas nos meios rurais, onde a brucelose se mantém e donde se dissemina para as cidades; também o manuseio de material contaminado é outro fator de dispersão. O frequente caráter silencioso da doença, a facilidade de contágio do animal ao homem, a persistência da bactéria nos animais depositários de germes, facilitando a repetição do contágio, a eliminação do micróbio pelos dejetos, a sua presença e permanência nos alimentos largamente usados, o elevado índice de contaminação animal e a deficiência da imunização ou da tolerância orgânica à infecção representam condições especiais e mais que favoráveis à sua difusão, como poucas vêzes acontece em epidemiologia.

De tudo isto se conclui, necessariamente, que a brucelose tinha de ser, como é, uma das doenças mais antigas e mais espalhadas no mundo. Se não fôra a extrema tolerância do organismo à infecção, com sintomas tão exdrúxulos como os da sífilis e da tuberculose, não passaria despercebida sua disseminação como passou, e que somente fortuito acaso, qual o das observações de ALICE EVANS, facultou a verificação.

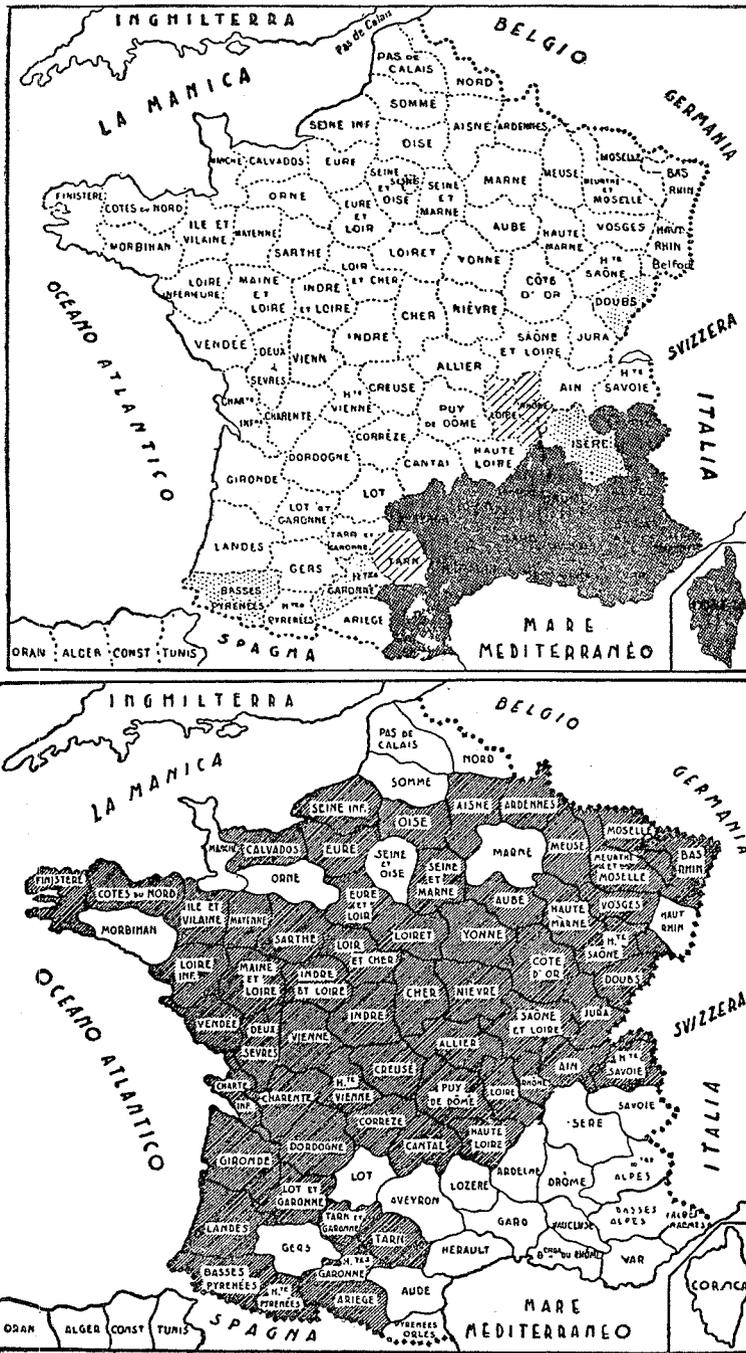


Fig. 62 — Distribuição da brucelose na França, em 1925. Em cima: *Br. melitensis*, limitada à orla do Mediterrâneo. Em baixo: difusão do abortivo epizootico, por *Br. abortus*. Segundo SIGNORELLI.

Acentua SIGNORELLI que o aumento da brucelose na Itália correspondeu à melhoria do diagnóstico e à atenção que lhe concederam os serviços sanitários. O mesmo vem sucedendo e sucederá, de futuro, por toda parte. Isto pode ser apreciado na tabela dos casos notificados nos últimos anos e divulgada pela Organização Mundial de Saúde, bem como por KAPLAN, evidentemente incompleta:

*Casos de brucelose humana registrados em diversos países, segundo KAPLAN e "Epidemiological and vital statistics report, 1955, 8(6):205-209"*

Países	KAPLAN 1949	Organização Mundial de Saúde			
		Média de 1946-52	1953	1954	1955 (1.º sem.)
<b>ÁFRICA</b>					
África Equatorial Francesa.....		--	1	1	--
África Ocidental Francesa.....		--	1	6	1
Algéria.....	46	36	9	6	7
Egito.....		74	53	74	12
Etiópia (Eritreia).....	42	66	62	108	24
Guiné Portuguesa.....		--	--	3	--
Líbia.....		--	29	20	--
Marrocos Francês.....	9	13	39	43	5
Rodésia do Sul.....		2	5	10	--
Sudão Anglo-Egípcio.....		--	2	11	20
Tunísia.....		6	26	8	--
<b>AMÉRICA</b>					
Alasca.....		1	2	--	--
Argentina.....		--	814	688	--
Brasil.....		--	3	3	--
Canadá.....	188	249	132	132	23
Chile.....	32	17	17	43	3
Colômbia.....		--	23	18	--
Costa Rica.....	3	--	6	3	--
Cuba.....	28	3	4	2	--
Estados Unidos.....	4 124	4 235	1 792	1 702	349
México.....	1 369	1 435	813	976	--
Peru.....	491	388	422	385	--
Pôrto Rico.....		--	1	1	1
Uruguai.....		3	1	1	--
Venezuela.....		13	18	1	--
<b>ÁSIA</b>					
Iraque.....	1	14	1	3	2
Israel.....		--	48	61	7
Laos.....		--	--	1	--
Líbano.....		--	--	--	1
Turquia.....	26	30	21	25	1
Vietnam.....	6	--	1	54	--

Países	KAPLAN 1949	Organização Mundial de Saúde			
		Média de 1946-52	1953	1954	1955 (1.º sem.)
<b>EUROPA</b>					
Alemanha Ocidental.....	207	204	360	431	115
Alemanha Oriental.....		—	4	9	2
Áustria.....	24	56	107	102	21
Bélgica.....	8	13	21	22	6
Dinamarca.....	196	194	70	35	1
Espanha.....	5 484	4 810	3 774	3 258	557
França.....	1 400	1 349	977	967	247
Gibraltar.....		2	15	12	—
Grécia.....	75	93	713	796	—
Holanda.....	14	14	55	57	9
Irlanda.....	6	8	9	4	1
Itália.....	9 246	8 932	9 349	8 606	960
Iugoslávia.....	73	22	1	5	—
Malta.....	910	902	425	546	103
Polónia.....	32	—	—	—	—
Portugal.....		—	427	528	—
Reino Unido-Irlanda do Norte.....		—	7	4	—
Suécia.....	20	17	9	—	1
Suíça.....	196	166	169	138	77
Trieste.....	2	6	10	19	1
<b>OCEANIA</b>					
Austrália.....	38	33	38	52	4
Hawai.....	4	3	1	2	—
Nova Zelândia.....	30	41	81	63	8

Facilitam a sua disseminação certas particularidades, examinadas na epidemiologia.

Nos países mediterrâneos, a brucelose de origem caprina é muito encontrada. Aparecem ali, entretanto, países quase indenes, mas a realidade deve ser muito outra. Não a procuraram ou não sabem diagnosticá-la. Neste particular, sua presença está condicionada ao seu conhecimento pelos médicos. Como sucede com outras doenças, não a encontra quem não a procura.

Pode-se prever o grau de difusão da brucelose pela concentração da pecuária, porque obrigatoriamente a brucelose depende do grau de contaminação animal para sua transmissão ao homem, sendo como é a doença essencialmente uma zoonose. Exemplo disto é a sua freqüência nos Estados Unidos região em que o número de casos aumenta cada ano.

Um dos pontos onde a brucelose se encontra mais difundida é justamente o local onde foi descoberto o seu agente causador, a ilha de Malta.

A mortalidade na ilha de Malta pode ser vista na tabela abaixo. O número de casos, por vèzes, é acima de 1.000 cada ano, para uma população de 240.000 habitantes.

*Mortalidade por brucelose na ilha de Malta*

Ano	Casos	Mortes	Mortalidade %
1927.....	702	28	3,99
1928.....	971	42	4,32
1929.....	1 288	61	4,73
1930.....	1 471	85	5,77
1931.....	1 345	72	3,35
1932.....	1 465	82	5,59
1933.....	1 713	67	3,91
1934.....	1 909	88	4,60
1935.....	1 300	80	6,15
1936.....	873	52	5,95

Felizmente, com os modernos antibióticos, as perspectivas, pelo menos quanto à letalidade, são bem diversas, para melhor.

Nos países do Mediterrâneo domina a brucela da cabra, vindo, pela ordem de incidência, a Itália, cujas províncias meridionais são as mais fustigadas, a Espanha, o sul da França, Tunísia e Argélia.

A seguir, faremos breves referências a alguns Países, concluindo com o que pudemos coligir, a respeito, no Brasil.

## A — CONTINENTE EUROPEU

*Espanha* — A situação na Espanha foi examinada por PONS & VALENTI que, com SALVAT e MORAGAS Y GRACIA, estimam em 5.000 o número de casos cada ano, com 5% de mortalidade. Algumas províncias espanholas são altamente infectadas (Valência, Catalunha, Aragon). Eis a freqüência na Espanha, segundo dados oficiais, de 1943 a 1946:

Ano	1943	1944	1945	1946
Casos	1 787	3 955	5 132	4 154

Na província de Valência, tornou-se a doença infectuosa mais freqüente e em Teruel atingiu a enorme cifra de 51,4 por 10.000, segundo BELGRANO.

Mais recentemente (1949), BERMÚDEZ historia a difusão da brucelose na Espanha e noutros países. Declara inclusive, que a doença matou 535 pessoas, de um total de 26.671, no período de 1940-1944. As regiões meridionais são as mais atacadas.

*França* — A grave situação da brucelose na França é exposta por CARRÈRE & RENOUX. Enviaram um questionário a médicos sanitaristas no País e examinaram os arquivos oficiais do Instituto Nacional de Higiene; em 1947, 1948 e 1949 foram declarados respectivamente 1.624, 1.673 e 1.400 casos; a mortalidade média era de 4%. Contudo, levando em consideração as informações que receberam, chegaram à conclusão de que pelo menos existem 9.000 casos de brucelose humana por ano, na França.

*Itália* — Em certas províncias, na Itália, chega a ser alarmante o grau de difusão da doença. Em Catânia e na Sicília, refere SIGNORELLI, em determinadas épocas, 20% dos doentes internados na clínica médica do Hospital da Cidade são brucellosos. No quadro de MAZZETTI & TESI, pode-se ver o número de casos registrados de 1937 a 1948:

*Casos de brucelose na Itália, de 1937 a 1948*

Ano	Número de casos	Coefficientes por 10 000 habitantes
1937.....	3 948	0,91
1938.....	4 551	1,04
1939.....	4 627	1,05
1940.....	4 615	1,04
1941.....	4 173	0,93
1942.....	4 553	1,01
1943.....	4 804	0,90
1944.....	5 942	1,31
1945.....	7 447	1,63
1946.....	7 077	1,54
1947.....	8 221	1,80
1948.....	6 696	1,47

Numa só província, a de Cagliari, o número de casos, de 1927 a 1947, foi bem descrito por LIPPI; este autor, faz bom estudo epidemiológico e cita a literatura anterior. O máximo de incidência por *Br. melitensis* foi de maio a junho; não existe a *Br. abortus*. Na província de Parma, os casos foram descritos por D'ANTUONO; de 1937 a 1947, foram notificados 600 e de 1948 até 1.º semestre de 1953, 340; a incidência por grupos profissionais também foi elevada.

Esse avantajado número de casos depende do elevado grau de contaminação caprina que, segundo SCARDO (cf. ALESSANDRINI & DOMICI) é de 24%.

*Países escandinavos* — Embora a brucelose de origem caprina não exista, encontram-se as de origem bovina e suína, que, sabe-se, ocasionam casos pouco ruidosos, fáceis de passar despercebidos ou confundidos com outros males. Na Suécia, por exemplo, não havia referências até que OLIN fêz um inquérito em 300 soros humanos normais e verificou soro-aglutinação positiva em 1% deles. E basta a presença de animais contaminados, que existem naqueles países, para se prever a existência freqüente de casos humanos.

*Grécia* — Recentemente, ALIVISATOS refere na Grécia 1.110 casos, em 1952, enquanto nos anos anteriores o número assinalado pelos clínicos fôra muito menor: 71 em 1949, 94 em 1950 e 180 em 1951. Na sua opinião, o aumento foi determinado por uma epidemia e não pelo fato de os médicos estarem em melhores condições para diagnosticar a doença.

*Dinamarca* — Kristensen descreveu, na Dinamarca, uma série de casos, em 1927; depois disso, de 2.500 soros, 222 deram aglutinação positiva com brucela bovina. Eis o quadro da freqüência referida por êle,

naquele País, em importante trabalho publicado em 1951; também diz que os casos diminuíram de 600, em 1938, para menos de 200, em 1950, o que pode ser atribuído ao decréscimo da brucelose bovina, graças às medidas profiláticas adotadas.

*Freqüência da brucelose na Dinamarca*

1927	120
1928	411
1929	525
1930	527
1931	588
1932	510
1933	606
1934	655
1935	514
1936	605
1937	581
1938	585
1939	523
1940	557
1941	407
1942	345
1943	327
1944	261
1945	283
1946	271
1947	279
1948	224
1949	191
1950	187

---

9.961

*Iugoslávia* — Neste País, conforme refere SPINK, houve uma séria epidemia em 1947; 122 doentes foram tratados num só hospital, em Rijeka. A infecção tinha origem em carneiros infectados com *Br. melitensis*. Dez mil carneiros foram sacrificados, declinando o número de casos humanos, até somarem apenas 24, esporádicos, em 1950.

*Inglaterra* — Na Inglaterra, DALRYMPLE-CHAMPNEYS discriminou 255 casos em 1928, 359 em 1939, e 900 em 1940, com os índices análogos aos de vários países europeus.

*União Soviética* — Os dados são relativamente escassos. Num trabalho publicado em 1935 e divulgado nos "Archives Internationales des Brucelloses", relacionam-se os casos provenientes de contacto com animais, de diversas regiões da Rússia.

*Polônia* — Na Polônia, SZAFLARSKI & KAMINSKA, em 4.354 porcos encontraram reações positivas em 2.276, embora fracas (1:5-1:40), se-

gundo HULSE. Recentemente, BLAWAT declara que a doença é subestimada pela Saúde Pública da Polônia. Na Silésia, entre o pessoal em contacto com animais, verificaram-se 13% de provas positivas, num total de 213 soros examinados; entre os veterinários, a cifra elevou-se a 23%. Noutras regiões, a incidência também é elevada, principalmente entre pessoas que lidam com animais.

A distribuição da brucelose em diversos países europeus pode ser vista na seguinte tabela de MAZZETTI & TESI:

*Índices de sôro-aglutinação em alguns países europeus*

País	Número de provas	Número de positivos	%
Grã Bretanha.....	3 175	101	3,10
Alemanha.....	9 397	323	3,44
Áustria.....	9 693	177	1,83
Suíça.....	1 503	91	6,1
Holanda.....	4 500	50	1,11
Dinamarca.....	4 623	500	10,82

Segundo KAPLAN, as ocorrências de brucelose humana em 1949, oficialmente registradas, foram as seguintes, em alguns países:

França .....	1.400
Itália .....	9.426
Malta .....	910
México .....	1.728
Peru .....	491
Espanha .....	5.484
Estados Unidos .....	4.124

Em 1952, HULSE publica uma relação de países em que haviam sido verificados focos de brucelose animal, notificados por veterinários da Organização de Agricultura e Alimentos e outras fontes. Dêsse trabalho, retiramos diversos dados que adiante se encontram, sem referência específica aos autores.

## B — CONTINENTES ASIÁTICO, AFRICANO E OCEANIA

*Turquia* — Nesse País, a situação foi recentemente examinada por GOLEN, sendo a doença bem disseminada nos animais. Em 8.011 bovinos, 1.448 (18%) deram sôro-aglutinação ou hemocultura positiva; em 759 soros de eqüideos, 109 (13%) foram positivos; em 16 asininos, 4 (25%). De 1930 a 1948, registraram-se 209 casos humanos naquele País; as 21 amostras isoladas eram tôdas *Br. melitensis*.

*Eritrêia* — Em 145 pacientes da Eritrêia, IPADARO encontrou 70% de reagentes positivos. Em 1950, verificaram-se novos focos no gado, sendo as amostras isoladas intermediárias entre *Br. melitensis* e *Br. abortus*, segundo HULSE.

*Etiópia* — Verificou-se a infecção em tôrno de 23% dos animais examinados, em 1952.

*Iraque* — Neste País, a incidência foi estudada, em 1939, por BEATTIE & Cols.; demonstraram ser elevada entre os bovinos, carneiros e cabras; a infecção humana era também relativamente comum. De 2.548 soros enviados para reação de Wassermann, quase 6% mostraram títulos entre 1/25 e 1/1600; de 350 outros enviados para Widal, 27 mostraram-se positivos. Segundo HULSE, foram verificados 3% de infectados, entre bovinos e búfalos.

*Japão* — Menos freqüente parece a brucelose no Japão, porque a criação de animais é ali muito reduzida. Conta-nos HIROKI que as verificações de Okuda e Fukuda revelaram, entretanto, taxas de 10-20% de contaminações nos bovinos.

*Índia* — Segundo DHANDA & RAJAGOPALAN, a brucelose está muito espalhada na Índia. Os búfalos e vacas apresentam percentuais de contaminação superiores a 20%, nos arredores de Calcutá e na costa de Bombaim. No sul do País, a incidência nas vacas está entre 10% a 50% e, segundo MOHAN, é esta a freqüência no nordeste da Índia.

No homem, a brucelose foi ali verificada somente em 1933, por NISCHIKAWA.

*Indonésia* — Na Indonésia, HULSE refere contaminação de 5% dos rebanhos.

*China* — Na China, foram encontrados 29 casos entre os anos de 1921 a 1948, contam ZIA & WANG, incluindo-se neste número, 6 casos estudados anteriormente por CHUNG. Dos casos em que se isolaram germes, estes pertenciam à espécie *Br. melitensis*.

Na Mandchúria, a doença foi vista em várias oportunidades. HIROKI diz que os primeiros casos humanos começaram a ser vistos ali em 1925 e que em 1936 constatou-se um surto de abôrto epizootico em carneiros na região sul. Num total de 639 ovelhas, 133 abortaram. Os soros de 10 desses animais deram aglutinações positivas com *Br. melitensis*, bem como os soros de trabalhadores na granja onde viviam os carneiros. Também abortaram os bovinos da região e, em 292 de seus soros, 123 ou 42% deram aglutinação positiva, enquanto em 298 soros de bovinos de outra localidade, apenas 59 ou 20% se mostraram positivos.

No Afeganistão, HULSE assinala um índice de 22% num inquérito em 159 animais.

*Irã* — No Irã, um inquérito da OMS, em 1.060 bovinos, forneceu um resultado de 27%.

*Israel* — Finalmente, no Israel, foram encontrados 53% em Tel Aviv.

*Malásia* — Uma taxa de 20%.

*Filipinas* — SAN AGUSTIN revela que a brucelose existe no rebanho suíno das ilhas; de junho de 1947 a dezembro de 1948, enquanto os porcos nativos apresentavam baixa incidência (0,3%), os importados mostravam-se bastante infectados (11,24%), sendo que em alguns rebanhos atingiam a 75-80%.

*Austrália* — O assunto foi bem revisto por DERRICK & BROWN. Num período de 14 anos (1936-1949), foram relatados 25 casos em Queens-

land; sòmente num dêles foi isolado o germe (*Br. suis*); mais de metade dos pacientes estavam profissionalmente relacionados com animais. Não existe *Br. melitensis* e é proibida a importação de cabras.

*Turquestão* — A incidência foi revelada em 1935, comparativamente com a de outras repúblicas da União Soviética. Dos animais produtores de lã, 12% a 38% mostravam-se infectados; dos animais leiteiros, 3% a 15% e de 1.151 pessoas, vivendo em contacto com animais, 10% se apresentavam com provas positivas, sobretudo os veterinários (35,3%), zootecnistas (10,8%) e empregados em indústrias de lactícínios (15%).

Outros informes sôbre ilhas Mauritius, Nigéria, Sudão, Tunísia, África do Sul, Afganistão, Índia, Indonésia, Irã, Iraque, Israel e Malásia são referidos por HULSE, que assinala, mui justamente, que eram bastante limitados os conhecimentos sôbre brucelose na maior parte dêsses países ou regiões.

### C — CONTINENTE AMERICANO

A brucelose está muito disseminada no continente americano. Os trabalhos apresentados aos congressos de brucelose de México, Montevideo, Buenos Aires e Washington, respectivamente em 1946, 1947, 1948 e 1950, atualizam a distribuição tanto no homem como nos animais domésticos.

*Argentina* — Na Argentina, os médicos começaram a interessar-se pela doença em 1931, quando se iniciaram no Instituto Bacteriológico Carlos Malbrán estudos sistemáticos sôbre brucelose.

Registrou-se sua existência em 11 das 14 províncias da República. Em algumas delas, domina o tipo caprino; noutras, o bovino ou suíno.

Cresce cada ano o número de casos verificados; assim, por exemplo, de 1922 a 1938, registraram-se os seguintes:

Ano	N.º de casos
1922	1
1924	1
1928	1
1929	4
1930	6
1931	143
1932	139
1933	162
1934	143
1935	156
1936	180
1937	221
1938	203

Nos últimos anos, o número subiu muito.

Só em Cordoba, computaram ARATA & CARRERAS 957 reações positivas em 4.565 provas de sôro-aglutinações em soros humanos; 565 rea-

ções positivas em 1.945 sangues de vacas; 116, em 245 sangues de cabras; 25, em 67 sangues de eqüinos; 2, em 9 suínos; 7, em 39 ovinos. Nessa mesma Província, CRISCUOLO encontrou índices, variando de 56% a 77,9% de resultados positivos, em provas intradérmicas. Em alguns distritos, obteve maior incidência do que a da tuberculose, em provas de tuberculina realizadas concomitantemente.

A distribuição dos tipos de brucelas na Argentina não é uniforme, como se vê no mapa de MOLINELLI & Cols. (Fig. 63). No oeste, predomina a brucela da cabra e na zona litorânea, as do boi e do porco, sendo de 20% a contaminação nos bois e de 42% nos porcos. Os casos humanos aumentaram de 39 em 1935 a 1.438 em 1945, tendo-se registrado no decênio 10.174. JURADO, CEDRO & MORAN verificaram que a brucelose se distribui em 1.026 focos de brucelose bovina, 299 de caprina e 50 de porcina, naquele País.

Entre os animais, diversos inquéritos têm sido procedidos. Assim, por exemplo, ROSSI & CEDRO, em 1948 apresentaram ao 2.º Congresso Interamericano de Brucelose os índices bastantes elevados que encontraram em animais abatidos em Buenos Aires. Em bovinos, 18,10%; em suínos, 30,31% e em ovinos, 7,29%. Por sua vez, ACOSTA & BIRÁN, em Corrientes, comprovaram que 23,52% dos porcos abatidos no Matadouro local apresentavam sôro-aglutinações positivas, de 1945 a 1946. MAUBECIN & MORÁN, em 1952, publicaram suas observações sôbre brucelose caprina em Cordoba; estudam 3.142 animais, dum total de 14.576, pertencentes a 185 rebanhos da região, encontrando 18,5% reagindo positivamente.

*Cuba* — Em Cuba, a história foi contada por CURBELO. A primeira referência é a de HIDALGO, que encontrou 54% de aglutinações positivas em soros de bovinos, em 1936. No ano seguinte, PEDRO DOMINGO descreve o primeiro caso humano, tendo DE LA CRUZ, registrado outros mais. LARRUA e CURBELO encontraram índices de infecção superiores a 50% nos plantéis de gado examinados.

*México* — É um dos países mais castigados pelas brucelose. O primeiro caso humano foi o de CARVAJAL em 1906, conta-nos ORTIZ MARIOTTE, mas febres apresentando caracteres de "febre ondulante" fizeram muitas vêzes pensar em brucelose, antes dêle. Sòmente em 1912, PLACERES fêz a comprovação bacteriológica, em doentes estudados por VERGARA. Posteriormente, foram diagnosticados novos casos. Em 1935, BRANBILA catalogava 100 doentes; LEON, 404 no ano seguinte; e PORTILLO, 1906, em 1938. Entre 1939 e 1940, CASTAÑEDA refere 2.360 doentes e TORRES contou 3.100 casos, no 3.º Congresso Mexicano de Brucelose, em 1946.

A difusão no gado foi estudada pela Dirección de Ganaderia do México que encontrou o porcentual de 5.6 a 28.6 em 12 estados mexicanos, segundo DE LA GARZA.

Ocuparam-se de brucelose e suas manifestações VARELA, CERVERA, VILLEGAS e, sobretudo, CASTAÑEDA, que se tornou o grande animador de seu estudo no Continente Americano. Foi de 1927 em diante que se intensificaram investigações da doença nesse País, quando fundou CAS-

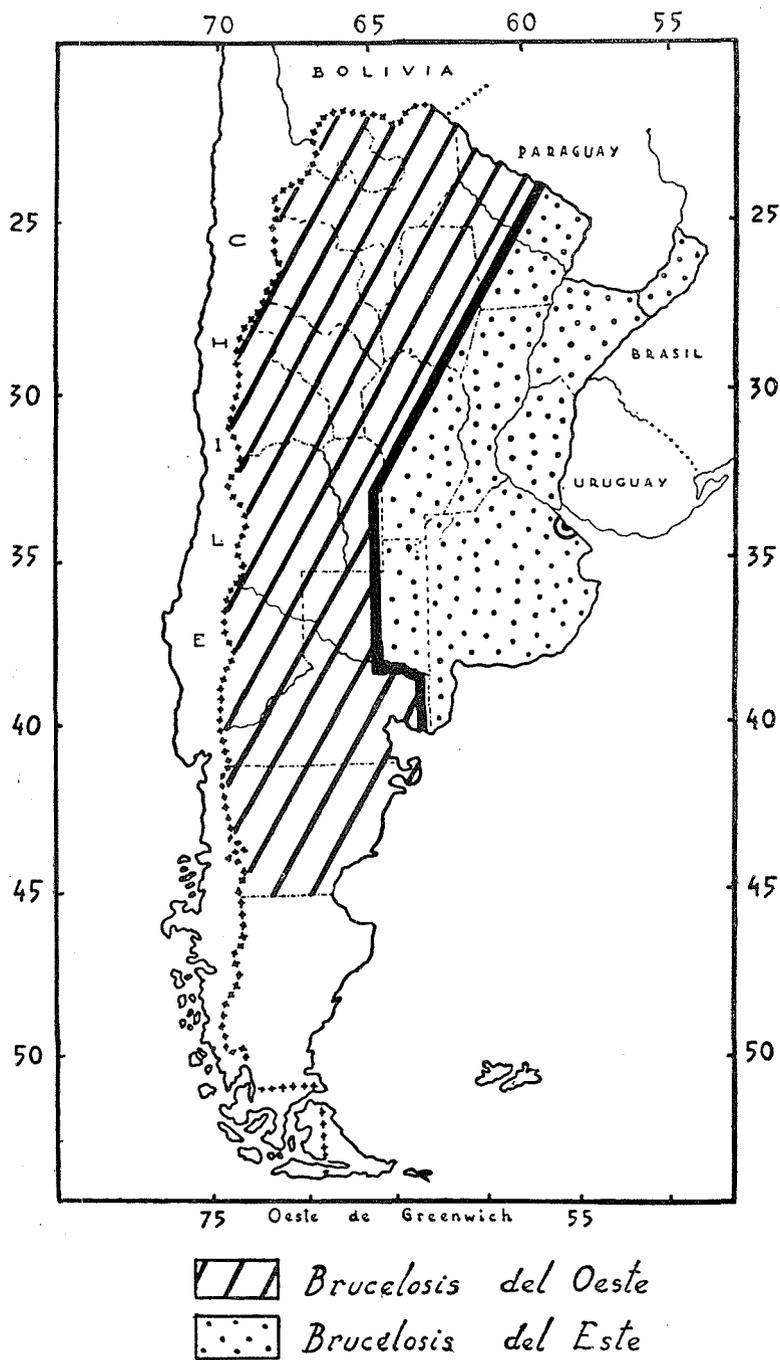


Fig. 63 — Distribuição geográfica da brucelose do Oeste e do Leste, na Argentina. Segundo MOLINELLI & COLS.

TAÑEDA, no Hospital General da Capital, um laboratório exclusivamente destinado ao seu estudo. Dois anos depois, se realizava, sob seus auspícios, a 1.<sup>a</sup> Reunião Mexicana de Brucelose, quando POSTILLO reuniu uma casuística de 2.289 doentes. Essas Reuniões transformaram-se em Congressos Interamericanos de Brucelose, dos quais já se realizaram três.

*Peru* — No Peru, o assunto foi revisto, em 1945, por GUTIÉRREZ, segundo ARIAS-STELLA; a brucelose foi conhecida por BARTON, em 1909, que isolou a *Br. melitensis* de um doente do Hospital Guadalupe, de Callao. Novos casos foram vistos por VELEZ LOPES, em 1913, e por TABUSO; êste último autor isolou, ainda, a brucela do boi, em 1927. Nesse ano, duas comissões médicas foram enviadas às províncias para estudar a frequência da brucelose. Uma delas conseguiu isolar brucelas em 172 de 1.605 amostras de sangue e de leite de cabras; a outra em 7.600 provas, isolou 11 amostras de sangue e de leite de cabras. Os percentuais de contaminação neste animal foram de 11,4% e 32%, respectivamente, nos dois inquéritos. Nos queijos do mercado, preparados com leite de cabras, o encontro de *Br. melitensis* atingiu a 82,7%. Só em 1914, a casuística em Lima atingiu a 667 casos humanos e em Callao êsse número foi de 213. Outros detalhes são vistos no trabalho de GUERRA.

*Venezuela* — BRICEÑO-ROSSI & IRAGORRY citam que o exame do sangue de 504 vacas leiteiras revelou 27,5% delas com reações positivas. À mesma prova em 93 indivíduos empregados em trabalhos relacionados com bovinos deu 4,3% de reações positivas, contra 1,65% em 121 soros de outros que efetuavam misteres diversos, além de 0,20% em soros de 2.010 operários de fábricas.

Em 1909, PORTUGAL verificou a existência de uma epizootia em mais de 20.000 cabras, ao mesmo tempo que casos humanos com sintomas de "febre de Malta". Observações puramente clínicas foram ainda referidas por ZAMORA (1917) e por BERGARA (1912).

Trabalho recente, revendo a casuística venezuelana, é o de BRICEÑO-ROSSI & IRAGORRY, apresentado ao Congresso de Brucelose de Buenos Aires, em 1948. Declaram que apesar da doença existir em cerca de 10% do gado bovino, os casos humanos diagnosticados eram relativamente raros; num período de 38 anos (1910-1948), as Unidades Sanitárias apenas diagnosticaram 20 casos; por sua vez, 4,3% dos empregados em estábulos e matadouros apresentavam provas de sôro-aglutinação positivas.

*Pôrto Rico* — A infecção foi vista primeiro no gado, em 1932, por MORALES-OTERO, com base em 1.750 provas diagnósticas de brucelose. Entre 222 pessoas sujeitas a contactos infectantes, encontrou êle 33,5%, entre 1.003 da população geral, 5% e entre 448 de uma zona livre de brucelose no gado, 2,2%. Em 1930, fêz 528 exames sorológicos em vacas leiteiras, encontrando 312 ou 58% contaminadas.

*Honduras* — Em 1952, segundo HULSE, de 1.408 animais não especificados, 7,3% revelaram-se positivos.

*Equador* — Aí também registraram-se casos humanos, segundo HULSE.

*Paraguai* — BOETTNER & CANESE referem 27% de provas positivas em trabalhadores de matadouros e 51,3% em animais.

*Colômbia* — A história na Colômbia foi feita por ESCOBAR. Isolou-se a brucela pela primeira vez, em 1927, de placentas de vacas abortadas. Inquéritos posteriores mostraram um índice de infecção bovina muito elevado. Na província de Sabana, por exemplo, o porcentual atingiu a 57,44 em 1932. No ano seguinte, SOLANO publicou um inquérito sorológico em 5.093 pessoas, tendo encontrado, apenas, 0,35% de resultados positivos; em empregados de matadouros, ORTIZ encontrou 30,5% de reações positivas em 59 sangues examinados. O leite do mercado foi examinado por ABONDANO, em provas de lacto-aglutinação, com 47,12% de resultados positivos, e por ESCOBAR, que encontrou 57,25. Em 8.273 soros humanos da população geral, êste autor encontrou 0,49% de sôro-aglutinações positivas; em 246 empregados de granjas — 3,66%; em 81 empregados em matadouros — 17,3% e em 174 febricitantes — 4,03%.

Recentemente, um trabalho importante, de PATIÑO-CAMARGO & Cols. mostrou, com detalhes, a situação da brucelose na Colômbia, completando o trabalho de ESCOBAR. Sômente foram isoladas *Br. abortus* e *Br. suis*. Num total de 1.743 sôro-aglutinações feitas em diversos municípios, houve 4,6% de provas positivas. Em 3 municípios, a incidência foi superior a 10%.

*São Salvador* — Contam MENENDEZ & Cols. que o primeiro caso foi observado em 1940. Em 1941, encontraram êles 6 sôro-aglutinações positivas em 132 provas, e em 1946, sôbre 1.081 provas, 7 foram positivas.

*Uruguai* — As verificações de SZYFRES & Cols. no Uruguai, mostraram um índice de contaminação no gado de granjas entre 48-55,7%; em 49.733 sôro-aglutinações de bovinos de várias regiões do País, encontraram-se 6,1% de reagentes. A incidência no porco não parece ali muito elevada e a da cabra, pouco abundante no País, não foi encontrada. Igualmente negativas foram as sôro-aglutinações em carneiros.

Um inquérito de HORMAECHE, em provas de sôro-aglutinação, deu o coeficiente de 5,2% e o de PEREIRA DA FONSECA deu 3,9% para a população geral e 25% para os empregados em frigoríficos. RUBINO & Cols. encontraram 6% de contaminação no gado uruguaio.

Em 1951, um inquérito sôbre epidemiologia da brucelose humana, segundo HULSE, revelou que cêrca de 2% de 17.747 pessoas reagiram positivamente à prova intradérmica; dêsse total, 15.357 não tinham contacto com animais ou não estavam expostas profissionalmente e nestas, só 0,59% reagiram positivamente enquanto que nas restantes 2.390 pessoas, 10,88% reagiram positivamente.

*Estados Unidos* — A primeira referência à doença é dada por WALTER SIMPSON. Num navio que zarpara de Malta aos Estados Unidos, em

1905, viera um lote de cabras cujo leite foi usado pela tripulação na viagem, de que resultou uma epidemia a bordo. Ao chegar a Athenia, Nova York, verificou-se estarem as cabras contaminadas por brucelas, tendo sido tôdas sacrificadas. No ano anterior, entretanto, GRAY verificara a existência de um caso autóctone. Novos casos foram notificados por FERENBANGH & GENTRY em Novo México, Texas e Arizona, entre 1911 e 1913, contaminados por cabras da região, cujos primitivos troncos provieram da zona mediterrânea. Com a chegada daquelas cabras importadas começou o aparecimento de casos humanos.

Depois dessa época não mais se falou de brucelose, até 1922, quando LAKE & WATKINS descreveram uma epidemia no Arizona, conseguindo seguir o rastro da sua origem até as cabras da região. Por essa época HOLT & REYNOLD, segundo EVANS, confirmaram a existência da brucelose em cabras que êles encontraram com 16,7% de contaminações. STILES em 14.339 cabras do Colorado encontrou 8,5% de reatores positivos à prova sorológica.

Mais tarde, veio a importante verificação de ALICE EVANS antes referida, pouco a pouco seguida de outras, numa progressão avultada de novos casos notificados, segundo se vê no quadro:

*Morbilidade da brucelose nos Estados Unidos, entre 1930-43 (segundo JORDAN)*

População	Casos	Média anual	Porcentagem por 100 000
131 006 184	56 513	2 608	1,99

ALICE EVANS admite, de acôrdo com a literatura nacional americana, a existência de 30 a 40 mil casos nos Estados Unidos, cada ano. Pelos cálculos de HUDDLESON, entretanto, êsse número deve atingir a 4 milhões. Se tomarmos por base, por exemplo, os resultados de STOENER, ao acaso, teríamos 3 milhões de contaminados naquele País. Convém acentuar que STOENER & Cols. acreditam, baseados nos dados epidemiológicos, que aquêle número seja 40 vêzes maior que os obtidos por êles.

A incidência entre os animais é bastante elevada. No Estado de Illinois, onde é muito grande o número de porcos, LEVINE & GRAHAM verificaram que em muitos Condados os rebanhos infectados constituíam mais de metade do total, isto num período de 10 anos (1938-1948); 10,8% de 47.502 porcos examinados, pertencentes a 994 rebanhos mostraram-se positivos. Encontraram 41,6% dêsses 994 rebanhos, com suínos infectados.

*Canadá* — SCOTT relata a existência de 226 casos humanos, em 1944. O índice de contaminação no gado, entretanto, varia de 12% a 31%, segundo várias estatísticas catalogadas por êle, fazendo prever um número muito mais elevado de doentes humanos. O Bureau de Estatís-

tica refere ter encontrado 30% em 22 plantéis de gado examinados. No quadro abaixo resumem-se os casos humanos observados:

Ano	N.º de casos
1912	1
1930	4
1932	1
1933	3
1934	5
1935	13
1936	2
1937	5
1940	54
1941	8
1942	8
1943	8
1944	4
1945	57

Por sua vez, entre os suínos de diversas zonas do País, o Departamento de Agricultura efetuou diversos inquéritos, utilizando a prova lenta; os trabalhos foram publicados, em 1950, por FRANK, MOORE, DUTHIE e MOYNIHAN. Em províncias da zona marítima, praticamente não existe brucelose (apenas 7 provas com títulos a 1/80 em 3.044 animais examinados); nas zonas centrais do Domínio (Ontário e Quebec), nenhuma prova positiva em 1.088 soros examinados; na zona do Pacífico, apenas 3 provas positivas a 1/80, num total de 1.601 amostras; já em 3.252 amostras da zona de Alberta, encontraram-se numerosas provas positivas. Mais tarde, BALLANTYNE relata que a média de casos positivos em mais de 50.000 bovinos, nos anos de 1949 e 1950 foi em torno de 9%, em Alberta, enquanto que em 1949, em Ontário, foi de 15,47%, em 37.566 bovinos.

É evidente que as poucas citações feitas destinam-se, apenas, a dar uma idéia do grau de disseminação da brucelose, sem pretendermos esgotar a literatura sobre o assunto nem fornecer os dados mais recentes.

#### D — BRASIL \*

Os detalhes que apresentaremos, da casuística da brucelose no Brasil, têm por finalidade facilitar aos interessados o exame do problema no País.

A distribuição da brucelose humana no Brasil ainda não está bem estabelecida. A incidência da doença animal, relativamente mais bem

\* Parte do tópico relativo à "Brucelose humana no Brasil" foi publicada em "Memórias do Instituto Oswaldo Cruz", 1950, 48:393-436, por G. Pacheco & M. Thiago de Mello. Os números entre parêntesis referem-se à bibliografia dos autores citados neste tópico.

conhecida, mostra que a frequência no homem seria muito maior se fôsem feitos inquéritos sistemáticos, pelo menos nas zonas de criação. (Fig. 64).



Fig. 64 — Distribuição da brucelose humana e animal, no Brasil, até 1950. Os pontos indicam Municípios onde foram registrados casos. Não está assinalada a casuística mais recente, principalmente dos Estados de São Paulo e Paraná. Original.

A literatura sôbre a brucelose humana é relativamente pequena em nosso País. Só nos últimos anos, tendo sido despertada a atenção dos clínicos para o problema, começaram a surgir trabalhos mais numerosos. A presente revisão, em ordem cronológica, tem por finalidade descrever sumariamente a casuística nacional, mostrando a sintomatologia, o critério diagnóstico e a conduta terapêutica.

Na literatura médica brasileira, o mais antigo trabalho que encontramos sôbre o assunto é o de MONIZ (41), que em 1902, na Bahia, perguntava se não existiria a brucelose naquele Estado, e aconselhava os clínicos a pensarem nela, quando em presença de piroxias de origem desconhecida.

Anos mais tarde, em 1908, GESTEIRA, aluno de MONIZ, em tese notável para a época, dissertava a respeito da "Etiologia e diagnóstico da septicemia de Bruce" (27), baseado na melhor literatura então dis-

ponível. Refere êle que FRÓES e MONIZ também estiveram possuídos da idéia da provável existência da infecção na Bahia, tendo feito algumas pesquisas nesse sentido, em 1902, com resultados negativos. Insurge-se contra o fato de MANSON, TRAMBUSTI e EYRE referirem como demonstrada a existência da brucelose no Brasil, não sabendo qual a origem dessa convicção, ignorância em que também nos encontramos quase 50 anos depois.

A parte experimental da tese de GESTEIRA, consiste na descrição de técnicas bacteriológicas de utilidade para o diagnóstico de brucelose e na observação de 6 casos que julga serem da infecção. Levantou a suspeita clínica por ter seu espírito prevenido contra o excesso de diagnósticos clínicos de malária e de tifo, para tôdas as pirexias prolongadas. Nos casos que relacionou, êsses diagnósticos tiveram que ser postos de lado em virtude da ausência do hematozoário de Laveran e da negatividade da reação de Widal, ambos os exames tendo sido repetidos várias vêzes; ao lado disso, a terapêutica pelo quinino não determinava modificação da febre. Se bem que as poucas provas diagnósticas de laboratório, para brucelose, efetuadas, tivessem sido negativas, a exclusão da febre tifóide e da malária, bem como a sintomatologia apresentada, eram sugestivas dessa moléstia. No primeiro caso efetuou êle a sôro-aglutinação com *Br. melitensis* 5 meses depois da paciente restabelecida, obtendo resultado negativo. Noutro caso, praticou a hemocultura em caldo, quando a temperatura era normal (36,7°C) e o resultado foi negativo durante oito dias de observação. No caso seguinte, houve contaminação accidental da hemocultura e o mesmo parece ter-se dado com o quarto, de que isolou um estafilococo; êste caso apresentava sintomatologia bastante semelhante à encontrada na brucelose crônica. Nos casos 5.º e 6.º, o material para hemocultura foi colhido em face de apirexia, apresentando os doentes a temperatura de 36,7°C e 37,2°C, respectivamente.

A primeira referência mais positiva a respeito da brucelose no Brasil, encontramos em trabalho de CARNEIRO (17), professor de Microbiologia da Faculdade de Medicina de Pôrto Alegre, que, em janeiro de 1913, descreveu na Sociedade de Medicina de Pôrto Alegre a observação de um caso de brucelose acompanhado em 1912. Tratava-se de um homem que havia ido a Cidreira, estação balneária do Rio Grande do Sul, e no hotel em que se hospedara, tivera oportunidade de ingerir leite de vaca; logo depois começou a sentir uma série de sintomas que foram relacionados aos da brucelose, por GONÇALVES CARNEIRO. A descrição clínica do caso é minuciosa, e graças a ela podemos ver que o paciente apresentou pelo menos 3 períodos febris aproximadamente iguais, intercalados de 2 de apirexia. A prova de aglutinação praticada com o sôro do paciente e usando como antígeno uma amostra de *Br. melitensis*, proveniente do laboratório de Wright, na Inglaterra, mostrou-se positiva ao título de 1/200. Foi tentada a hemocultura, com resultado negativo. CARNEIRO procurou obter informações sôbre a possível existência de outros casos em Cidreira e nada menos de 6 lhe foram apontados, que eram de brucelose com muita probabilidade. O exame clínico de indivíduos que se queixavam de sintomatologia vaga, imputável à brucelose, permitiu-lhe relacionar mais 3 casos. Quanto ao foco da infec-

ção, CARNEIRO atribuiu-o às cabras existentes na região, embora o paciente estudado mais detidamente negasse qualquer contacto com êsses animais, ou ter ingerido leite cru.

Quatro anos após êsse trabalho, aparece, publicado em São Paulo, o de AZEVEDO (4), que contesta as observações de CARNEIRO, concluindo pela inexistência da brucelose humana no Brasil, até a época. Para isso, empreendeu rigoroso trabalho experimental procedendo à aglutinação com soros sanguíneos de pacientes que apresentavam febres atípicas e sintomatologia vaga. Os soros eram aquecidos previamente a 56°C durante 30 minutos, condição essencial, na sua opinião, para eliminar as falsas aglutininas para brucelas; na inobservância dessa operação preliminar por parte de CARNEIRO, baseou êle sua refutação aos casos sulinos. Seus trabalhos realizaram-se no período de 1914 a 1915, tendo examinado grande número de pacientes; verificou que muitos casos que pareciam clinicamente brucelosos eram, na realidade, febre tifóide. Dois casos porém, foram mais suspeitos; considerou um como tifo exantemático e de outro não conseguiu fazer diagnóstico. Ambos apresentavam nítida reação positiva para brucelose com o soro não aquecido (1/150 e 1/500) mas os títulos baixavam respectivamente para 0 e 1/20, depois do aquecimento do soro. Foi isto o suficiente para a publicação do trabalho, negando a existência da brucelose no Brasil, embora pelo menos dois casos tivessem estado em suas mãos, com reações sorológicas positivas e sintomatologia imputável à doença.

Quase um decênio decorreu até que aparecesse nova publicação sobre a doença no Brasil, então no extremo Norte, em Belém do Pará. O exame atento do trabalho, porém, faz-nos acreditar, pelos dados existentes no mesmo, que positivamente não se tratava de brucelose o caso descrito em detalhes por ABEN-ATHAR (1). Em 1925, êste pesquisador fôra chamado para proceder a exames numa criança mordida por uma gata que abortara; a hemocultura revelou-se positiva para um germe que identificou à *Br. para-melitensis*; a paciente teve morte dentro de curto prazo, sem manifestar outro sintoma a não ser febre alta. De hemoculturas em outros pacientes, isolara também o mesmo germe; um ano antes, havia isolado idêntico germe dum gato. As amostras isoladas da criança e dos outros casos não aglutinaram com os soros dos pacientes de que se originaram nem deram fixação de complemento positiva; além disso, soros de coelhos inoculados com amostras autênticas de brucelas não aglutinaram essas três amostras. Por êsses motivos julgamos que os germes isolados não eram brucelas, embora fôsem muito interessantes, pois, não só causaram, aparentemente, a morte da criança, como também porque, inoculados em cobaias produziram morte rápida do animal, com lesões bastante graves.

Ao trabalho de ABEN-ATHAR segue-se o de NEIVA (43), relativo a um inquérito sorológico procedido, de 1928 a 1930, em indivíduos normais e com afecções diversas: alguns eram japoneses recém-chegados a São Paulo. Num total de 221 soros examinados, encontrou êle apenas 4 casos que podem ser considerados positivos, todos em imigrantes, um com o título de 1/80 e três com o título de 1/160. Tentou isolar o

germe, praticando 39 hemoculturas mas tôdas foram de resultados negativos.

Em 1932, CARINI & VESPUCCI, em São Paulo (16) isolaram, pela primeira vèz no Brasil, uma amostra de brucela, em individuo de 24 anos, tripeiro, que apresentava sintomatologia atípica, às vèzes com febre, tendo sido firmado o diagnóstico de brucelose bronco-pneumônica. O caso clínico foi descrito por PENNINO (57) e a identificação bacteriológica do germe foi procedida por BIER (10) que comprovou a procedência suína. A hemocultura foi positiva pela sementeira direta em placa de gelose, em caldo glicosado e em caldo ascite, enquanto que a aglutinação com o sôro do doente foi positiva a 1/500 com amostra de brucela de coleção, e a 1/100 com o germe isolado. Referem aquêles autores que o fato da infecção ser proveniente de suínos não devia causar surpresa pois já fôra assinalada a brucelose suína no estado de São Paulo. Foi ensaiada a terapêutica com vacinas autógenas, aparentemente com bons resultados.

Em sessão da Sociedade de Medicina e Cirurgia de São Paulo, BARRO & GIANONI (7, 8) apresentaram, em julho de 1933, um novo caso de brucelose humana em São Paulo, observado num descarnador do Frigorífico Armour, de 27 anos de idade, cujo diagnóstico inicial fôra gripe. O paciente apresentara febre irregular, cefaléia, suores e outros sintomas. O início fôra brusco; mal-estar, calafrios, dores generalizadas, língua saburrosa e epistaxe; ao exame apresentava esplenomegalia mas depois o órgão voltou ao normal; hepatomegalia discreta; a curva térmica não foi típica de febre ondulante, embora apresentasse remissões. A hemocultura, feita por VASCONCELOS e ROSENFELD, revelou-se positiva, em caldo glicosado, para *Br. suis*; a aglutinação procedida por ARTIGAS com a amostra de *Br. suis* anteriormente isolada no caso de CARINI & VESPUCCI e com outra amostra, de origem italiana, mostrou-se positiva ao título de 1/1300; o mesmo sôro, nas mãos de VASCONCELOS, aglutinou a amostra isolada do paciente até 1/3200 e uma amostra de *Br. suis* isolada por PENHA, no Instituto Biológico, até 1/1600. Foram feitas transfusões com sangue imune (24 horas antes o doador recebia injeção de brucelas mortas), injeções de tripaflavina, azul de metileno, mercúrio cromo, tudo com resultados negativos. A seguir foi instituída a terapêutica vacinal e com solusalvarsan; o paciente melhorou rapidamente, engordando 18 quilos. Dois meses após a alta, morreu de pneumonia, aparentemente sem relação com a doença anterior.

Logo a seguir, ANTUNES & CARNEIRO (2) isolaram pela terceira vez em São Paulo, uma amostra de *Br. suis*, de um paciente cuja história clínica foi descrita posteriormente por TRAMONTI (72). Tratava-se de um trabalhador em frigorífico, de 35 anos de idade, que apresentava febre de tipo ondulante por vários meses. No início sentira nevralgias no pescoço e braço esquerdo, no joelho direito e no ciático, logo desaparecidas; cefaléia, língua saburrosa, tendência a obstipação, hepato e esplenomegalia indolores, e dor no epidídimo esquerdo. Num dos períodos de pirexia foi procedida a hemocultura, com resultado positivo no fim de 4 dias. A amostra isolada aglutinou com soros antibrucela até 1/1600 e, inoculada em cobaia, produziu infecção, tendo sido re-iso-

lada do animal. O soro do paciente aglutinara *Br. abortus* até 1/500; posteriormente, nova aglutinação com *Br. melitensis*, também foi positiva a 1/500. O tratamento com tripaflavina, endovenosamente, não surtiu efeito; experimentaram, depois, a vacina tipo De Guglielmo, com bons resultados, sendo as hemoculturas regularmente negativas.

Ainda em 1933, PEREIRA FILHO (58), no Rio Grande do Sul, apresentou à Sociedade de Medicina de Pôrto Alegre o relato de um caso observado em mulher de 47 anos de idade, residente em Canoas, arredores de Pôrto Alegre, com sintomatologia variada: calafrios, dores pelo corpo, cefaléia, febre, sudação abundante, tosse e prisão de ventre; os sintomas se agravaram até que o clínico responsável recorreu aos exames de laboratório procedidos por PEREIRA FILHO, resultando positiva a hemocultura para *Br. abortus*, pela primeira vez isolada de casos humanos no Brasil. O soro da paciente, mesmo depois de aquecido a 56°C durante meia hora, ainda aglutinou uma amostra de *Br. abortus* ao título de 1/320. A origem da infecção foi atribuída à ingestão de nata batida (creme de Chantilly). Foram tentados os mais diversos tratamentos, sem resultado, agravando-se cada vez mais o estado geral. A doente se curou espetacularmente com apenas 3 injeções de endoproteínas extraídas da amostra isolada, com desaparecimento completo da febre e da sintomatologia.

Em fevereiro de 1934, CARINI (12) publicou novas observações de brucelose humana, em São Paulo. Examinara êle, 146 soros de doentes febricitantes e que haviam sido enviados ao laboratório para realização da prova de Widal. Procedeu, então, à soro-aglutinação para brucelas, encontrando 2 casos francamente positivos. O primeiro paciente era um indivíduo de 21 anos de idade, lavrador no município de Olímpia e que pouco tempo antes de ter sido seu soro examinado, lidara com porcas abortadas, na fazenda em que trabalhava. A sintomatologia consistia principalmente em febre irregular, suores e adinamia. A aglutinação foi positiva ao título de 1/800 com *Br. abortus*; a hemocultura em caldo glicosado e em placas de agar, foi positiva entre o quinto e o sexto dias; a amostra isolada foi identificada por Bier à *Br. abortus*, var. *suis*. CARINI teve informações de que o paciente fôra tratado, depois, com injeções endovenosas de cilotropina, tendo ficado completamente curado. O outro caso, referia-se a um empregado de um frigorífico em Jaguariaiva, estado do Paraná, com 25 anos de idade e que habitualmente se feria nas mãos com fragmentos de osso dos suínos abatidos; a sintomatologia era febre com intervalos de apirexia. A hemocultura foi negativa, enquanto que a aglutinação foi positiva em título de 1/200.

WEDERHAKE (74), no Rio Grande do Sul, ainda em 1934, publicou um dos mais interessantes trabalhos já feitos no Brasil sôbre a brucelose, levando-se em consideração a época em que foi escrito; é mesmo de estranhar que tenha sido citado aparentemente de primeira mão apenas por HORTA (30) e SILVA (67). Trata-se de uma tese para revalidação de diploma na Faculdade de Medicina de Pôrto Alegre. O autor, formado pela Universidade de Bonn, na Alemanha, descreve 4 casos de brucelose humana que tivera ocasião de observar na cidade de Santa

Maria, no interior do Estado, nos anos de 1932 e 1933. O relato dos casos é precedido de boa apresentação do que então havia de melhor na literatura sobre brucelose. Cada caso é acompanhado de uma curva térmica e são referidos os exames de laboratórios feitos, bem como o critério adotado para firmar o diagnóstico.

A observação n.º 1 é a de um menino de 12 anos que, antes de adoecer, costumava tomar leite cru, de vacas, muitas das quais haviam abortado. A sintomatologia era predominantemente febril, com exacerbações à tarde, oscilando entre 37,5º e 40ºC e ondulações em períodos de 5 ou 6 dias. Nenhuma prova de laboratório foi feita para confirmar o diagnóstico mas os sintomas e a epidemiologia eram bastante significativos de infecção brucelosa; no momento em que foi examinado por um clínico da cidade, o paciente declarou que 12 dias antes apresentara dor de cabeça, logo desaparecida, persistindo febre e prisão de ventre. Das vacas abortadas, dessa região, WEDERHAKE isolou *Br. abortus*. O paciente teve alta, curado, após o uso de variada medicação anti-infecciosa inespecífica.

A observação seguinte é relativa a uma mulher de 32 anos de idade que apresentava febre alta e havia emagrecido consideravelmente; foi observada quando já haviam decorrido 41 dias de doença. Queixava-se de dor de cabeça, obstipação rebelde, abatimento e nervosismo; língua saburrosa e mau hálito; hepatomegalia e esplenomegalia. Antes de adoecer, costumava auxiliar o espôso em serviço de curtume, muitas vezes lidando com os couros de animais doentes. A hemocultura foi positiva para *Br. abortus* e a sôro-aglutinação revelou-se positiva a 1/640. Como declara o autor, a marcha da moléstia e a curva termométrica iniciada no 42.º dia de doença, eram bastante significativas. O tratamento consistiu em injeções de 914 seguidas de outras de protinjetol e de tripaflavina. A convalescença foi muito demorada, acompanhando-se, durante 5 meses, de inchações das pernas e dos pés.

A terceira observação refere-se à progenitora da paciente do segundo caso, com 48 anos de idade. Apresentava febre havia três semanas, quando foi examinada; achava-se nervosa, com febre alta e obstipação rebelde; hepato e esplenomegalia.

A sôro-aglutinação foi positiva a 1/320 para *Br. abortus*; da hemocultura foi isolada *Br. abortus*. A marcha da moléstia bem como o quadro termométrico iniciado no 21.º dia da doença, já falavam em favor do diagnóstico de brucelose. O tratamento instituído baseou-se principalmente na administração de acetilarsan, tripaflavina, onadina e piramido, bem como regime dietético e hidroterapia. A cura foi obtida dentro de alguns meses, não permanecendo seqüelas; apenas a astenia geral foi mais difícil de vencer. WEDERHAKE julgou que a enfermagem exercida pela paciente em sua filha fôra o motivo do contágio e chama a atenção dos enfermeiros para que tomem precauções higiênicas ao lidarem com brucelosos.

A quarta e última observação de WEDERHAKE se refere a uma mulher de 54 anos de idade que foi observada depois de 8 dias de se encontrar acamada. A paciente apresentava reumatismo na perna esquerda havia 2 anos, rotulado com o nome de ciática; com os diversos tratamentos

até então instituídos, as dores desapareciam mas voltavam logo em seguida. Seis meses antes de ser examinada, depois de um resfriado que a levou ao leito, começou a apresentar suores e sensação de frio nos pés. Por ocasião duma gripe que tivera, dois anos antes de ser observada, ficou de cama durante 3 meses e apresentou febre alta com remissões que duravam, às vezes, mais de um semana. Daí por diante a febre voltou em várias oportunidades, sucedendo-se a períodos de apirexia, persistindo sempre as dores reumáticas, os suores frios e uma bronquite rebelde com escarro viscoso e abundante. Foi examinada pelo autor no oitavo dia duma recaída de gripe, em tudo semelhante aos surtos anteriores. Emaciação e anemia, estado febril, atrofia muscular, dores à palpação do ponto do nervo ciático e à movimentação da articulação coxo-femural, obstipação, esplenomegalia e hepatomegalia, eram os sinais apresentados. A hemocultura foi negativa para brucelas porém a soro-aglutinação para *Br. abortus* foi positiva ao baixo título de 1/20. O diagnóstico foi realmente elucidado pela epidemiologia, além do quadro clínico; a paciente declarou que havia muitos anos se alimentava quase com exclusividade de leite de duas cabras de sua propriedade. Esses animais, examinados pelo autor, revelaram a presença de brucelas no leite (microscopia e culturas); o soro da paciente aglutinou o germe isolado das cabras ao título de 1/200 e uma amostra de brucela caprina, de Bruce, ao título de 1/240. Ainda nesse caso não podia haver dúvida quanto ao diagnóstico, pelas provas feitas e pela sintomatologia, inclusive a curva térmica iniciada ao nono dia de doença. O tratamento consistiu, principalmente, em suprimir o leite das cabras da alimentação, emprêgo de analgésicos diversos e, depois, injeções de acetilarsan, três vezes por semana; com isso a enferma foi melhorando a astenia bem como as dores ciáticas, mas continuaram os surtos febris. Posteriormente o autor passou a injetar tripaflavina (5 ml de solução a 2%) duas vezes por semana; com oito injeções a febre baixou definitivamente e a doente teve alta, curada. A convalescença, no entanto, foi muito vagarosa; durante três meses os pés permaneceram inchados. As dores ciáticas, a febre e os suores noturnos, porém, não mais voltaram até sete meses após a alta.

Em novembro de 1934, CORRÊA (20) publicou o primeiro caso de brucelose observado no Rio de Janeiro. Tratava-se de um indivíduo de 25 anos de idade com a profissão de abatedor de porcos, procedente de Barra do Pirai, estado do Rio de Janeiro. Apresentava como sintomatologia, suores, febre, anorexia, astenia, cefaléia, dores e emagrecimento. A soro-aglutinação, feita por LACORTÉ (33), foi "positiva em 3 horas a 1/320"; posteriormente foram feitas outras aglutinações com resultados positivos em títulos altos; uma deu o título de 1/4000, inicialmente; depois, até 1/7000, para *Br. melitensis* e *Br. abortus* e até 1/1000 com *Br. suis*; as provas foram feitas com soro em natureza e aquecido a 56°C meia hora, utilizando como testemunhas soros de indivíduos normais. A hemocultura, feita posteriormente (33, 34) revelou a presença de um germe identificado como *Br. melitensis*. Nesse caso de CORRÊA, torna-se difícil estabelecer a origem da infecção, visto como o paciente lidava com porcos e ter sido identificada a brucela, dele isolada, como *Br. melitensis*.

Em 1935, apenas um trabalho foi realizado, mostrando a incidência de novos casos em São Paulo. NEIVA (44) examinou 603 soros humanos destinados às provas de Widal e de Wassermann, provenientes de enfermos da Santa Casa, e nêles encontrou 10 positivos (1,06%), sendo 7 a 1/100, 2 a 1/320 e 1 a 1/640. As aglutinações foram feitas em banho-maria a 55°C durante duas horas; após êsse tempo era feita uma leitura, seguindo-se a definitiva, no fim de mais 24 horas à temperatura ambiente; os antígenos empregados eram suspensões de *Br. melitensis* e *Br. suis*. As hemoculturas procedidas nesses pacientes foram tôdas negativas.

CARINI (13), no ano seguinte, novamente descreve outros casos, observados em 1935. Examinou 143 soros, provenientes de vários pontos do estado de São Paulo, encontrando 3 casos positivos. O primeiro enfêrmo era um homem de 27 anos, residente na Capital, açougueiro; fazia parte de sua tarefa habitual cortar carnes de boi, de vitela e de porco, no mercado; apresentava como sintomas astenia, febres vespertinas, cefaléia, vômitos e epistaxe; declarou que freqüentemente se feria nas mãos, durante seu trabalho. A hemocultura, procedida em fase de pirexia, foi positiva para brucela, tendo sido a amostra identificada por Bier à *Br. suis*, comparativamente com uma amostra de *Br. abortus* isolada por NEIVA, uma de *Br. suis*, de TRAUM, e a *Br. melitensis* isolada no caso de CORRÊA (20); a sôro-aglutinação foi positiva a 1/500. Foi instituído o tratamento com vacinas. O segundo caso ocorreu num jovem de 18 anos de idade, filho de um sitiante em Santa Cruz do Rio Pardo, e que vivia em promiscuidade com animais domésticos. A aglutinação foi positiva a 1/1000 mas a hemocultura foi negativa; apresentava como sintomatologia febre, palidez e emagrecimento; instituído o tratamento com paludan, obteve-se a cura em 12 dias. O terceiro caso foi o de uma mulher de 33 anos de idade, operária num frigorífico da Capital, na secção de triparia (abertura e limpeza de tripas de porcos, bois e carneiros). A sintomatologia apresentada consistia em febre, cefaléia, dores e suores; a aglutinação foi positiva até o título de 1/500 enquanto que a hemocultura foi negativa. CARINI relata que desde então passou a usar na rotina a prova de aglutinação para brucelas, ao proceder a uma reação de Widal.

O caso seguinte, observado no Rio de Janeiro, por ASSIS (3), teve como curiosidade maior o fato de ter sido o germe isolado de abcesso dentário. Tratava-se de mulher de 41 anos de idade, residente na Capital mas que freqüentava uma fazenda em Taubaté, no estado de São Paulo, sem contudo ter contacto com animais. O relatório clínico, de CARNEIRO DE MENDONÇA, transcrito no trabalho de ASSIS, mostra que a paciente apresentava gastralgia postprandial, cefaléia, crises nervosas (chôro convulsivo), neurastenia, idéias de suicídio, obstipação e crises hemorroidárias; o exame odontológico revelou a presença de granulomas dentários; a cultura de material do granuloma de um dos dentes extraídos, foi positiva para brucela, identificada por ASSIS como *Br. melitensis*. A hemocultura foi negativa porém a sôro-aglutinação revelou-se positiva aos títulos de 1/400 para *Br. melitensis* e 1/100 para *Br. abortus* e *Br. suis*; as aglutinações foram feitas incubando os rea-

gentes a 37°C durante 12 horas e depois deixando-os mais 36 horas à temperatura ambiente. Os exames complementares de laboratório mostraram leucopenia com linfocitose e tendência à monocitose. A intradermo-reação, usando como antígeno o germe isolado no caso de CORRÊA (20), foi positiva; a injeção de 0,2 ml de antígeno determinou em 24 horas o aparecimento de vesícula e aréola, tendo esta aumentado no fim de 48 horas.

Ainda em 1936, BOTTINI (11) descreve um caso de brucelose humana observado em Pôrto Alegre, no Rio Grande do Sul, em mulher de 44 anos de idade, a qual apresentava cefaléia, vômitos, dores de garganta, artralguas, dores nas costas, nervosismo com freqüente vontade de chorar e tristeza, obstipação, hepato e esplenomegalia, anexite crônica e febre de curva térmica ondulante; contava em seus antecedentes a estada em Gravataí, nas proximidades de Pôrto Alegre, onde tomara leite cru. A hemocultura foi positiva para *Br. abortus* tendo sido o sangue colhido em fase de pirexia e a incubação feita em atmosfera de CO<sub>2</sub>; a identificação do germe foi feita por PEREIRA FILHO que, igualmente, preparou a endoproteína do germe, com a qual a enfôrma foi tratada, ficando aparentemente curada.

CARINI (14), em princípios de 1937, relata os resultados de nova série de soros examinados durante o ano anterior. Em 200 amostras recebidas para a realização de provas de Widal, encontrou uma aglutinando *Br. abortus* em título superior a 1/300. Esse material provinha de homem de 28 anos de idade, residente em Marília, no estado de São Paulo e que sempre vivera em contacto com animais (muare e suínos). A hemocultura foi positiva para *Br. suis*, tendo sido a amostra identificada por BIER. O paciente apresentava febrícula, mal-estar, cefaléia, dores na nuca, suores noturnos e esplenomegalia; o diagnóstico inicial fôra de tifo-malária. Declarou que dias antes de adoecer auxiliara a parturição de uma porca, retirando alguns leitões que se achavam em posição difícil. Esse caso de CARINI serviu para mostrar mais uma vez a estreita relação entre os doentes observados e o contacto com porcos.

Em extenso trabalho, BARROS (6) faz considerações sôbre os casos de brucelose observados em São Paulo até então, e relata mais dois. O primeiro tratava-se de um homem com 32 anos de idade, apanhador de areia do rio Tieté e que foi observado durante os anos de 1933 e 1934, inicialmente por CELSO FIGUEIREDO. Ao ser examinado, descreveu que cêrca de 25 dias antes apresentara bruscamente febre, cefaléia, dores ósteco-articulares e musculares, sudação abundante; a seguir, tosse com expectoração muco purulenta; no fim de 10 dias não pôde mais se levantar e permaneceu acamado. Ao exame clínico apresentava dispnéia, temperatura elevada, bronquite generalizada bilateral, língua saburrosa, fígado normal porém baço aumentado e indolor; levantou-se a hipótese de febre tifóide; a curva térmica não era do tipo ondulante; nos comemorativos declarou que dias antes de adoecer, ajudara a limpar um porco. A hemocultura praticada por VASCONCELOS revelou-se positiva dentro de 24 horas, em caldo simples, para um germe posteriormente identificado como *Br. suis*. O tratamento instituído com solusalvarsan

foi eficaz e o paciente obteve alta, curado. Um ano depois, continuava apresentando boa saúde.

O outro caso relatado por BARROS foi observado em 1936 e referia-se a um paciente de 32 anos de idade, motorista, não tendo sido possível esclarecer o modo pelo qual se processara a infecção. Cerca de 40 dias antes de ser examinado, sentira calafrios, náuseas, cefaléia, dores generalizadas e febre alta, depois de um banho de mar. A seguir, apresentara suores e astenia. Foi feito o diagnóstico inicial de febre tifóide e mandaram-lhe arrancar os dentes; com isto não apresentou melhoras. Ao ser examinado posteriormente, mostrava-se abatido e anêmico; a astenia era tão grande que não podia locomover-se; esplenomegalia dolorosa e acentuada hepatomegalia, igualmente dolorosa, anemia, sudação abundante, febre alta, língua vermelha e seca, amígdalas hipertrofiadas. Feita a hemocultura em caldo glicosado, esta foi positiva no fim de 5 dias, para *Br. suis*. Durante a hospitalização os sintomas se agravaram, apresentou delírios, obnubilação intelectual, agitação e insônia; a febre não era do tipo ondulante. O tratamento instituído, baseado principalmente em solusalvarsan e transfusões sanguíneas fez com que o paciente melhorasse com rapidez e entrasse em convalescença dentro de pouco tempo.

O caso a seguir, de STAVALE (71), foi observado em 1936, também em São Paulo, em uma paciente de 20 anos de idade, filha de um açougueiro. A sintomatologia apresentada foi atípica; a princípio, dores abdominais, vômitos e calafrios; ao exame, apresentava temperatura de 39,5°C, pulso de 90 a 100, língua saburosa, baço não aumentado porém hepatomegalia. A seguir, surgiram manifestações urinárias: cistite, micções frequentes e dolorosas. A febre continuou, bem como dores generalizadas e suores abundantes; ao mesmo tempo surgiram dores articulares e nervosismo. Por fim, todos os sintomas se agravaram, principalmente a astenia, chegando a enfêrma a perder 8 quilos de peso. A hemocultura, feita por VASCONCELOS, mostrou-se negativa em caldo simples, observada durante 15 dias. A sôro-aglutinação, porém, foi positiva para *Br. abortus* ao título de 1/800 ou mais. O tratamento com solusalvarsan também deu ótimos resultados, embora logo após a primeira injeção fôsse observado aumento de temperatura e acentuação das dores articulares e dos suores.

Os casos publicados a seguir foram os de MAGALHÃES (40), em Minas Gerais, um deles descrito com maiores detalhes. Tratava-se de um homem adulto, observado em 1934, residente em Pedro Leopoldo, que apresentara sintomatologia variada, tendo tido os diagnósticos iniciais de tifo abdominal, malária, tuberculose e infecção dentária crônica. Ao exame físico, apresentava febre de tipo ondulante, esplenomegalia, hepatomegalia, neurastenia e sudação; as hemoculturas foram negativas mas a sôro-aglutinação foi positiva com *Br. melitensis* até 1/640. A cura foi obtida com injeções intravenosas de azul de metileno. MAGALHÃES declara que em 1937, um outro paciente, morador em Belo Horizonte, apresentara sintomatologia idêntica à do primeiro, com aglutinação positiva a 1/320 com *Br. abortus* e 1/640 com *Br. suis*. Refere, ainda, a

existência de 2 ou 3 casos clínicos na mesma cidade, observados por vários colegas.

Em 1938, em São Paulo, LIMA (37) publica pequena nota sobre o uso do "liquoid" nas hemoculturas e declara ter isolado, em um caso, uma brucela; não fornece maiores detalhes sobre o mesmo. É provável que se trate de um dos casos descritos posteriormente por BARROS, VASCONCELOS & ROSENFELD (9).

FONSECA (26) descreve a seguir, em 1940, casos de brucelose humana em número de 6, observados no Rio de Janeiro. O diagnóstico se fizera não só pela aglutinação como também pelos comemorativos pois todos os pacientes referiam a ingestão de leite cru, de cabra (dois) e de vaca (quatro). A sintomatologia variada mas bem sugestiva de brucelose crônica foi, principalmente, a seguinte: Caso 1: Anemia com monocitose e síndrome pluriglandular, com nítida insuficiência tireóidea. Caso 2: Aspecto de febre tifóide, com intervalos longos de apirexia, suores contínuos e algias ósseas. Caso 3: Lembrava a forma pulmonar, simulando a tuberculose, com anemia, linfomonocitose, adenopatias, febre desorientada e de ritmo descontínuo. Caso 4: Grande anemia com esplenomegalia, monocitose, febre intermitente de tipo ondulante, acentuada orqui-epididimite dolorosa. Caso 5: Adenopatias, anemia, monocitose, suores, algias e febre ondulante. Caso 6: Evolução prolongada, suores copiosos e fétidos, algias, astenia neuro-muscular, acentuada monocitose e febre desordenada, com períodos de apirexia. Em todos os casos foi feito o tratamento e obtida a cura pela arsenoterapia.

Durante a apresentação do trabalho de FONSECA, na Academia Nacional de Medicina, SANSON (64) e MACIEL (38), tecendo comentários sobre o mesmo, referem ter verificado, também, casos julgados suspeitos de brucelose, em pacientes sob seus cuidados mas sem os necessários dados laboratoriais confirmatórios.

FALLEIROS (23) descreve, no mesmo ano, um caso de brucelose observado em Franca, estado de São Paulo. Tratava-se de um lavrador de 39 anos de idade, que tinha contacto freqüente com animais. Apresentava hepatomegalia, esplenomegalia, febre, cefaléia, astenia, insônia, dores generalizadas, suores noturnos, neutropenia e monocitose. As hemoculturas feitas em períodos de apirexia, revelaram-se negativas mas a aglutinação foi positiva até o título de 1/3000 (16). O tratamento feito com amarelo de acridina mostrou-se ineficaz.

OLIVEIRA (46), no Rio de Janeiro, efetua, em 1940, um inquérito bem conduzido para pesquisa de aglutininas em soros recebidos para outras reações sorológicas. Trabalhou com 1.080 amostras de soros, considerando positivos apenas aqueles que apresentavam título de 1/160 ou mais, tendo encontrado um grande número de positivos a 1/80. Os números seguintes resumem seus resultados:

<i>Br. abortus</i> .....	30 (2,77%)
<i>Br. suis</i> .....	10 (0,92%)
<i>Br. melitensis</i> .....	5 (0,46%)
<i>Br. abortus</i> e <i>Br. melitensis</i> .....	2 (0,18%)
Total .....	47 (4,33%)

Em dois dos casos positivos para *Br. suis*, OLIVEIRA praticou reação intradérmica, obtendo resultados positivos; um deles tratava-se de empregada doméstica apresentando febre e o outro era relativo a um indivíduo que costumava freqüentar uma fazenda no interior do País. Em 3 dos pacientes com reações positivas para *Br. abortus* obteve intradermo-reação positiva; um paciente apresentava alterações para o lado do aparelho respiratório e do sistema nervoso e referia a ingestão de leite cru; outro, proveniente de Miracema, estado do Rio de Janeiro, apresentava oto-spongiose e também citava a ingestão de leite cru; o último apresentava coriza crônica, dores articulares, fadiga, cefaléia e também referia a ingestão de leite cru, residindo em Miracema; êste enfêrmo curou-se com a terapêutica vacinal. Em dois dos pacientes que apresentaram aglutinações positivas para *Br. melitensis*, obteve também intradermo-reações positivas; um deles mostrava sintomatologia crônica e outro apresentava febre do tipo ondulante por mais de 30 dias. Quase todos os 1.080 soros examinados por Oliveira aglutinavam a 1/10 e a maioria a 1/20, o que deve ser considerado como aglutinação inespecífica.

Além da verificação da existência de brucelose humana em proporções de 4,33% em indivíduos no Rio de Janeiro, numa larga estatística, o trabalho de OLIVEIRA permitia conjecturar que alguns desses casos deveriam ser produzidos por *Br. melitensis*, tendo em vista os títulos apresentados:

Número do sôro	<i>Br. melitensis</i>	<i>Br. abortus</i>	<i>Br. suis</i>
201	1/160	0	0
240	1/640	0	0
257	1/320	1/160	1/10
288	1/640	1/20	1/20
289	1/320	1/20	1/10
308	1/640	1/320	1/40
513	1/160	1/40	1/20

Em 1941, РАСНЕКО (47) propõe a inclusão das brucelas na sôro-reação de Widal e declara ter verificado no ano anterior, em 12 soros de doentes com pirexias prolongadas, 3 casos com aglutinação positiva para brucelas, em indivíduos moradores no estado do Rio de Janeiro. Um deles, procedente de Areal, morador em fazenda de criação, apresentava febre durante mais de dois meses e emagrecimento; a aglutinação foi positiva para *Br. abortus* ao título de 1/1280. O segundo caso, doente de São José do Rio Preto, com pirexia prolongada, aglutinou *Br. abortus* ao título de 1/1280 e *Br. melitensis* a 1/640. O último caso, de Paraíba do Sul, apresentava febre acima de 40°C, agitação e delírio; o sôro aglutinou *Br. abortus* ao título de 1/2500 e *Br. melitensis* parcialmente a 1/640; neste caso a hemocultura foi positiva para *Br. abortus*.

Pouco depois, o mesmo autor (48) refere ter observado mais dois casos, por provas sorológicas, sem ter conseguido do médico assistente, maiores detalhes sôbre êles.

Em longo e documentado trabalho, BARROS, VASCONCELOS & ROSENFELD (9) descrevem dois casos com êxito letal, ambos no estado de São Paulo. O primeiro enfermo observado em 1938, era um homem de 29 anos, advogado, residente em São Paulo, que apresentava febre, astenia, anemia, sudação, calafrios, bronquite, esplenomegalia, hepatomegalia e endocardite. A hemocultura praticada por LIMA, depois de várias tentativas, permitiu isolar *Br. melitensis* e a sôro-aglutinação foi positiva até o título de 1/1600. Essa endocardite séptica pela *Br. melitensis* teve curso idêntico ao observado na endocardite por estreptococo. O outro caso foi observado em paciente de Marília, de 38 anos de idade, japonês e lavrador. Durante a observação apresentou febre de tipo ondulante, tosse, astenia, hepatomegalia, esplenomegalia, sudorese noturna, bronquite, petéquias pelos braços e pernas e subicterícia. O sôro aglutinou *Br. suis* e *Br. melitensis* a 1/800 e, depois de absorvido, revelou aglutininas apenas para *Br. suis*. A hemocultura foi positiva para esta espécie, na fase final da doença e confirmou o diagnóstico de brucelose visceral hepato-esplenomegálica. Também a cultura de medula do esterno revelou-se positiva, no fim de dois dias, para *Br. suis*; esta técnica era, então, empregada pela primeira vez.

SCHWAB (65), em 1941, no Espírito Santo, também descreve um caso de brucelose, observado em 1937, em uma enferma residente longe da capital do Estado. A sintomatologia inicial era febre contínua, durante 2 meses, dispnéia, crises de sudorese e anemia intensa; seguiu-se um parto com retenção de placenta acompanhado de hemorragias e calafrios, e que determinou infecção puerperal. Os exames de laboratório foram negativos para impaludismo e outras infecções. A doente referia-se à ingestão de queijo feito com leite cru, de cabra. Depois, surgiram nevralgias intercostais, sendo feito o diagnóstico de pleuriz, com exame de escarro negativo para bacilo tuberculoso. Feita nova hemocultura, houve desenvolvimento, no 4.º dia, de um germe que aglutinou fracamente com soros anti-*Br. abortus* e anti-*Br. suis* e ao título de 1/640 com sôro anti-*Br. melitensis* do Instituto de Biologia Animal. Em nova hemocultura praticada na paciente, foi isolado o mesmo germe. A vacina autógena não produziu resultados satisfatórios, a doente vindo a falecer logo depois, já em Araguaia, para onde regressara. O autor declara que a suspeita de brucelose foi levantada principalmente pela existência de casos no Município de Domingos Martins, sobre os quais não conseguimos outras referências. Também refere que o serviço de Estudos e Pesquisas de Febre Amarela do Espírito Santo, verificara em um caso de viscerotomia, lesões histopatológicas imputáveis à brucelose, o que não permite afirmar, contudo, tratar-se realmente dessa doença.

Em 1942, CAUSEY & CAUSEY (19), descrevem um caso de brucelose humana no estado do Ceará, observado em 1940, em Aracati. Tratava-se de um homem de 30 anos, pescador, que às vezes trabalhava num curral auxiliando o trato dos animais ou ordenhando-os. O paciente apresentava febre, cefaléia, artralgia, náuseas e magreza; a sôro-aglutinação rápida foi positiva até 1/200. Os bovinos desse curral estavam infectados, em grande número.

O trabalho de HORTA (30), apresentado à XI Conferência Sanitária Pan-americana reunida no Rio de Janeiro, em setembro de 1942, contém referências a casos de brucelose humana, alguns dêles inéditos. Citaremos os que não foram objeto de publicações posteriores. SÁ EARF & CRUZ comunicaram à Sociedade Médica de Petrópolis a observação de 3 casos positivos para brucelose, em Petrópolis, sem que tenha sido revelada qual a prova diagnóstica. FONSECA observou entre 1941 e 1942, um caso de brucelose em mulher de 18 anos de idade, proveniente do estado do Amazonas, onde contraíra a doença; apresentava febre do tipo ondulante, anemia, monocitose, astenia e sôro-aglutinação positiva para *Br. abortus*, tendo sido curado com a terapêutica arsenical. Outro caso, em homem de 18 anos de idade, no Rio de Janeiro, parecia tratar-se de febre tifóide porém a reação de Widal fôra negativa; apresentava anemia, monocitose, adenopatias e aglutinação positiva para *Br. abortus*; também curou-se com o emprêgo do arsênico. O último caso foi observado em mulher de 50 anos de idade, também no Rio de Janeiro, que apresentava anemia, monocitose, esplenomegalia e adenopatia; a reação de aglutinação foi positiva para *Br. abortus* bem como a prova opsonocitofágica; a paciente morreu quase em caquexia. HORTA refere que em 1940, em Pedro do Rio, estado do Rio de Janeiro, verificou 2 casos em indivíduos com sôro-aglutinações positivas, doentes de BARROS FRANCO.

SILVA (66) examina a situação da brucelose no Rio Grande do Sul, até 1942, e comunica seu trabalho à mesma Conferência Sanitária. Apresenta 7 casos inéditos, com diagnóstico bem documentado e relata os resultados de aglutinações em série efetuadas em soros de indivíduos de Pôrto Alegre e do interior do Estado. Em 358 soros de moradores na capital do Estado encontrou 2 positivos ao título de 1/160 sem que a observação clínica viesse confirmar o diagnóstico; 3 outros foram acompanhados de elementos que permitiram firmar o diagnóstico de brucelose. Em 101 amostras de soros de indivíduos do interior do Estado, encontrou 2 aglutinando a 1/320 e uma a 1/80. Os casos relatados foram os seguintes: Caso 1: isolamento de *Br. abortus* por PEREIRA FILHO, em 1934. Casos 2 e 3: isolamento de *Br. abortus* por PEREIRA FILHO, em 1938 e 1939, respectivamente; ambos os pacientes se contaminaram na mesma fonte, referindo a ingestão de leite cru. Caso 4: isolamento de *Br. abortus*, por PEREIRA FILHO em 1939. Caso 5: indivíduo apresentando sintomatologia típica, observado em 1941, declarando ingerir leite de cabra, diariamente, mas com hemocultura e aglutinação negativas; a intradermo-reação, praticada com antígeno de *Br. melitensis* foi fortemente positiva. Caso 6: homem de 21 anos, viajante, observado em 1942, que referia ter ingerido lingüiça de porco fabricada em Taquari. A sintomatologia principal era a presença de granulomas dentários, tendo arrancado 17 dentes, todos com lesões. A hemocultura foi positiva para *Br. suis* e repetida 2 e 3 meses depois, continuava positiva. O sôro do paciente aglutinava *Br. melitensis* ao título de 1/300, *Br. abortus* a 1/1280 e *Br. suis* a 1/2560. Também a reação opsonocitofágica foi positiva. Caso 7: isolamento de *Br. abortus* por PEREIRA FILHO, referindo o paciente a ingestão de leite cru, de vaca.

Em 1943, LEMME JR. (35) descreve um caso no Rio de Janeiro, em mulher de 29 anos de idade. A enfôrma já tivera 6 abortos sem causa aparente e declarava ter estado em fazenda no interior de São Paulo, onde tivera contacto com uma cabra. Apresentava dor de cabeça que se irradiava para o pescoço e ombros, perturbação nervosa e grande excitabilidade, crises de angústia, depressão, perturbações gastro-intestinais, palpitações, desfalecimentos, às vêzes pequena elevação de temperatura; predominavam os sintomas de neurastenia; havia também ligeira linfocitose e leucopenia. Ao lado dessa sintomatologia, apresentava reações dentárias periapicais. De três dos dentes extraídos foram isolados bastonetes Gram negativos que, comparados com amostras do laboratório de Assis, comportaram-se como *Br. melitensis* em provas de cromo-bacteriostase. A sôro-aglutinação foi positiva para *Br. melitensis* a 1/250; negativa a partir de 1/62.5 com *Br. suis* e *Br. abortus* e aos títulos de 1/250 e 1/125 com duas amostras isoladas dos dentes. A fixação de complemento feita com dois dos germes isolados também foi positiva, bem como a intradermo-reação que deu vesícula e aréola de 15 mm. A terapêutica feita com vacina autógena determinou o aparecimento de reações às vêzes intensas, mas os resultados foram rápidos e completos, restabelecendo-se a paciente. Dois anos depois, foi observada, sendo constatada a completa cura clínica.

PACHECO, NOVAES & VEIGA, no mesmo ano (50), descrevem 3 casos de brucelose ocular, dois no Rio de Janeiro e um outro em São Paulo. Caso 1: Mulher de 20 anos que declarava ter estado numa fazenda em Angra dos Reis, onde tivera oportunidade de ingerir leite cru. Apresentava cefaléia, sonolência, febre, náuseas e adinamia prolongada; depois sucederam-se novos surtos febris, ao lado de alterações neuropsíquicas e irritabilidade; aos poucos foi surgindo uma deficiência visual diagnosticada no momento do exame como neurocório-retinite do olho direito; a sôro-aglutinação foi positiva para *Br. abortus* ao título de 1/640, sendo negativa para *Br. suis* e *Br. melitensis*. A intradermo-reação positiva foi acompanhada de reações locais e gerais, inclusive dor no olho doente. O tratamento com vacinas melhorou as condições da enfôrma. Caso 2: Homem de 25 anos de idade que costumava passar tempos em fazenda onde houvera casos de brucelose bovina, e que frequentemente tinha anginas repetidas. Ao exame oftalmológico foi diagnosticada uveíte serosa, sendo a sôro-aglutinação positiva a 1/80 com *Br. abortus*, 1/40 com *Br. suis* e negativa com *Br. melitensis*. Também melhorou com o emprêgo de vacinas. Caso 3: Observado em mulher jovem, em São Paulo, que apresentava hemorragia intra-ocular e conseqüente cegueira por atrofia do nervo ótico. A sôro-aglutinação foi positiva para *Br. suis* e a prova intradérmica produziu reação intensa. Neste caso a terapêutica vacinal não acarretou melhoras porque já havia atrofia do nervo ótico.

Em trabalho publicado em 1943, VIGNOLI (73) refere que BICUDO DE CASTRO tivera oportunidade de diagnosticar brucelose em paciente do qual se isolou *Br. melitensis* numa raiz dentária; outras provas diagnósticas, feitas por PACHECO & VEIGA foram positivas. Segundo informação pessoal de VEIGA, é o mesmo caso n.º 1 de PACHECO, NOVAES &

VEIGA (50). De 1940 a 1943 VIGNOLI observou um caso, no Rio de Janeiro, em mulher de 30 anos que apresentava reumatismo lombo-sacro, febre moderada, fenômenos alérgicos, sinusite, focos dentários, apendicite, emotividade, astenia, cefaléia, hipotensão e abscessos no braço e no seio; febres de vez em quando; referia uso de leite cru, em fazenda no interior do estado de São Paulo. Sôro-aglutinação ao título de 1/40 com *Br. abortus* mas intensa reação positiva à prova intradérmica, para *Br. suis* e *Br. melitensis*, com manifestações gerais: acentuação de astenia, vertigens e dores lombares. A paciente melhorou com o emprêgo de vacina. O caso seguinte de VIGNOLI, observado em 1943, tratava-se de mulher de 52 anos de idade, procedente de Mato Grosso, onde tinha o hábito de beber leite cru, todos os dias. Apresentava um quadro de malária bem como reumatismo, dores na fossa ilíaca direita, resfriados freqüentes e sinusite. Sôro-aglutinação ao título de 1/160 com *Br. melitensis* e 1/40 com *Br. abortus*; negativa para *Br. suis*. A prova intradérmica foi positiva para *Br. melitensis* e *Br. suis*, com reação geral traduzida por cefaléia, intensificação da tosse e do estado febril e dores articulares. O tratamento com vacina fez desaparecer a tosse e melhorar o estado geral. O último caso era o de uma enfêrma de 30 anos, residente no Rio de Janeiro, que apresentava febre diária vespéral, de pouca intensidade, arrepios de frio, astenia, anginas repetidas, urticária, coriza espasmódica, sangramento de gengivas, dor epigástrica, náuseas, vômitos, cefaléia, insônia, dor na nuca, prisão de ventre, nervosismo e diarréia. Costumava tomar leite cru, diàriamente, durante 5 anos, inclusive em Miguel Pereira, no estado do Rio de Janeiro, logo depois da ordenha. Sôro-aglutinação a 1/80 para *Br. suis* e forte reação geral à prova intradérmica utilizando os 3 tipos de brucelas. A paciente melhorou com o emprêgo de vacina.

Ao publicar o trabalho que apresentara à XI Conferência Sanitária Pan-americana, SILVA (67) acrescenta novos dados. Realizou mais 453 aglutinações com soros provenientes de indivíduos moradores em Pôrto Alegre, encontrando um que aglutinava brucelas até o título de 1/160 e outro até 1/80; os restantes eram negativos. Descreve dois novos casos, ambos nessa Capital. Num dêles, a sintomatologia confirmou o diagnóstico de laboratório; tratava-se de um indivíduo que trabalhava em fazendola nas imediações de Pôrto Alegre; a sôro-aglutinação foi positiva até 1/1240, porém, a hemocultura foi negativa. Noutro caso a hemocultura foi positiva para *Br. suis* e a sôro-aglutinação com *Br. abortus* e *Br. suis* elevou-se a 1/5120.

MADRUGA, em 1944 (39), assinala ter isolado no ano anterior uma amostra de *Br. melitensis* de hemocultura praticada em indivíduo que apresentava quadro febril do tipo ondulante; a amostra se comportou da mesma forma que uma padrão, nas provas de bacteriostase com corantes.

SODRÉ (70), no mesmo ano, refere que observou diversos casos de pacientes de sua clínica no Rio de Janeiro, os quais apresentavam sintomatologia vaga e reto-colite em 90% dos casos; pareciam tratar-se de amebíase mas na realidade eram brucelosos; sômente em 10% foram encontrados cistos de amebas. Um dêles é relatado com maiores de-

talhes; tratava-se duma mulher que mostrava sintomatologia vaga e reto-colite; a aglutinação foi positiva ao título de 1/160 para *Br. abortus*; com *Br. melitensis* o título foi de 1/20 e com *Br. suis*, de 1/40; a intradermo-reação foi positiva, com manifestações gerais intensas: adinamia, dor abdominal difusa, cefaléia e reação retal acentuada.

Em Minas Gerais, PÉRES (60) comunica os resultados de investigações realizadas em 1941, com 167 soros humanos, de reação de Widal negativa; utilizou a técnica de aglutinação lenta somente com antígeno de *Br. abortus*, incubando os tubos a 50°C de um dia para outro. Encontrou 4 casos positivos. Caso 1: Mulher de 30 anos de idade, de Belo Horizonte, com manifestações febris; reação positiva ao título de 1/160. Caso 2: indivíduo de Belo Horizonte apresentando quadro clínico muito característico de brucelose; a hemocultura foi negativa mas a sôro-aglutinação foi positiva a 1/640 e a fixação de complemento fortemente positiva. Caso 3: Paciente morador em Águas Belas, região norte do estado de Minas Gerais, apresentando aglutinação ao título de 1/640. Caso 4: Indivíduo residente em Florestal, município de Pará de Minas, e que apresentou sôro-aglutinação positiva a 1/640.

O mesmo autor, em 1945 (61), descreve a situação da brucelose humana em Minas Gerais. Refere que AROEIRA NEVES, durante os anos de 1937 a 1940, realizara aglutinações com soros de 136 indivíduos, em Belo Horizonte, encontrando 43 positivos ao título de 1/160 ou mais, sendo 26 para *Br. melitensis*, 8 para *Br. abortus* e 9 para *Br. suis*. MAGALHÃES, também citado por PÉRES, verificou, em 1939, um caso de brucelose aguda num veterinário que atendera vacas portadoras de retenção placentária, em Florestal, perto de Belo Horizonte; o sôro do paciente aglutinava *Br. abortus* ao título de 1/2560. Continuando os seus trabalhos, PÉRES examinou, de 1943 a 1945, 2.160 soros procedentes de Institutos, Laboratórios e Hospitais de Belo Horizonte, e quase todos destinados à reação de Wassermann; praticou a prova rápida, apenas em diluições de 1/100 e 1/200, considerando ambos os títulos positivos. Encontrou 9 soros com título a 1/100, um a 1/200 e um a 1/3200; neste último caso, tratava-se de veterinário e criador em São Sebastião do Paraíso, onde grassava a doença nos bovinos. PÉRES declara que a doença animal existia também em Alfenas, donde procedia um de seus casos e onde já haviam sido constatados vários outros, por meio de provas de laboratório.

A respeito da possível influência da brucelose nas afecções otorrinolaringológicas, LIMA (36) publica, em 1945, observações sobre 11 casos de brucelose humana com manifestações rinolaringológicas, a maior parte em pacientes do Rio de Janeiro, tendo sido as provas de sôro-aglutinação e intradérmicas efetuadas por VEIGA, com resultados positivos; também levou em consideração, para a confirmação diagnóstica, a prova terapêutica, ou seja, a melhora apresentada pelos pacientes após a injeção de vacina específica. Resumiremos os casos descritos: Caso 1: Indivíduo de 42 anos de idade, portador de sinusite e que já se submetera a diversas intervenções cirúrgicas; apresentava amigdalite, tosse, insônia, adinamia, anorexia, dor abdominal, prurido cutâneo e hipotermia; reação intradérmica positiva, sendo mais intensa com *Br. abortus* e *Br. suis*; aglutinação positiva a 1/160 com *Br. melitensis* e *Br. suis*

e título de 1/40 com *Br. abortus*. Caso 2: Mulher de 30 anos de idade, com sinusite que já fôra operada várias vezes, dores, nevralgias e disfagia; reações intradérmicas e aglutinante positivas. Caso 3: Homem de 48 anos de idade, apresentando poli-sinusite bilateral que já fôra operado 3 vezes; provas intradérmicas e de aglutinação positivas. Caso 4: Homem de 56 anos de idade, apresentando sinusite crônica e que habitualmente viajava pelo interior do País. Caso 5: Mulher de 38 anos de idade, com sinusite: residia em Uberlândia, estado de Minas Gerais. Caso 6: Mulher de 43 anos de idade, portadora de sinusite, fenômenos gerais e dores articulares. Caso 7: Mulher de 42 anos de idade, com sinusite e fenômenos gerais, inclusive dores articulares. Caso 8: Homem de 52 anos de idade, residente em Goiás, portador de asma e sinusite. Caso 9: Mulher apresentando sinusite e fenômenos de ordem geral. Caso 10: Homem de 54 anos de idade que também viajava muito pelo interior do País. Caso 11: Homem de 32 anos de idade. Todos os pacientes de LIMA melhoraram ou se curaram com o emprêgo de vacina específica.

Sôbre as manifestações oculares da brucelose, FIALHO (25), escreve um trabalho em o qual relata um caso observado em 1945, num homem de 25 anos de idade, vaqueiro numa fazenda em Paraíba do Sul, estado do Rio de Janeiro, e que não só bebia leite cru, habitualmente, como também costumava retirar as placentas de vacas abortadas. Embora o diagnóstico tenha sido feito apenas clinicamente, o caso é bem sugestivo em virtude dos antecedentes. O indivíduo apresentava alterações visuais do olho direito, freqüentes surtos febris, dores na articulação do cotovêlo e nos quadris, ostealgias e mialgias.

PÉRES, ÂNGELO & MALHEIROS (62), apresentam ao 3.º Congresso Brasileiro de Veterinária, reunido em Pôrto Alegre, em 1945, os resultados de suas investigações sôbre brucelose em empregados do Matadouro Modêlo e de duas fábricas de banha, em Belo Horizonte. Encontraram 11 casos positivos pela prova de aglutinação, num total de 168 pessoas e 43 casos pela prova intradérmica, num total de 114 indivíduos. A sôro-aglutinação rápida era considerada positiva ao título de 1/80 ou mais, suspeita até 1/50 e negativa até 1/25. Os resultados mostraram discrepâncias com as duas técnicas, parecendo que o manuseio de material infectado determina o aparecimento de sensibilidade cutânea sem que a taxa de aglutininas alcance os níveis considerados positivos e que, no caso, foram os de 1/80 ou mais. Os resultados que obtiveram foram os seguintes:

Sôro-Aglutinações	Matadouro	Fábrica Perrela	Fábrica Regional	Global
Negativas.....	86 ( 87,8%)	29 ( 83,0%)	30 ( 85,8%)	145 ( 85,4%)
Suspeitas.....	6 ( 6,1%)	3 ( 8,5%)	3 ( 8,5%)	12 ( 7,1%)
Positivas.....	6 ( 6,1%)	3 ( 8,5%)	2 ( 5,7%)	11 ( 6,5%)
Total.....	98 (100,0%)	35 (100,0%)	35 (100,0%)	168 (100,0%)
Provas Intradérmicas				
Negativas.....	47 ( 63,0%)	11 ( 58,0%)	13 ( 65,0%)	71 ( 62,3%)
Positivas.....	28 ( 37,0%)	8 ( 42,0%)	7 ( 35,0%)	43 ( 37,7%)
Total.....	75 (100,0%)	19 (100,0%)	20 (100,0%)	114 (100,0%)

PACHECO & VEIGA descrevem, em 1945 (51), um caso de estomatite brucelosa em mulher de 23 anos de idade, residente no Rio de Janeiro; a estomatite era rebelde e a doente declarava ter apresentado febrícula depois dum parto, gastralgias, aftas bucais, diarreia, vômitos, anemia e emaciação; depois a febrícula surgiu de novo. A hemocultura foi positiva para *Br. suis*, no fim de 12 dias e, paradoxalmente, as provas de aglutinação, opsônica e intradérmica foram negativas. Logo após a prova alérgica para fins diagnósticos, desapareceram as aftas e a paciente curou-se com o tratamento pela vacinoterapia específica.

Nesse mesmo ano, BARROS (5) comenta as possíveis relações entre a brucelose e o aborto habitual, descrevendo 4 casos de sua clínica. O primeiro, observado por VEIGA, era uma paciente de 32 anos de idade que apresentava adinamia, reações alérgicas variadas e tivera dois abortos, sendo o último com febre; a prova intradérmica foi positiva e a sôro-aglutinação elevou-se ao título de 1/100. O caso seguinte foi observado numa argentina de 32 anos de idade, procedente da Província de Santa Fé. Queixava-se de mal-estar, suores noturnos, adinamia, insônia, falta de apetite e já tivera dois abortos; a sôro-aglutinação, praticada ainda em Buenos Aires fôra positiva ao título de 1/100. O terceiro caso foi observado em paciente de 30 anos de idade, que já tivera 2 abortos e um filho a termo; apresentava corrimento amarelado, prurido e cervicite crônica. As provas diagnósticas foram positivas. O último caso, também descrito mais tarde por PACHECO & VEIGA (53) foi observado numa enferma de 26 anos de idade, natural de Mato Grosso; o progenitor da mesma, quando abatia os animais, obrigava os filhos a ingerir o sangue dos bovinos. Já tivera 10 gestações, com 5 natimortos e 2 abortos; apresentava dores lombares, cefaléia contínua, adinamia, mialgias, artralgias, insônia, falta de apetite, náuseas, vômitos, obstipação até 15 dias e anexite direita crônica. Efetuada a prova intradérmica, que foi positiva com acentuação da artralgia do pé direito, a paciente teve os seus padecimentos melhorados, sendo instituído o tratamento vacinal específico; na 15.<sup>a</sup> dose de vacina, todos os sintomas regrediram.

PACHECO & VEIGA (53), em 1946, fazendo considerações sobre a clínica da brucelose, apresentam 4 novos casos, todos observados no Rio de Janeiro, além de um anteriormente descrito por BARROS (5). Caso 1: Mulher de 28 anos de idade que havia 10 anos apresentava sintomatologia variada: dores abdominais difusas, diarreia, dores articulares, náuseas e vômitos; não tinha febre. As provas intradérmicas e de sôro-aglutinação foram positivas, bem como a prova terapêutica pois com 5 doses de vacinas a paciente ficou restabelecida. Caso 2: Homem de 45 anos de idade, também com sintomatologia de 10 anos de duração, artralgias, mialgias, dores lombares, adinamia, sonolência, diarreia e ausência de febre. A prova intradérmica foi positiva para *Br. suis* e a sôro-aglutinação positiva para *Br. melitensis* ao título de 1/160; a prova terapêutica pelo emprêgo da vacina específica, também foi positiva. Caso 3: Mulher de 62 anos de idade com sintomatologia de 15 anos de duração traduzida por dores articulares, dificuldade na marcha, deformação dos membros e paraestesia nas pernas; as provas diagnósticas foram positivas para brucelose, inclusive a de cura, tendo a paciente melhorado no

fim de 5 meses de aplicação da vacina específica. Caso 4: Observado em uma doente de 30 nos de idade que apresentava sinusite, dores fronto-nasais, nevralgias no plexo braquial, nuca e coluna dorsal, disfagia dolorosa, amigdalite e tosse. As provas diagnósticas foram positivas para brucelose, inclusive a de cura, obtendo-se melhoria rápida com 5 meses de tratamento pela vacinoterapia específica.

MOREIRA (42), numa apreciação sobre doenças transmissíveis no Rio Grande do Sul, menciona trabalhos inéditos de SILVA, que verificou 18 casos positivos de brucelose (16,9%) em 106 empregados das secções de matança e de picação, num frigorífico de Gravataí, perto de Pôrto Alegre.

Em trabalhos da série publicada por PACHECO & VEIGA (52, 54) sobre a brucelose como problema médico-social, encontram-se referências a dois novos casos de brucelose humana. Um deles era em paciente do Rio de Janeiro, que apresentava como sintomas sensação de frio, flebite, obstipação e pele fria; a sôro-aglutinação foi negativa mas a intradermo-reação foi francamente positiva com *Br. suis* e menos com as outras duas espécies. O tratamento com vacina específica fez desaparecer a sensação de frio e, depois, a flebite. O outro caso foi observado em um indivíduo que residia no interior e que apresentava eczema nas mãos e lesões distróficas nas unhas; as provas intradérmicas e de aglutinação foram positivas bem como a prova de cura, pois com duas séries de vacina específica os sintomas desapareceram completamente.

Por ocasião da 1.<sup>a</sup> Reunião Interamericana de Brucelose, realizada no México, em setembro de 1946, PACHECO & VEIGA (55) referem que haviam observado 416 casos de brucelose humana, diagnosticados por provas de aglutinação e intradérmica; em alguns também por prova de opsonocitofagia e cultura; a prova curativa específica confirmou a maioria dos diagnósticos feitos. A sintomatologia era variada sendo interessante notar que em 89% dos pacientes não se observava febre. Maiores detalhes sobre êsses casos foram fornecidos posteriormente (56). Descrevem os autores que em 1930 provas sorológicas e cutâneas efetuadas, em pacientes suspeitos clinicamente de brucelose pela presença de um ou mais sintomas imputáveis à doença, 820 foram negativas e 1.110 positivas em uma ou ambas as provas; dêsse último grupo selecionaram 416 como as mais típicas e que foram aquelas em que os pacientes aproveitaram com a vacinoterapia específica ficando melhorados ou curados. Dêsses 416 casos apenas 11,9% apresentavam sintomatologia febril, sendo os outros todos apiréticos. Dos 1.110 pacientes com reações positivas, 87 continuavam em tratamento e os outros restantes não melhoraram ou abandonaram precocemente a terapêutica vacinal ou apenas fizeram as provas diagnósticas; todos êstes não foram computados pelos autores, que apenas consideraram como positivos os 416 referidos acima, grupando os principais sintomas apresentados pelos mesmos, em um gráfico, em que se nota a grande predominância das manifestações nervosas e digestivas.

Em 1947, CAUSEY & AZEVEDO (18), trabalhando no estado do Pará, descrevem suas observações a partir de 1944. O primeiro paciente, ob-

servado em 1944, apresentava estado febril e tinha o diagnóstico clínico de tétano numa das mãos; a bacterioscopia do material retirado da lesão revelou a presença de pequeno germe Gram negativo; o indivíduo era empregado num estábulo na cidade de Belém; a sôro-aglutinação foi positiva ao título de 1/100. Foram examinados, desde então, os empregados em 9 estábulos da cidade, inclusive daquele em que se verificara esse primeiro caso. Consideraram positivos os títulos a 1/25 ou mais, pela técnica de aglutinação rápida, e assim, de 68 indivíduos examinados, encontraram 16 com reação positiva (23,5%), sendo que 6 com título de 1/100 ou mais. Passaram a examinar os empregados nos matadouros de Belém e encontraram 12 com sôro-aglutinação ao título de 1/25 ou mais (13,8%), inclusive 4 a 1/100, num total de 87 indivíduos. Os resultados que obtiveram coincidiam com a existência de brucelose no gado bovino, o que comprovaram no momento. Resolveram verificar se na população em geral, existiam pessoas com reações positivas e aproveitaram para isto os soros que recebiam para reações serológicas de sífilis; em 251 soros examinados, de norte-americanos sediados em Belém, nenhuma reação foi encontrada positiva ao título de 1/100 ou mais (houve uma a 1/50), ao passo que em 250 amostras de soros de brasileiros foi encontrada uma que reagiu positivamente ao título de 1/200 e outra a 1/25.

LACAZ, FAVA NETO & COSTA (31, 32), mencionam a verificação de dois casos de brucelose humana, em São Paulo. Num dêles, a sôro-aglutinação fôra negativa, porém foi isolada de medula óssea uma amostra de *Br. suis*. Noutro caso obtiveram sôro-aglutinação positiva a 1/500 e reação intradérmica positiva.

Uma nova publicação de SILVA (68), no Rio Grande do Sul, focaliza o problema humano e veterinário da brucelose nesse Estado. A partir de 1943, época de seu primeiro trabalho (66, 67) realizou 2.244 aglutinações em soros de pacientes suspeitos de febre tifóide, encontrando 13 positivos a 1/100 ou mais (0,57%), dos quais 6 com dados clínicos completos confirmadores do diagnóstico; de 4 dêstes isolou do sangue *Br. suis*. Em 107 operários dos Frigoríficos Nacionais Sul-Brasileiros, no município de Canoas, encontrou 21 com reações positivas (19,6%), não tendo feito pesquisas no sangue dos empregados nos escritórios. Excluídos os casos observados nos Frigoríficos e aqueles sôbre os quais não possuía história clínica, estudou ao todo 35 casos de brucelose, dos quais 10 apresentavam forma aguda (isolando *Br. suis* de 8 dêstes) e 25 forma crônica. Dos casos agudos, 5 eram trabalhadores de estâncias; outro (de Taquari) recebera uma lingüiça de porco e a ingerira crua; um outro doente, uma senhora idosa, recebera do município de Estrêla certa quantidade de toucinho, parte do qual ingerira crua. Em dois pacientes que apresentavam reto-colite, obteve sôro-aglutinação positiva, num total de 11 com a mesma afecção (18,1%), e de 7 casos de doença de Hodgkin obteve sôro-aglutinações positivas em 2; êstes casos eram de brucelose crônica e não doença de Hodgkin. Os sintomas que motivaram a procura de médico pelos pacientes com brucelose crônica eram os seguintes: "reumatismo e manifestações articulares (2 casos com espondilite), retites, manifestações gangliais (2 casos suspeitos

de Hodgkin), alterações para o lado do aparelho respiratório (1 caso de abscessos múltiplos e recidivantes do pulmão), astenia, temperatura subfebril e manifestações renais". Examinando soros de 8 operários do matadouro de São Gabriel, SILVA não observou nenhuma reação positiva, e paralelamente, ausência de reações positivas nos bovinos desse local.

CUNHA & BIFONE (22) em trabalho apresentado ao 4.<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Veterinária, reunido no Rio de Janeiro, em janeiro de 1948, demonstram a relação existente entre a brucelose e o trabalho em matadouros. Referem as suas pesquisas negativas, realizadas em 1942, em operários do matadouro da Companhia Frigorífica Iguassu, já citadas por HORTA (30). Descrevem minuciosamente a continuação de seu inquérito sobre o assunto, agora entre os trabalhadores do Frigorífico Armour, em São Paulo, iniciado no ano de 1943 e retomado em 1945 e 1946. Fizeram comparações entre os resultados colhidos nos indivíduos e as taxas de aglutininas observadas nos animais abatidos; também compararam as reações em tubos com as rápidas, em lâmina; analisaram as relações entre as tarefas executadas pelo pessoal e o número de casos com aglutininas, em cada grupo de operários; verificaram que aparentemente não existia relação entre o número de indivíduos com aglutininas para brucelas e o tempo de serviço no Frigorífico, a idade, o sexo e a côr; insistiram em que a moléstia deva ser considerada de natureza profissional, ressaltando o perigo que representa para os funcionários da inspeção veterinária, forçados justamente a manusear e a examinar os órgãos lesados, sobretudo os gânglios linfáticos. No inquérito realizado em junho de 1943, de 608 indivíduos, encontraram 65 (10,6%) com aglutininas para brucelas, assim discriminados por tarefa executada:

Secção	Examinados	Com aglutininas
Picção de porcos.....	48	17 (35,4%)
Inspeção Federal.....	19	3 (15,7%)
Matança (bovinos e suínos).....	86	12 (13,9%)
Tripária.....	158	19 (12,0%)
Picção de bois.....	188	13 (6,9%)
Salga (carne suína).....	17	1 (5,8%)
Salamaria.....	35	0 0
Tripas secas.....	23	0 0
Graxaria.....	10	0 0
Carne verde.....	9	0 0
Conserva.....	8	0 0
Currais.....	4	0 0
Charque.....	2	0 0
Oficinas.....	1	0 0
Total.....	608	65 (10,6%)

Nesse quadro computaram, inclusive, os indivíduos que apresentavam aglutininas ao título de 1/25, aliás muito poucos, declarando, nas conclusões, que as aglutinações eram, em muitos casos, de título elevado, "ainda que a simples circunstância de representarem os matadouros um foco de infecção, deva induzir a tornar suspeitos mesmo os

títulos baixos". Em 1945 repetiram as sôro-aglutinações em 33 dêsses 65 trabalhadores, que ainda permaneciam no Frigorífico e quase todos os soros continuavam positivos. Aproveitaram a oportunidade para obter os comemorativos sôbre êsses indivíduos; metade dêles relatava sintomatologia antiga de cefaléia e, principalmente, algias; os outros, que tinham aglutinações muitas vêzes em títulos altos mas de nada se queixavam, êles os consideraram casos de "brucelose insuspeitada, silenciosa, verdadeira infecção latente", prontos a se tornarem casos ativos em determinada ocasião. Finalmente em 1946, CUNHA & BIFONE tiveram oportunidade de examinar ainda 17 dêsses indivíduos, sem que pudessem colhêr outros informes além dos obtidos anteriormente. Nas mesmas ocasiões em que fizeram êsses inquêritos, os autores examinaram os sangues de bovinos e suínos abatidos no Frigorífico, verificando a elevada porcentagem de casos positivos, principalmente entre os suínos, quase todos procedentes do sul do País.

Durante a realização da 5.<sup>a</sup> Jornada Oftalmológica Brasileira, reunida em Campinas, estado de São Paulo, em setembro de 1948, OLIVEIRA (45) tece comentários em tôrno da brucelose e da oftalmologia, e cita comunicações sôbre dois casos ocorridos em Minas Gerais; um, de Pará de Minas, tratado em Belo Horizonte e outro, com sintomatologia variada, característica de brucelose crônica. A seguir, relata 3 casos que teve oportunidade de observar. Caso 1: Homem de 34 anos, lavrador e vaqueiro, residente em Florestal, Pará de Minas, conhecido foco de brucelose bovina e suína. Observado em 1945, apresentava sinais de gripe e astenia, manifestações oculares de irite bilateral recidivante; a sôro-aglutinação realizada por NORONHA PÉRES, foi positiva ao título de 1/80; a reação intradérmica, feita com brucelergeno, bem como a prova de Mantoux, foram positivas; o paciente mudou-se do local e por isso não foi tratado. Caso 2: Mulher de 46 anos de idade, enfermeira, residindo no Rio de Janeiro, tendo adquirido a doença em Belém do Pará, onde havia bovinos com brucelose; apresentava sintomatologia geral de febre, cefaléia, algias, etc. e, principalmente, irritabilidade nervosa. Havendo suspeita de tumor na medula, fôra internada em serviço de neurologia. A intradermo-reação, feita por VEIGA, foi positiva, assim como a sôro-aglutinação que se elevou ao título de 1/640 com *Br. abortus*, 1/160 com *Er. suis* e 1/40 com *Br. melitensis*. O tratamento inicial com vacinas, instituído por VEIGA, não a melhorou e a cada injeção sentia agravarem-se os sintomas. Ao ser examinada em Belo Horizonte, em 1947, foi diagnosticada uveíte serosa e, voltando ao Rio de Janeiro, retomou o tratamento com vacina específica, melhorando pouco a pouco, depois de uma hemoptise. Caso 3: Neste caso, acompanhado inicialmente por PRATES, que verificara a presença de espondilite brucelosa, OLIVEIRA verificou, em 1948, importantes alterações do aparelho ocular: blefaro-conjuntivite crônica e descoramento da papila do olho direito, tendo em tôrno áreas de atrofia do epitélio pigmentar, lembrando estase papilar antiga; flocos flutuantes no vítreo e grande retração concêntrica nesse olho. O indivíduo era um vaqueiro de 38 anos de idade, pertencente à Colônia Agrícola de Neves, em Belo Horizonte e exercia a profissão desde criança; julgava ter adquirido a doença em Caratinga, onde

residira anteriormente. A sôro-aglutinação foi positiva ao título de 1/640 com *Br. abortus* e a prova intradérmica também foi positiva.

Durante a discussão dêsse trabalho, JONAS ARRUDA diz ter observado casos com provas positivas mas sem resultado com a terapêutica. Sugere que na 2.<sup>a</sup> conclusão do relator que diz "Incluir a pesquisa da brucelose em tôdas as lesões crônicas inflamatórias da córnea, úvea e retina, depois de afastadas as causas habituais", seja esta pesquisa feita concomitantemente. E na mesma conclusão "Para se admitir a etiologia brucélica é necessário que pelo menos duas provas de laboratório sejam positivas" que se acrescenta "e repetidas".

Um interessante caso de brucelose pulmonar cavitária foi descrito por FERNANDES, MUNIZ & MENDES (24), em 1948, no Rio de Janeiro. Tratava-se de paciente de 30 anos de idade, que 4 anos antes, apresentara febre vespertal não muito elevada, tosse, dores torácicas e hemoptise; os exames de escarro foram repetidamente negativos para bacilo tuberculoso porém mesmo assim foi iniciado o tratamento com sais de ouro e pneumotórax, tendo em vista a caverna que apresentava ao exame radiológico. A colapsoterapia foi abandonada no fim de 4 meses porque os exames de escarro (microscopia, cultura e inoculação) continuaram negativos para bacilo tuberculoso e porque o doente não melhorava. As radiografias tomadas após o abandono do pneumotórax revelaram a persistência da lesão escavada, com rápido aumento da imagem cavitária. As provas de aglutinação e intradérmicas, feitas por VEIGA, foram positivas para brucelose e o tratamento com a vacina específica (37 injeções ao todo), fêz regredir rapidamente a sintomatologia geral, normalizando-se a temperatura e desaparecendo os fenômenos congestivos pulmonares; a radiografia tomada após êsse tratamento revelou que a imagem cavitária desaparecera completamente. Os autores salientam a importância da observação pela similitude com tuberculose, tendo sido levantada a suspeita de brucelose apenas pela absoluta ineficácia da terapêutica antituberculosa instituída. O enfêrmo observado posteriormente, apresentava-se curado.

Nos Arquivos de Higiene e Saúde Pública de São Paulo, publicados em 1948, CRUZ & LEMOS JR. (21A) relataram as pesquisas que fizeram no interior do Estado, revendo o arquivo do Serviço de Contrôlo do Saneamento da Divisão do Serviço do Interior, do Departamento de Saúde. Algumas das observações registradas desde 1940, já haviam sido publicadas em trabalhos de diversos autores. As experiências mais detalhadas foram feitas em 1947, em São Manuel. Trabalharam com brucelergeno para provas intradérmicas e com sôro-aglutinações. No município de São Manuel reexaminaram 5 casos humanos observados de 1941 a 1947; cada um é descrito em detalhes; 3 dêles foram observados por GENTIL PACHECO, 1 por ÁLVARO MILLER e outro por LUÍS PERES. Os autores pesquisaram, ainda, em 10 trabalhadores no Matadouro de São Manuel; das 10 intradermo-reações feitas, 3 foram consideradas positivas; todos os pacientes negavam contacto com animal que, do seu conhecimento, houvesse sofrido de abôrto. O trabalho conclui pela afirmação da existência de brucelose em São Manuel.

Em março de 1949, durante o Congresso Médico Comemorativo do Cinquentenário da Faculdade de Medicina de Pôrto Alegre, PEREIRA FILHO (59) apresentou um trabalho sôbre diagnóstico e tratamento da brucelose, em o qual menciona 4 novos casos por êle observados, com hemoculturas positivas para brucelas e que se curaram com o emprêgo de vacinas, endoproteínas das brucelas ou medicação inespecífica. Êsse trabalho é importante pela soma de dados que apresenta sôbre a doença e o seu diagnóstico. É interessante notar que num dos casos, embora a sôro-aglutinação fôsse negativa, isolou-se *Br. suis* do sangue do paciente.

Nesse mesmo Congresso, SILVA (69) sugere bases e plano de combate à brucelose no Rio Grande do Sul, justificando-os com a apresentação dum resumo sôbre o que já se conhecia do assunto no Estado, e referindo as observações inéditas de ARRUDA que, no Frigorífico Armour, município de Livramento, encontrou 6% de reagentes num total de 450 trabalhadores examinados. Também cita que em 3.966 amostras de sangue recebidas de todo o Estado, de pacientes suspeitos de febre tifóide, a partir de 1943, só pudera estabelecer o diagnóstico de brucelose por sôro-aglutinação, isolamento do germe e informes clínicos, em 23 dêles.

FERNANDES (23-A), no Rio de Janeiro, descreve 3 novos casos de brucelose com localização pulmonar, ressaltando que todos os pacientes residiam na zona urbana da Capital, sem terem tido contacto com animais ou pessoas doentes de brucelose. Em todos, a moléstia teve início sem febre e foram observados escarros hemoptóicos. Caso 1: Mulher de 28 anos de idade, residindo, havia 10 anos, na zona urbana do Distrito Federal; 4 anos antes de ser examinada, apresentou manifestações diversas e escarros hemoptóicos; radiografia do pulmão revelou lesões granulosas bilaterais com infiltração do ápice esquerdo; bronquite crônica demonstrada pela auscultação; os exames de escarros (microscopia, cultura e inoculação) foram repetidamente negativos. Persistindo os escarros hemoptóicos, foi instituído o pneumotórax bilateral, depois abandonado em face de reações positivas para brucelose (sôro-aglutinação e prova intradérmica); seguiu-se o tratamento com vacinas. Caso 2: Homem de 32 anos de idade residente na zona urbana da Capital; 4 anos antes, apresentara tosse com expectoração sanguinolenta; a radiografia revelou forte espessamento hilar esquerdo. Instituído o tratamento pelo pneumotórax, observou aderência pleural que foi corrigida cirurgicamente. Depois de 3 anos de tratamento, foi dado como curado clinicamente, abandonando-se o pneumotórax; com isso as lesões se reativaram. As provas diagnósticas feitas então, foram positivas para brucelose. Caso 3: Êste caso foi considerado apenas suspeito; tratava-se de uma mulher de 60 anos de idade, que sempre vivera na zona urbana do Rio de Janeiro, salvo 2 ou 3 veraneios em estações de águas. Quatro anos antes de ser examinada, apresentou escarros hemoptóicos; a radiografia revelou lesões de tipo nodular fibroso difuso, em ambos os campos pulmonares. As provas de laboratório para lues e blastomicose foram negativas, bem como a sôro-aglutinação para brucelose. No entanto, a intradermo-reação foi positiva, daí a suspeição levantada.

COSTA (21), nos anos de 1946 e 1948, realizou em Alagoas e Paraíba, respectivamente, provas para diagnósticos de brucelose. Em Maceió (Alagoas), em 300 soros recebidos pelo Centro de Saúde, para reação de Wassermann, encontrou 34 casos (11,33%) aglutinando brucelas ao título de 1/80 ou mais, pela prova lenta. Em João Pessoa (Paraíba), em 8 magarefes do Matadouro Municipal, as reações de aglutinação foram tôdas positivas (100%) aos títulos de 1/80 ou mais, enquanto apenas 6 dêesses indivíduos (75%) apresentavam reações intradérmicas positivas. Alguns dos magarefes descreviam sintomatologia vaga de reumatismo, dores, etc. No Matadouro Municipal de Campina Grande (Paraíba), COSTA realizou a prova intradérmica em 13 magarefes e 9 dêes (69,23%) reagiram positivamente; também alguns dêesses pacientes relatavam sentir, de vez em quando, manifestações reumáticas e dolorosas.

Em Pernambuco, dois trabalhos, de MEDEIROS (40-B) e de AZEVEDO (3-A), revelam a existência de brucelose humana em Recife, sendo um dos casos de meningite brucelosa, com isolamento de *Br. abortus* do líquido.

PACHECO (49), no 3.º Congresso Médico do Estado do Rio de Janeiro, realizado em setembro de 1949, descreve detalhadamente dois casos de brucelose pulmonar e refere outros dois. Caso 1: Mulher de 22 anos de idade que, um ano antes de ser examinada pelo autor, sofrera traumatismo no tórax, devido a uma queda; uma semana depois disto, apresentou dores locais, tosse e expectoração escassa; dias depois, febre. Fêz radiografia que revelou foco limitado no pulmão direito; o exame de escarro evidenciou a presença de bacilo ácido-resistente. Em virtude disso, iniciou o tratamento clássico de tuberculose, inclusive pneumotórax, durante 5 meses. Nova bacterioscopia do escarro mostrou a presença de bacilos ácido-resistentes; continuou a colapsoterapia por mais alguns meses, sem resultados satisfatórios. PACHECO observou a enferma depois de internamento em dois sanatórios; a radiografia mostrava processo infiltrativo difuso justa hilar e um foco na parte média do pulmão direito, tomado por uma caverna. Foi feito novo exame de escarro; as inoculações e a microscopia foram negativas; na sementeira de material do lavado gástrico (a enferma pouco tossia e não escarrava), desenvolveu-se bacilo ácido-resistente não patogênico e seguramente não tuberculoso. Numa segunda cultura, em vez de usar-se soda N/1 para homogeneização do material, foi usada soda N/10 e então, ao fim de 12 dias, cresceram colônias pequenas e escuras, dum germe identificado posteriormente à *Br. abortus*. A temperatura da doente era oscilante porém baixa, com tendência a subnormal, por vêzes. A soro-aglutinação praticada antes das provas alérgicas, foi positiva a 1/320 com *Br. abortus* e negativa com *Br. suis* e *Br. melitensis*. As reações intradérmicas foram positivas com filtrado envelhecido do bacilo ácido-resistente isolado, com tuberculina e com *Br. abortus*; negativas com *Br. melitensis* e *Br. suis*. O tratamento, feito de acôrdo com o tisiologista, consistiu, desde então, em pneumotórax e vacinoterapia específica; a paciente melhorou rapidamente, desaparecendo a febrícula. Casos 2 e 3: Os indivíduos eram irmãos da enferma do caso 1, também residentes em Petrópolis. Um dêes apresentava dor cervical persistente, que re-

sistia a todos os tratamentos e que desapareceu após a vacinoterapia específica. O outro, apresentava sinais de prostatite crônica. Ambos tiveram reações positivas às provas intradérmicas e de soro-aglutinação para *Br. abortus*. Esses pacientes dos casos 1, 2 e 3 usavam leite cru, de vaca, procedente de uma fazenda própria, em zona com animais contaminados.

O quarto caso de PACHECO referia-se a uma enferma de 30 anos de idade, observada no Rio de Janeiro, que adoeceu em julho de 1947, apresentando indisposição, tosse com escarros hemoptóicos e ligeira febre; depois, emagrecimento. A radiografia revelou lesão suspeita de tuberculose no pulmão direito. Continuou a perder peso e tinha febrícula vespertal de 37,5° a 37,8°C, palidez, astenia, inapetência e suores noturnos. Os repetidos exames de escarros e de lavado gástrico foram sempre negativos, pelo exame direto e pela inoculação. Ao exame, acusava dores no peito e tosse seca, sem expectoração. Pela radiografia, foi feito o diagnóstico de tuberculose ulcerativa no pulmão direito. Mais tarde, realizadas provas diagnósticas para brucelose, foi observada soro-aglutinação positiva para *Br. abortus* ao título de 1/640 e prova intradérmica também positiva, com hiperemia de 3 cm de diâmetro. A enferma foi dada como curada após 3 meses de tratamento específico, exclusivamente, tendo recuperado o peso; também desapareceu por completo a tosse que, de resto, pouco lhe incomodava.

No mesmo Congresso Médico em Petrópolis, GOUVÊA (28) relata ter observado em sua clínica, 136 casos de brucelose crônica, utilizando como critério diagnóstico a soro-aglutinação lenta, ao título de 1/80 ou acima, a prova intradérmica e a prova terapêutica. Seus pacientes foram agrupados da seguinte forma, quanto aos resultados obtidos com as duas primeiras provas:

	<i>Aglutinação</i>	<i>Prova intradérmica</i>
Positivos .....	88 (65%)	110 (80%)
Negativos .....	34 (25%)	15 (11%)
Duvidosos .....	14 (10%)	11 (9%)

Para mostrar o caráter proteiforme da doença, GOUVÊA descreve a sintomatologia apresentada por 6 de seus pacientes. Caso 1: Indivíduo de 39 anos de idade; residiu durante 20 anos em zona rural; queixa-se de dores precordiais, perturbações da sensibilidade cutânea. Reação intradérmica positiva com as três espécies de brucelas; aglutinação a 1/320 com *Br. abortus*, 1/160 com *Br. melitensis* e *Br. suis*. Cura com vacina específica. Caso 2: Doente de 32 anos de idade; pansinusite e labirintite; um ano com tonteadas, às vezes caindo na rua; abatimento. Reação intradérmica fortemente positiva com *Br. abortus* e *Br. melitensis*; aglutinação ao título de 1/320 com *Br. abortus* e 1/160 com *Br. suis*. Melhorou com o emprêgo de vacina, desaparecendo a síndrome vestibular. Caso 3: Médico; ingerira leite cru, num estância hidro-mineral e logo depois sentira adinamia e nevralgia do plexo braquial direito. Reação intradérmica fortemente positiva com *Br. abortus*; aglutinação a 1/80 para essa espécie. Cura com vacina específica. Caso 4: Mulher de 41 anos de idade. Crises periódicas de eritema da face e da

vulva; freqüentes perturbações intestinais, com diarreia; costumava ordenhar cabras de sua propriedade. Sôro-aglutinação ao título de 1/800. Foram obtidos bons resultados com a terapêutica vacinal. Caso 5: Paciente de 39 anos de idade; havia muitos anos apresentava crises típicas de enxaqueca. Reação intradérmica fortemente positiva e aglutinação ao título de 1/320 com *Br. abortus*. Não fez tratamento. Caso 6: Menina de 13 anos de idade, natural do interior do estado do Rio Grande do Sul; durante 2 anos apresentava eczema flexural em ambas as pregas do cotovêlo. Reação positiva com *Br. abortus* à prova intradérmica e ao título de 1/80 na sôro-aglutinação desta mesma espécie. Bons resultados com a terapêutica vacinal específica. O autor cita casos com lesões ósteo-articulares, principalmente da coluna vertebral.

Na cidade de Pedra Azul, na região norte do estado de Minas Gerais, PORTELA (63) efetuou, a partir de 1948, uma série de sôro-aglutinações em pacientes que apresentavam sintomatologia variada, suspeitos de brucelose; encontrou grande número de reações positivas, algumas em títulos elevados. Os soros de 63 pacientes foram reexaminados por nós utilizando a técnica de reação lenta, com as 3 amostras de brucelas isoladamente. Considerando positivos apenas aqueles que aglutinaram brucelas ao título de 1/160 ou mais, encontramos 41 positivos (65,0%), havendo mais 6 (9,5%) que aglutinavam ao título de 1/80 uma ou outra amostra de brucela. Num dos pacientes foi praticada a esternomiocultura por ABDON HERMETO (29), em Belo Horizonte, isolando-se uma amostra de brucela que identificamos à *Br. suis*, pelas provas da cromobacteriostase e da urease.

ARAÚJO (2 A), em 1950, descreve dois casos de brucelose, observados em Ipaucu, estado de São Paulo. Podem ser levantadas dúvidas quanto à exatidão do diagnóstico por não serem fornecidos maiores detalhes sobre o critério do mesmo (1.º caso: "reação de Widal": "brucelose tipo melitense"; 2.º caso: "reação de Widal confirmou o diagnóstico") como também, e principalmente, pelos bons resultados obtidos com penicilina, sabendo-se que este antibiótico é ineficaz na brucelose. Contudo, os antecedentes e a sintomatologia são sugestivos da infecção.

PACHECO (49 A) descreve um caso de brucelose cutânea com manifestações que lhe permitiram rotular a doença como escrófula brucelosa. O trabalho é acompanhado de fotografias das lesões e dos achados anátomo-patológicos. As primeiras eram inicialmente nodulares, na região do pescoço, ulcerando-se em seguida; também havia lesões nos antebraços, caracterizadas por erupção vesicular. A sôro-aglutinação e a prova intradérmica positivas foram o critério diagnóstico. Melhoras nítidas e cura com vacina específica.

No interior de Minas Gerais, FURTADO (26 A) observou uma enfêrma que contraíra a doença em Paraisópolis, em 1943. Passou por uma série de tratamentos, sem diagnóstico adequado até que em 1949 obtiveram-se sôro-aglutinação e prova intradérmica positivas, ao lado de hemocultura negativa. Tratamento com aureomicina mal tolerado. Cura com vacinoterapia durante 15 meses.

BERTOLLI (9 A), no estado do Paraná, em 1952, resume os primeiros resultados dum inquérito, em larga escala, empreendido com a co-

laboração de diversos médicos e laboratoristas do Estado. Foram feitas provas de sôro-aglutinação em soros de pessoas que tinham contacto direto com animais, de funcionários da Usina de pasteurização do leite de Curitiba, de funcionários do Matadouro Municipal de Curitiba, de granjeiros de diversas fazendas que fornecem leite a Curitiba e de empregados do Frigorífico Wilson S.A., em Ponta Grossa. Em síntese, seus resultados foram os seguintes:

Procedência da amostra de sôro	Número total de indivíduos	Número de pessoas examinadas	Resultados positivos	
			N.º	%
<i>Curitiba</i>				
Leiteiros.....	311	145	14	9,66
Matadouro.....	84	84	7	8,35
<i>Ponta Grossa</i>				
Frigorífico.....	300	145	31	20,13

Interessante trabalho sôbre o diagnóstico da brucelose humana é o de NOGUEIRA JR. (44 A), também publicado em 1952. Depois duma revisão dos principais aspectos da clínica da doença, apresenta 10 casos, alguns já referidos em trabalho de GOUVÊA (28) ou acompanhados por êste, antes. O critério diagnóstico foi, em geral, positividade às provas intradérmicas e de sôro-aglutinação. Melhora ou cura clínica por meio de vacina.

Em trabalho posterior, GOUVÊA (28 A) apresentou ao 4.º Congresso Médico do Estado do Rio de Janeiro, em outubro de 1952, mais 25 casos de localizações vertebrais na brucelose crônica; cada um dêles é descrito resumidamente, sendo o critério diagnóstico geralmente a sôro-aglutinação ou a prova intradérmica. Em todos existiam lesões ósseas ou das partes moles da coluna, constatadas radiologicamente.

Nm inquérito efetuado entre candidatos a doadores de sangue, PACHECO (49 B) observou provas de sôro-aglutinação positivas em indivíduos aparentemente saudáveis. Num total de 1.218 soros verificou 5,23% de resultados positivos.

SCHLÖGEL (64 A) publica, em 1953, os resultados dum inquérito que efetuou em soros de indivíduos residentes em diversos pontos do estado do Paraná (soldados recém-incorporados), bem como de pessoas moradoras na capital do Estado. Utilizou a prova rápida, em placa. Seus resultados mostraram 15 provas positivas, apenas, aos títulos de 1/100 ou mais:

Procedência	Grupos de indivíduos	Total de amostras	Títulos das aglutinações				
			1/25	1/50	1/100	1/200	1/400
Curitiba.....	Homens	295	2	4	1	—	—
	Mulheres	325	4	3	4	1	—
	Leiteiros	22	—	—	3	—	—
Diversos Municípios.....	Soldados	874	2	2	3	2	1
Total.....		1 515	8	9	11	3	1

Contrastando com a baixa positividade verificada no trabalho acima referido, o inquérito procedido por POLENGHI & Cols. (62 A) revelou incidência bem maior, num total de 2.464 amostras de soros procedentes de 10 municípios paranaenses. Foi realizada a prova lenta, em tubos, nas diluições de 1/25, 1/50, 1/100 e assim sucessivamente. Os autores não discriminam qual o título que consideraram positivo. O trabalho é bastante detalhado em alguns pontos, e foi planejado com o fim de revelar aspectos epidemiológicos, principalmente a profissão. Das 2.464 amostras de sôro aproveitadas para exame, 338 eram positivas: só para *Br. abortus* (203), para *Br. suis* (64) ou para ambas (71); havia ainda diversas provas suspeitas. Uma das numerosas tabelas, resumida, mostra a seguinte distribuição:

Municípios	Positivos ou positivos-suspeitos	%
Curitiba.....	70	17,67
Ponta Grossa.....	106	18,37
Jaguariaíva.....	118	32,96
Jacarezinho.....	18	34,61
Guarapuava.....	4	28,57
Castro.....	34	15,81
Palmeira.....	19	8,09
Ipiranga.....	8	6,35
Piraí do Sul.....	104	19,26
Imbituva.....	9	11,11

No mesmo ano, outro inquérito em larga escala foi efetuado em São Paulo, por AMARAL & Cols. (1 A). Revelando dados não publicados, dizem que PENHA e D'APICE, do Instituto Biológico de São Paulo demonstraram que os rebanhos paulistas "se apresentam pesadamente infectados, não sendo rara a incidência de 100%. Não só o gado vacum, mas também o suíno, de acôrdo com os dados de D'APICE, apresentam índices de infecção igualmente elevados". Tais afirmações, ao lado de provarem a inoperância das medidas de profilaxia da brucelose animal até então executadas em São Paulo, estão a mostrar que a incidência da brucelose humana deve ser bem elevada nesse Estado. Apesar disso, AMARAL & Cols. chegam, estatisticamente, à conclusão de que, a bem dizer, não existe brucelose humana em São Paulo. Seria a primeira vez que a infecção em larga escala das populações animais não se acompanhasse de grande número de casos humanos. Quanto à presença da brucelose animal, nesse Estado em índices quase alarmantes, não há dúvida. Nós mesmos cooperamos, em 1953 e 1954, com o Instituto Biológico de São Paulo, no levantamento da incidência da brucelose nos rebanhos leiteiros, tendo sido verificado que mais de 1/3 do total dos rebanhos encontrava-se infectado.

AMARAL & Cols. examinaram 13.177 soros enviados ao Instituto Adolfo Lutz pelos vários Centros de Saúde do Estado, Hospital das Clínicas da Universidade, Serviço do prof. João Alves Meira e pelo Hospital Emílio Ribas. A triagem dos soros era feita por meio de reação rápida, com antígeno corado pela técnica de Castañeda e acertado para dar provas positivas com soros de títulos a partir de 1/10; os soros que

se apresentavam positivos a essa prova inicial eram titulados por meio da prova lenta, em tubos, considerando positivo o resultado a 1/100 ou maior. Em resumo, os resultados gerais foram os seguintes:

Grupo	Reações positivas 1/100 ou mais		
	Total de reações	Número	%
Soros de doentes com diagnóstico clínico de brucelose.....	17	6	3,53
Soros de doentes com diagnóstico clínico de moléstia infecciosa, excluída a brucelose.....	1 825	14	0,77
Soros recebidos para diagnóstico de lues ou de indivíduos normais (doadores de sangue).....	11 152	3	0,03
Soros de empregados em matadouro.....	30	1	3,33

Como pode ser visto, é de causar surpresa que dentre 11.152 pessoas escolhidas ao acaso, numa população, apenas 3 revelassem provas positivas ao títulos de 1/100 ou superiores; ao mesmo tempo, "considerando-se agora as reações positivas em título inferior a 1/100", em 11.149 soros recebidos para diagnóstico de lues ou de indivíduos normais (doadores de sangue), excluídos desse número os 3 anteriormente vistos positivos, foi observada aglutinação apenas em 34 (0,30%). Os próprios autores estranham o número pequeno encontrado mas concluem dizendo: "Diante desses resultados, julgamos não ser a brucelose moléstia tão freqüente como se supõe".

Do sangue de um dos indivíduos cujo soro dera reação considerada positiva (título não especificado), foi isolada *Br. suis*.

Ainda em 1953, BERTOLLI descreve 2 casos de brucelose humana em Curitiba; um, procedia de Siqueira Campos e outro, de Porecatu, no Paraná; ambos diagnosticados por soro-aglutinação; relatavam contactos com animais.

PACHECO (49 C) em 1954, descreve 1 caso de brucelose com manifestações cutâneas semelhantes às de pênfigo bolhoso. Diversos tratamentos foram instituídos sem resultado; soro-aglutinação e prova intradérmica positivas. O tratamento com vacina antibrucelosa fez com que desaparecessem as lesões de pênfigo e outras apresentadas pelo paciente.

LACAZ & Cols. (30 A) procedem a um inquérito entre doadores de sangue, em São Paulo, chegando a conclusões semelhantes às de AMARAL & Cols., isto é, da *quase inexistência* de brucelose nessa Capital, apesar da grande incidência de bovinos infetados em todo o Estado.

RUY MARQUES (40 A), em Pernambuco, descreve novos casos de brucelose humana, revelando que nos laboratórios dos professores Mário Ramos e Luís Siqueira Carneiro tinham sido constatados casos positivos para brucelose. Num de seus pacientes as provas aglutinante e intradérmica foram positivas e o tratamento foi bem sucedido com aureomicina. Em outro enfermo, a prova aglutinante foi positiva porém a in-

tradérmica, negativa; resultados a princípio bons com aureomicina mas sobreveio recidiva. MARQUES refere a porcentagem elevada de animais reagentes às provas de aglutinação procedidas pelo prof. LUIS DE MELO AMORIM: de 774 exames, 110 positivos e 113 suspeitos.

## BIBLIOGRAFIA

- ABONDANO, A.  
1934. Em Escobar.
- ACOSTA, L. & BIRAN, O.  
1952. Informação pessoal.
- ALESSANDRINI, A. & DOMINICI, D.  
1936. Ann. d'Igiene, 46(3):97-113.
- ALIVISATOS, G. P.  
1953. WHO/Bruc. Inform. Series, Aug., n.º 99.
- ARATA, P. & CARRERAS, A. M.  
1946. Bol. Dep. Hig., 5. Em separata.
- BALLANTYNE, E. E.  
1951. Can. J. Comp. Med., 15(5):101-107.
- BEATTIE, C. P. & Cols.  
1939. Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg., 33(2):173-182.
- BELGRANO, C. R.  
1948. La Semana Medica, 55(2822):245-255.  
1948. Rev. Med. Ciencias Afines, 10(5):210-219.
- BERMÚDEZ, M.  
1949. Rev. San. Hig. Públ., 23(11-12):917-924.
- BLAWAT, F.  
1953. Bull. Inst. Mar. Trop., Polonia. Res. Rev. Vet. Mil., Bs. Aires, 1955, 3(10):393.
- BOETTNER, C. R. & CANESE, A.  
1951. Bol. Ofic. Sanit. Pan Amer., 31:234-241.
- BRAMBILA, E. C.  
1935. Em Castañeda.
- BRICEÑO-ROSSI, A. L. & IRAGORRY, L. B.  
1949. Rev. San. Asist. Social, 14(5-6):717-730.
- CARRÈRE, L. & RENOX, G.  
1950. Bull. Acad. Med., 134:620-621.
- CARBAJAL, A. J.  
1906. Em Silva.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucellosis. Mexico: 253 págs.
- CERVERA, S.  
1925. Em Castañeda.
- CRISCUOLO, E.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc. México, 1946:33-41.

- CRUZ, F. M. DE LA  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc. México, 1946:113-121.
- CURBELO, A.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946:87-112.
- D'ANTUONO, G.  
1953. L'Igiene Moderna, 46(5-6):257-274.
- DALRYMPLE-CHAMPNEYS, W.  
1935. Lancet, 2:1449-1453.
- DERRICK, E. H. & BROWN, H. E.  
1950. Med. J. Austr., 709-715.
- DHANDA, M. R. & RAJAGOPALAN, V. R.  
1949. Ind. Vet. J., 26(1). Em separata.
- DOMINGO, P.  
1941. Em Curbelo.
- DUTHIE, R. C.  
1950. Can. J. Comp. Med., 14(3):87.
- ESCOBAR, J. J.  
1947. Bol. Clim., Fac. Med. Univ. Antioquia, 9(3):94-105.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 69-79.
- EVANS, A. C.  
1934. J. A. M. A., 103:665-667.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 131-142.
- FONSECA, T. P.  
1939. Em Rubino & Cols.
- FRANK, J. F.  
1950. Can. J. Comp. Med., 14(3):83-85.
- GARZA, A. A. DE LA  
1947. Salubridad y Asist., 7(6):611-633.
- GENTRY, E. R. & FERENBAUGH, T. L.  
1911. J. A. M. A., 57:889-891.
- GOLEM, S. B.  
1949. Rev. Turque Hyg. Biol. Exper., 9(3):63-86.
- GRAY, J. D. A.  
1933. Em Harris.
- GUERRA, G. S.  
1945. Ref. Méd. : 661. Em Bol. Ofic. San. Panam., 1947, 26(1):69.
- HIDALGO, F.  
1936. Em Curbelo.
- HIROKI, H.  
1938. Z. Immun. 92:382-391.
- HORMAECHE, E. & LOCKHART, G. P.  
1934. Em Rubino & Cols.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed. New York: 379 págs.

- HULSE, E. C.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 84.
- Institut Scientifique d'Etat de Tachkent (Turkestan)  
1935. Em "Arch. Intern. Brucelloses", 1938, 1(1):33-35.
- JORDAN, C. F.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 98-115.
- JURADO, F. R. & Cols.  
1948. Em Pacheco.  
1948. Segundo Congresso Interamer. Bruc., Bs. Aires. Mem. não publicadas.
- KAPLAN, M. M.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Aug., n.º 5. rev. 1.  
1950. Third Interamer. Congr. Bruc., Washington, Nov.: 6-14.
- KRISTENSEN, M.  
1951. Acta Path. Microb. Scand., 30(2):125-148.
- LAKE, G. C.  
1922. Em Jordan.
- LEON, A. P.  
1937. Em Castañeda.
- LEVINE, N. D. & GRAHAM, R.  
1950. J. Amer. Vet. Med. Ass., 116(879):443-446.
- LISBONNE, M.  
1946. Le Lait, 26(251-253):21-25.
- LIPPI, M.  
1949. Arch. Ital. Sci. Med. Col. Parass., 30(9-10):143-163.
- MARIOTTE, C. O.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946:169-185.
- MAUBECIN, R. A. & MORAN, B. L.  
1952. Brucelosis caprina en la provincia de Cordoba. Min. Agric. Ganad.,  
Direccion de Zoonosis: 10 págs.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325.
- MENENDEZ, P. & Cols.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 235-240.
- MOHAN, R. N.  
1948. Em Dhanda & Rajagopalan.
- MOLINELLI, E. A.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 17-32.
- MOLINELLI, E. A. & Cols.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 43-61.  
1951. Prensa Medica Arg., 38(16):947-954.
- MOORE, T.  
1950. Can. J. Comp. Med., 14(3):86.
- MORALES-OTERO, P.  
1930. Porto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 6(1):3-88.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico, San Juan: 173 págs.

- MORÁN, B. L.  
1948. 2.º Congr. Interamer. Bruc., Buenos Aires. Mem. não publicadas.
- MOYNIHAN, I. W.  
1950. Can. J. Comp. Med., 14(3):88-89.
- OLIN, G.  
1935. Em Huddleson.
- PACHECO, G.  
1949. Rev. Bras. Med., 6(4):282-284.
- PATIÑO-CAMARGO, L.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 81-85.
- PLACERES, A.  
1922. Em Castañeda.
- POMALES-LEBRÓN, A.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 9-16.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- PORTILLO, L.  
1939. Em Castañeda.
- PORTUGAL  
1909. Em Silva.
- ROSSI, F. A. & CEDRO, V. C. F.  
1950. Gac. Vet., n.º 59. Em separata.
- RUBINO, M. C. & Cols.  
1945. Acción Sindical, 7(1):13. Em Szyfres & Cols.
- SAN AGUSTIN, F.  
1949. Phil. J. Animal Ind., 10(3):241-246.
- SCOTT, J. W.  
1947. Canad. Med. Assoc. J., 56:414-417.
- SIGNORELLI, S.  
1941. L'Infezione Brucellare nell'Uomo. Napoli: 327 págs.
- SILVA, R.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 1-8.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med., 4:238-259.
- SPADARO, O.  
1944. Boll. Soc. Ital. Ig. Trop., 4:189-201.
- STILES, G. W.  
1945. Em Jordan.
- STOENER, H. G.  
1951. J. Am. Vet. Med. Ass., 108(887):101-102.
- STOENER, H. C. & Cols.  
1949. J. Inf. Dis., 85:213-224.
- SZYFRES, B. & Cols.  
1947. Primer Congr. Nac. Bruc., Diciembre, Montevideo: 82-85.



- TORRES, M.  
1941. Em Castañeda.
- VARELA, G.  
1924. Em Castañeda.
- VERGARA, M.  
1921. Em Silva.
- VILLEGAS, G.  
1937. Em Castañeda.
- ZIA, S. H. & WANG, F. L.  
1949. Amer. J. Trop. Med., 29(6):925-936.
- ZAMORA  
1917. Em Silva.

*Brasil*

- 1 — ABEN-ATHAR, J.  
1926. Sci. Medica, 4(1):19-27.
- 1A — AMARAL, J. P.; TAUNAY, A. DE E.; NOVAES, J. R. C.; PLANET, N. & ESTEVES, M. B.  
1953. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 13 (n.º único): 169-186.
- 2 — ANTUNES, A. & CARNEIRO, V.  
1933. Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 3(5-6):107-119.
- 2A — ARAÚJO, P.  
1950. Rev. Paul. Med., 37(6):543-546.
- 3 — ASSIS, A. DE  
1936. Hospital, 8, 2(7):677-686.
- 3A — AZEVEDO, R.  
1949. Arq. Med. Cir. Pernambuco, I, 4:359-364.
- 4 — AZEVEDO, P. DE  
1917. Arch. Bras. Med., 7:93-99.  
1918. Arch. de Biol., 2(22-23):375-379.
- 5 — BARROS, M. Q. DE  
1945. Rev. Gin. Obst., 39, 2(5):212-228.
- 6 — BARROS, O. M. DE  
1937. Rev. Clin. S. Paulo, 1(1):24-42.
- 7 — BARROS, O. M. DE & GIANONI, G.  
1933. Ann. Paul. Med. Cir., 26(2):125-126.
- 8 — BARROS, O. M. DE & GIANONI, G.  
1933. Bol. Soc. Med. Cir. São Paulo, 17(5-7):79-81.
- 9 — BARROS, O. M. DE; VASCONCELOS, F. & ROSENFELD, G.  
1941. Arq. Cir. Clín. Exp., 5(Jun.-Ago.):299-310.
- 9A — BERTOLLI, B.  
1952. Rev. Dep. Saúde Paraná, 2(2):137-139.
- 9B — BERTOLLI, B.  
1953. Brasil-Médico, 67(6-7):88-92.

- 9C — BERTOLLI, B. & COLS.  
1953. Publ. Médicas, 23(184):5-10.
- 10 — BIER, O.  
1932. Arch. de Biol., 15(171):140-141.
- 11 — BOTTINI, A.  
1936. Bras. Médico, 50(47):1014-1018.  
1937. Arq. Riogr. Med., 16(4):137.
- 12 — CARINI, A.  
1934. Arch. de Biol., 16(179):32-35.
- 13 — CARINI, A.  
1936. Arch. de Biol., 20(190):14-16.
- 14 — CARINI, A.  
1937. Arch. de Biol., 21(196):11-12.
- 15 — CARINI, A.  
1940. Arq. de Biol., 24(229):174-175.
- 16 — CARINI, A. & VESPUCCI, P.  
1932. Arch. de Biol., 15(171):135-138.
- 17 — CARNEIRO, M. G.  
1913. Arch. Bras. Med., 3(3):292-306.  
1914. Rev. Med. S. Paulo, 17(4):56-64.
- 18 — CAUSEY, C. E., & AZEVEDO, M. C.  
1947. Rev. Serv. Esp. S. Paulo., 1(1):77-86.
- 19 — CAUSEY, O. R. & CAUSEY, C. E.  
1942. Hospital, 22(3):443-445.
- 20 — CORRÊA, J. J.  
1934. Bras. Médico, 48(46):953-954.
- 21 — COSTA, G. A.  
1949. Informação pesscal.
- 21A — CRUZ, E. & LEMOS JR., A.  
1948. Arq. Hig. Saúde Públ., 13(35-38):75-92.
- 22 — CUNHA, J. B. & BIFONE, J.  
1948. An. 4.º Congr. Bras. Vet., Rio de Janeiro, Janeiro. Em impressão.  
1950. Bol. Div. Def. San. Animal, 1:66-87.
- 23 — FALLEIROS, F.  
1940. Arq. de Biol., 24(229):173-174.
- 23A — FERNANDES, R.  
1949. Clin. Tisiol., 4(13):217-232.
- 24 — FERNANDES, R.; MUNIZ, E. & MENDES, W.  
1948. Clin. Tisiol., 3(11):483-488.
- 25 — FIALHO, S. A.  
1945. Rev. Bras. Oftalm., 3(4):189-200.
- 26 — FONSECA, J. M. DA  
1940. Bol. Acad. Nac. Med., 112(2):57-60.

- 26A — FURTADO, A. H.  
1952. Brasil-Médico, 66(1-2):13-14.  
Brasil-Médico, 66(20-22):297-300.  
Publ. Médicas, 22(182):51-55.
- 27 — GESTEIRA, J. M.  
1908. Etiologia e diagnóstico da septicemia de Bruce — Tese, Fac. Med. Bahia, 113 págs.
- 28 — GOUVÊA, P.  
1949. An. 3.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, Setembro: 315-323.  
1952. Fôlha Médica, 33(9):69-72.
- 28A — GOUVÊA, P. G.  
1952. An. 4.º Congr. Méd. Est. Rio de Janeiro, Niterói, Outubro: 121-129.
- 29 — HERMETO, A.  
1949. Informação pessoal.
- 30 — HORTA, P. P.  
1942. Atas XI Conf. Sanit. Panamer., Rio de Janeiro, Setembro: 112-171.  
1942. Arq. Hig., 12(3):113-176.
- 30A — LACAZ, C. S.; BALBO, R. J.; MELLONE, O.; YAHN, O.; DI SANTO, L. & SCIAN-NAMEÀ, I. M.  
1954. Rev. da A. M. B., 1(4):385-389.
- 31 — LACAZ, C. DA S., FAVA NETO, C. & COSTA, O.  
1947. An. Paul. Med. Cir., 54(3):209.
- 32 — LACAZ, C. DA S.; FAVA NETO, C. & COSTA, O.  
1948. Rev. Bras. Med., 5(4):243-246.
- 33 — LACORTE, J. G.  
1935. Rev. Med. Cir. Brasil., 43(2):43-45.
- 34 — LACORTE, J. G.  
1935. Bras. Médico, 49(26):575-576.
- 35 — LEMME JR.  
1943. Rev. Bras. Odont., n.º 2:50-54.
- 36 — LIMA, E. E. DE  
1945. Impr. Méd., 21(377):37-43.
- 37 — LIMA, J. P. C.  
1938. Bras.-Médico, 52(53):1184-1186.
- 38 — MACIEL, H.  
1940. Bol. Acad. Nac. Med., 112(2):61.
- 39 — MADRUGA, M.  
1944. Rev. Flum. Med., 9(3):49-51.  
1945. Biol. Médica, 3(2):63-64.
- 40 — MAGALHÃES, O. DE  
1937. Bras.-Médico, 51(51):1247.
- 40A — MARQUES, R. J.  
1954. Revista Nordeste Médico, n.º 3.
- 40B — MEDEIROS, M.  
1949. Arq. Med. Cir. Pernambuco, I, 2:151-156.

- 41 — MONIZ, G.  
1902. Gaz. Med. da Bahia, 34(1):1-18.
- 42 — MOREIRA, P. M.  
1946. An. Fac. Med. Pôrto Alegre, 7(1):9-51.
- 43 — NEIVA, C.  
1930. Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1(3):73-80.
- 44 — NEIVA, C.  
1935. An. Paul. Med. Cir., 30(1):5-6.
- 44A — NOGUEIRA JR., A.  
1952. Med., Cir., Farmácia, Abril (192):140-164.
- 45 — OLIVEIRA, D. B. DE  
1948. An. 5.<sup>a</sup> Jornada Oftalm. Bras., Campinas, Setembro. Em impressão.  
Resumo em Arq. Inst. Pen. Burnier, Campinas, 1949, 8:132-133.
- 46 — OLIVEIRA, M. C. DE  
1940. Sôro-aglutinação na Brucelose — Tese, Esc. Med. e Cir. Inst. Hanem., Rio de Janeiro, 86 págs.
- 47 — PACHECO, G.  
1941. Hospital, 19(4):625-628.
- 48 — PACHECO, G.  
1941. Arq. Hig., 11(1):157-179.
- 49 — PACHECO, G.  
1949. An. 3.<sup>o</sup> Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, Setembro: 307-313.
- 49A — PACHECO, G.  
1950. Rev. Bras. Med., 7(10):651-655.
- 49B — PACHECO, G.  
1952. Brasil-Médico, 66(16-17):227-232.
- 49C — PACHECO, G.  
1954. Rev. Bras. Med., 11(7):466-469.
- 50 — PACHECO, G.; NOVAES, J. L. & VEIGA, G. P. DA  
1943. Bras.-Médico, 57(45-46):433-438.
- 51 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
1945. Med., Cir. Farm., (115):629-632.
- 52 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
1946. Rev. Bras. Med., 3(1):70-74.
- 53 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
1946. Bras.-Médico, 60(16-17):140-144.
- 54 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
1946. Rev. Bras. Med., 3(6):485-487.
- 55 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
1946. Primeira Reunión Interam. Brucelosis, Mexico, Setembro: 63-68.
- 56 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
1947. Bras.-Médico, 61(5-7):35-40.
- 57 — PENNINO, J.  
1932. Arch. de Biol., 15(171):138-139.

- 58 — PEREIRA FILHO  
1933. Rev. Radiol. e Clín., 2(6):755-772.
- 59 — PEREIRA FILHO, M.  
1949. Congr. Méd. Comem. Cincoent. Fac. Med. Pôrto Alegre, Março,  
32 págs.
- 60 — PÉRES, J. N.  
1944. Bras.-Médico, 58(49-50):449-450.
- 61 — PÉRES, J. N.  
1945. Bras.-Médico, 59(1-2):2-4.
- 62 — PÉRES, J. N.; ANGELO, P. & MALHEIROS, C.  
1945. An. 3.º Congr. Bras. Vet., Pôrto Alegre, Outubro: 558-564.
- 62A — POLENGHI, F. D.; CARVALHO, J. D. DE; SILVA, D. Z. L. DA; RIBAS, E. B.;  
BERTOLLI, B.; TEIXEIRA JR., A. R.; DIEDRICH, T. N.; ALVES NETTO, E.; PUSCH  
JR., B. & MACHUCA, F.  
1953. Subsídios para o levantamento da brucelose no Estado do Paraná.  
Trab. apres. XI Congr. Bras. Hig., Curitiba, 32 fls. mimeogr.
- 63 — PORTELA, F. B.  
1948. Informação pessoal.
- 64 — SANSON, D. DE  
1940. Bol. Acad. Nac. Med., 112(2):60-61.
- 64A — SCHLÖGEL, F.  
1953. O Hospital, 43(3):405-409.
- 65 — SCHWAB, A.  
1941. Bras.-Médico, 55(35):601-603.
- 66 — SILVA, N. N. DA  
1942. Atas XI Conf. Sanit. Panamer., Rio de Janeiro, Setembro: 256-263.
- 67 — SILVA, N. N. DA  
1943. Arq. Dep. Estadual de Saúde, R. G. do Sul, 4:7-14.
- 68 — SILVA, N. N. DA  
1947. Hospital, 32(6):925-938.
- 69 — SILVA, N. N. DA  
1949. Congr. Méd. Comemor. Cincoent. Fac. Med. Pôrto Alegre, Março:  
4 págs.
- 70 — SODRÉ, L.  
1944. Bras.-Médico, 58(30-31):277-279.
- 71 — STAVALE, A.  
1937. Rev. Clin. de S. Paulo, 1(3):135-139.
- 72 — TRAMONTI, E.  
1934. Novoterapia, 14(79):13-19.
- 73 — VIGNOLI, J.  
1943. Med., Cir., Farm., (92):586-599.
- 74 — WEDERHAKE, C. J.  
1934. Contribuição para o estudo das febres ondulantes — Tese, Fac.  
Med. Pôrto Alegre, 57 págs.
-

## CAPÍTULO IV

---

# Epidemiologia

### A — CONSIDERAÇÕES GERAIS

Ordinariamente a brucelose é uma doença endêmica. Algumas vezes, entretanto, ela pode apresentar-se sob forma epidêmica.

A endemicidade da doença resulta do caráter relativamente benigno das infecções por brucelas, em particular das do boi e do porco. No capítulo da patogenia é considerado este aspecto e são estabelecidas as analogias com doenças provocadas por germes de atividades semelhantes, como os da tuberculose e da sífilis, doenças em que a característica epidemiológica é a endemicidade.

Todavia, têm sido descritas epidemias de brucelose, a maioria provocada pela brucela da cabra, como a que ALIVISATOS relatou em 1952, na Grécia. Este autor chama a atenção para o fato de que nos anos de 1949, 1950 e 1951 foram observados, respectivamente, 71, 94 e 180 casos; já em 1952, registraram-se 1.110 casos, o que deveria ser atribuído a uma epidemia e não, como poderia supor-se, ao fato de os médicos estarem mais familiarizados com o diagnóstico da doença.

Também, numa viagem de estudos que realizou à Iugoslávia, SPINK teve ocasião de tomar conhecimento de séria epidemia que ali ocorrera em 1947.

A produção das epidemias em geral depende de vários fatores, dentre os quais salientam-se o grau de virulência do germe ou da amostra provocadora das infecções, a facilidade do contágio direto ou indireto, o estado de resistência ou de imunidade das populações, os contactos mais ou menos freqüentes do organismo com o agente infectante, a cultura higiênica da coletividade, a organização sanitária do País. A brucelose não foge a esta regra.

Entretanto, a disseminação da brucelose humana está condicionada a certos fatores suficientemente estudados e conhecidos, adiante enumerados.

Refere BRUCE, que TOMASELLI observou dois surtos epidêmicos em Catânia, um em 1872, outro em 1878, e CHARTRES ainda outro, na ilha de Malta, em 1865. Várias outras epidemias são referidas por ALESSANDRINI & DOMINICI, em diversos locais da Itália.

FARBAR & MATHEWS relataram um surto epidêmico em 25 alunos de um colégio, causado por leite de vaca oriundo de uma granja contami-

nada. Duas vacas fornecedoras do leite eram eliminadoras de brucelas. ANDERSON estudou uma epidemia de 24 casos em Federalsburg, nos Estados Unidos, em 300 pessoas que ingeriram leite seguramente contaminado, durante 4 meses.

Uma epidemia bastante extensa foi a observada por LANGMUIR, em East Lansing, nos Estados Unidos, ocorrida num colégio com 102 estudantes, dos quais 45 tiveram brucelose aguda. A fonte de contaminação desses casos fôra um aparelho "Sharples" usado para centrifugar brucelas, as quais formaram aerossóis durante a operação, espalhando os germes no ambiente.

A maior, porém, parece ter sido a epidemia observada por CANTALOUBE, de 200 casos, ocorrida em Saint Marcial Sumène, na França.

RITA, DELLA VIDA & CARDELLI referem uma epidemia de 150 casos observada por êles em Settefrati, na Itália, com 12,25% de morbidade, na população da vila e 4,7% de mortalidade, provocada por *Br. melitensis*.

CAMARGO, LEVAS & COLMARES assinalam um surto epidêmico no México.

EVANS refere uma epidemia de 11 casos, descrita por ATWOOD & HASSELTINE; outra de 30 casos, estudados por BEATTIE & RICE; uma, vista por HORMING, de 14 casos; e outra de 77, estudada por BORTS & COLS.

O número de casos registrados numa região não corresponde nunca ao número realmente existente. HARRIS acha que para cada caso assinalado devem-se contar 9 não registrados, à vista do avultado número de indivíduos sem doença propriamente, apenas com incômodos ou males suportáveis, que não forçam a procura de médico. De outro lado, muitos médicos não apuram o diagnóstico de seus casos, atribuídos por êles a outras afecções, e para os quais, muitas vezes, instituem, tratamentos sintomáticos. Em sôro-aglutinações com sangue de febricitantes com diagnósticos de anemia, escarlatina, estreptococcia e outros males, na Alemanha, entre 1929 e 1930, conta ZELLER que se descobriram 626 casos de brucelose. JORDAN admite a existência de 8 ou mais infecções latentes ou inaparentes para cada caso clínico.

---

## B — INCIDÊNCIA

No Brasil, a incidência da infecção humana ainda não foi convenientemente estabelecida. Neste particular a veterinária, aqui, se adiantou à medicina humana, relativamente, porque em muitas zonas de alguns Estados já se têm realizado maiores inquéritos epizootiológicos que humanos, ao menos sôbre o grau de contaminação do gado. Nesses inquéritos ficou estabelecida uma taxa por vezes muito elevada, para os animais, como já foi visto noutro ponto.

Em nosso registro encontramos, em 1.218 sôro-aglutinações, 47 positivas ou 5,23%; destas, 34 foram observadas em indivíduos sãos, aparentemente.

Noutros países, as investigações têm progredido muito, permitindo julgar não só o grau de difusão da doença como também a importância nosológica, conforme pode ver-se no capítulo da Distribuição Geográfica.

Basta citar os Estados Unidos, onde êsses estudos têm sido efetuados exaustivamente em certos Estados ou Condados. No período de 1930-46, segundo informações do Serviço de Saúde Pública daquele País, o índice de infecção era de 2,31 por 100 mil habitantes, mas em 1947 êle se elevou a 3,7 (cf. JORDAN). Algumas estatísticas são muito elevadas como a de DARLEY & GORDON, que em 1.170 pessoas aparentemente sadias, encontraram 120 ou 10,25% reagentes positivos, contra 236 ou 17,79% entre 1.497 pacientes com males crônicos. Em 20 Estados americanos tem havido aumento crescente do número de casos. Certamente a doença sempre existiu em tôda parte mas só agora está se apurando sua disseminação. No México e nos outros países do continente americano a brucelose se encontra bastante espalhada.

Pode-se incluí-la entre as doenças mais difundidas no mundo atualmente.

---

### C — ANIMAIS COMO FONTES DE INFECÇÃO

Quanto ao predomínio das brucelas na infecção humana está êle na dependência estreita da presença e da preponderância das espécies animais infectadas. Nos locais onde só há porcos, predomina a brucela dêste animal. O mesmo acontece quando se lida com bois, cabras e carneiros.

Na Itália e parte do sul da França, por exemplo, a maioria dos casos é provocada pela *Br. melitensis* devido ao grande uso de cabras naquelas regiões. No Norte da Europa, onde praticamente não existem cabras, só há brucelose por *Br. abortus* ou *Br. suis*.

Nos Estados Unidos, em Minnesota e Iowa, predomina a brucelose de origem porcina; no Arizona, a de origem caprina.

Na Argentina, na região do Oeste, só se encontram infecções pela *Br. melitensis*; no Leste é a *Br. abortus* a responsável pela quase totalidade dos casos como se vê no mapa tirado de MOLINELLI & COLS. (Fig. 63).

Todavia, animais que habitualmente albergam certo tipo ou espécie de brucela podem se infectar por outro.

Assim, a brucela do boi também infecta o porco, as aves domésticas, o carneiro, o cão, o rato selvagem, o cavalo, a cabra, a cobaia e o coelho; a do porco pode infectar boi, cavalo, cobaia e coelho; a da cabra infecta também o boi, o porco, o carneiro, o cão, o coelho, a cobaia e as aves.

O *gato* parece resistente, nas verificações de JÖRGENSEN, mas BOYL acha que êste animal é muito receptível à brucelose.

O *cão* é freqüentemente infectado. THOMSEN encontrou 15,39% de reações positivas, em 1.565 soros examinados; FELDMANN, em 500 soros obteve 10,5%. De outro lado, as infecções experimentais foram obtidas

POI VAN DER HOEDEN, FELDMANN & Cols., além de outros. Num quadro de MORSE, encontram-se dados sobre a infecção natural em cães:

*Verificação de infecção brucelosa natural em cães*

Autor	Local	Soros examinados	Positivos
Eyre & Col. ....	Malta (ilha)	46	3
Kennedy.....	Malta (ilha)	114	15
Vallet & Rimbaud.....	Não referido	21	18
Sergent & Bories.....	Algéria	5	1
Caliri.....	Sicília (Itália)	67	0
Thomsen.....	Dinamarca	58	9
Grandi.....	Bolonha (Itália)	165	66
Poelma & Cols.....	Maryland, U.S.A.	60	5
van der Hoeden.....	Holanda	424	72
Feldmann & Cols.....	Minnesota, U.S.A.	500	52
Birch.....	Indiana, U.S.A.	27	0
Total.....		1 565	241

Na infecção brucelosa experimental, MORSE cita os seguintes resultados: VAN DER HOEDEN: — 12 cães, 7 +; FELDMANN & Cols.: 11 cães, 7 +; MORSE & Cols.: — 14 cães, 8 +.

O próprio MORSE alimentou cãesinhos com leite bruceloso, sem resultado; num cão adulto, entretanto, obteve infecção e observou abôrtos em duas das cadelas que pertenciam ao lote infectado experimentalmente.

Examinou VERGE a significação dos animais carnívoros na disseminação da brucelose. Preconiza para o cão a prova aglutinante como a apropriada para o diagnóstico, da qual a Comissão Inglesa de Brucelose na ilha de Malta já se valera para verificar a doença nesse animal, tendo encontrado 8% de cães contaminados. Diz que o percentual em cães é muito variável, segundo os pesquisadores: MICELI, 4,5% em 44; IZAR, 0,7% em 268; CALIRI 0% em 67; GRANDI, 4% em 165, todos na Itália; VAN DER HOEDEN, 19,5% em 442, na Holanda; THOMSEN, 0% em 60 cães, de Copenhague mas em cães de fazenda obteve 13,7% de reações positivas; POELMA & Cols., 8% (suspeitos); FELDMANN & Cols., 10,4%; BARRIER, 0,7% em 277, nos Estados Unidos. Assinala ainda VERGE uma epidemia familiar transmitida por uma cadela que abortara pouco antes, e que se revelou contaminada, segundo observação de DAGEIN & PLAZY. A sua vez VERGE encontrou 12% de reações positivas em 82 cães. No Brasil, SILVA, no Rio Grande do Sul, isolou brucelas de um cão.

Das *aves domésticas* releva considerar a galinha, que FIORENTINI, DUBOIS, CALIRI, HUDDLESON & EMMEL, e FELSENFELD & Cols. encontraram infectada ou infectável por brucelas e tornando a doença transmissível por contacto. FELSENFELD & Cols. infectaram artificialmente pintos que eliminaram brucelas pelas dejeções e contaminaram pintos sadios postos com êles em co-habitação.

*Animais silvestres* foram vistos também infectados espontaneamente. JACOTOT & VALLÉE e BENDTSEN & Cols. encontraram lebres com bruce-

lose. Veados e renas, embora susceptíveis, parecem não exercer papel na difusão da doença. Ratos silvestres podem apresentar-se infectados. MANZULLO observou infecção brucelosa espontânea em cobaias silvestres, na Argentina.

Finalmente, os insetos podem absorver brucelas e transmiti-las. HORROCKS & KENNEDY encontraram pulgas contaminadas espontaneamente em enfermarias de brucelose e conseguiram transmitir a doença a macacos pela picada desses insetos. A Comissão Inglesa de Brucelose verificou que o germe pode permanecer no corpo do mosquito e aparecer nas suas dejeções.

Quanto ao papel das moscas, as experiências mais importantes devem-se a NEGRO que utilizou moscas domésticas, nascidas de larvas criadas assépticamente. Os insetos adultos, postos em contacto com leite misturado com *Br. melitensis* e depois conservados em tubos estéreis, foram, em prazos variáveis, colocados em tubos contendo meio de cultura. Observou-se a sobrevivência de 2 a 8 dias após a contaminação com o leite, sendo mantida a virulência para cobaias.

WELLMANN conseguiu que brucelas penetrassem em tabanídeos e por estes se transmitissem a cobaias. Calculando o número de germes penetrados na tromba verificou êle ser de 800 a 1.000, quando os insetos absorviam culturas em leite; sabendo-se, segundo HEGEN, que bastam 12 brucelas para infetar, não haverá dificuldade para admitir a transmissão pelos tabanídeos.

As possibilidades das moscas na transmissão da brucelose foram novamente estudadas por WELLMANN, trabalhando, então, com bovinos, porcos, cabras e cobaias. Experimentou com *Stomoxys calcitrans*, tabanídeos e moscas comuns, contaminadas com placenta ou com líquido estomacal de fetos. Pelo ato de sugar, *Stomoxys calcitrans* e algumas espécies de tabanídeos foram capazes de transmitir *Br. abortus* a 2 vacas, *Br. suis* a 4 ou 5 porcas e *Br. melitensis* a 3 ou 4 cabras. Com a mosca doméstica, usando as três espécies de brucelas, conseguiu infectar cobaias, transmitindo os germes pela pele intacta, pele lesada e pelo olho. As experiências destinadas a passar a infecção à pele intacta ou ao olho de animais, por meio da *Musca doméstica*, resultaram em infecção por *Br. abortus* em 2 vacas; de 4 vacas infectadas por insetos, 3 não apresentaram títulos sanguíneos positivos, a não ser depois de parirem. As datas da infecção e dos partos foram separadas por intervalos variando de 2 a mais de 6 meses. As experiências com insetos lambedores foram feitas contaminando-os com dejetos, leite, gordura e frutas aos quais haviam sido misturadas brucelas. Alguns desses insetos, como a mosca, eliminam a saliva para diluir ou misturar o alimento, facilitando sua absorção, por aspiração posterior.

WELLMANN refere-se a trabalhos de diversos pesquisadores que fizeram experiências com insetos. EYRE sugeriu que a contaminação das cabras se fazia por insetos; THOMSEN, com *Musca corvina* e outras dos gêneros *Hydrotaea* e *Morellia*, depositadas sobre a conjuntiva de bovinos, também obteve infecção; RÜHLAND & HUDDLESON, com mosca doméstica e mosca de estábulo, após repasto infectante, conseguiram culturas positivas desses insetos infectados.

Conclui WELLMANN, afirmando que, nos ensaios de transmissão praticados com insetos picadores, a porcentagem de infecções positivas é superior à obtida pelos ensaios com insetos não picadores. Chama a atenção para o fato de que é provável que a brucelose se transmita pelos insetos, ao lado das outras condições epidemiológicas naturais.

Também *carrapatos* foram vistos capazes de transmitir a brucelose a bovinos. Mais recentemente, MANCERA verificou que carrapatos e perceijos, sugando animais brucelosos, eliminavam brucelas pelas fezes e os carrapatos infectados transmitiam a doença experimentalmente pela picada.

#### D — SEXO

A maioria das estatísticas revela uma nítida predominância da infecção no sexo masculino. Em algumas delas são as seguintes as relações:

Autor	Masculino	Feminino
Madsen.....	166	56
Jordan.....	1 639	443
Hardy & Col.....	783	240
Bierring.....	120	30
Kling.....	21	4

Todavia, nem sempre é assim, havendo outras estatísticas com resultados inversos. MAUBECIN, por exemplo, contou 73 mulheres contra 62 homens, admitindo uma endemicidade familiar nas suas observações e JORDAN viu igualarem-se os números de casos, quanto ao sexo, em crianças até 9 anos e em adultos de 70 anos para cima.

A predominância do sexo masculino está na estrita dependência dos fatores profissionais. Nas verificações de STONE & BOGEN, de casos observados em 3 instituições, houve certo equilíbrio no número em relação ao sexo, com pequena predominância do feminino, se bem que o número de mulheres ali fôsse maior.

Explica-se a maior incidência no sexo masculino nos casos da zona rural, por ser a brucelose essencialmente uma zoonose e o contágio se fazer principalmente do animal para o homem. Resulta que a maioria dos que lidam com animais domésticos, e ainda dos trabalhadores em frigoríficos, pertence ao sexo masculino. Daí a maior frequência de contaminação dos indivíduos do sexo masculino. Porém, essa predominância do sexo pode ser alterada.

Mostrou JORDAN que se fôsem separados por grupos, os brucelosos de Iowa, Estados Unidos, que tiveram ou não tiveram contacto com animais, haveria no 1.º grupo 1.582 homens contra 227 mulheres, e no 2.º, sem contacto direto com animais, 315 contra 286.

## E — IDADE

Em relação à idade, as estatísticas indicam predominância nos indivíduos entre 20 a 50 anos. Vejamos as observações de vários pesquisadores.

Idade	JORDAN	DE LA GARZA	ANGELINI (%)
1-4 .....	4	21	1,8
5-9 .....	34	69	3,16
10-14.....	14	147	9,95
15-19.....	102	219	10,85
20-29.....	440		28,5
30-39.....	456	147	24,4
40-49.....	346		10,4
50-59.....	188	259	9,4
60 e mais.....	70	59	3,15

BIERRING encontrou 112 entre 20 a 50 anos, 18 com menos de 20, e 20 entre 51 e 73 anos. Dos 186 casos de SPINK & MAGOFFIN, a maioria, ou sejam 67,7%, tinha de 20 a 40 anos de idade.

Explica-se a predominância ainda pelas fontes de contágio. Sendo a principal delas a de origem animal, entre 20 a 25 anos é a idade da maioria dos trabalhadores que lidam com animais em fazendas ou em frigoríficos. Crianças e velhos não suportam trabalhos desta natureza, ou não costumam exercê-los.

## F — VARIAÇÃO SAZONAL

O número de casos é sempre mais abundante no verão.

AVERY relaciona essa predominância com a escassez de chuvas, enquanto DE LA GARZA acha êsse aumento, que no México atinge o dôbro do observado no inverno, atribuível à maior produção de leite nesta estação. Na Itália, segundo SIGNORELLI e D'ANTUONO, a incidência maior é observada na primavera e no verão. (Fig. 65).

Nas mudanças de estação, ocorrem alterações orgânicas, já examinadas por numerosos investigadores, capazes de se refletirem nas atividades fisiológicas. O aumento de secreção láctea é uma delas e com ela, também o aumento da circulação mamária; esta congestão ou estase facilita ou promove a eliminação de germes presentes na mama, quando preexistem lesões brucelosas. Podem as brucelas ser trazidas também pelo sangue, porque a mama é um emunctório como todo órgão secretor externo. Por êle saem germes e anticorpos, juntamente aos constituintes do leite.

Supõe BELGRANO um possível aumento da virulência do germe nessa fase do ano, como hipótese, já se vê. Acrescenta êle que nessa época (primavera e verão) é que as cabras parem em maior número, tornando-se eliminadoras de germes.

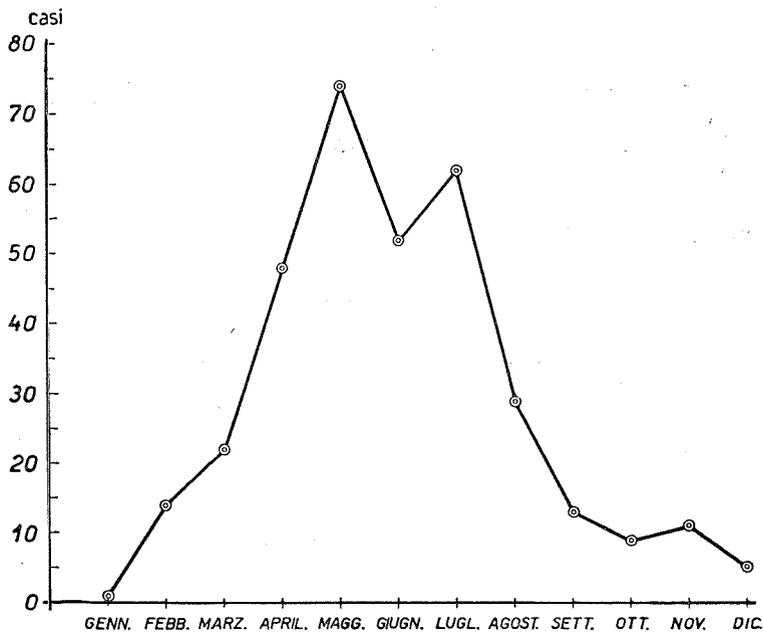
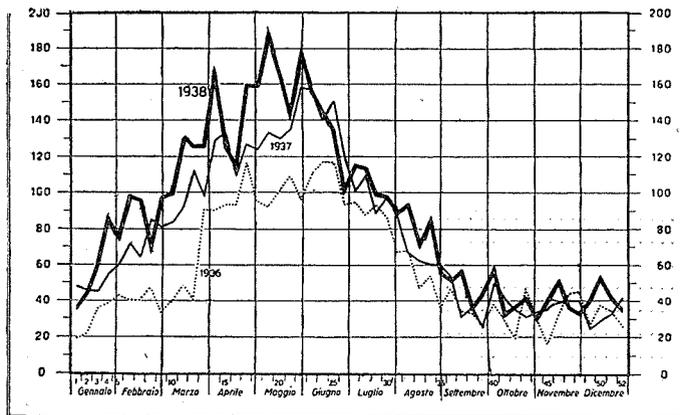


Fig. 65 — Distribuição sazonal da brucelose; maior frequência na primavera e no verão. Em cima: na Itália, nos anos de 1936 a 1938, segundo SIGNORELLI. Em baixo: em Parma (Itália), nos anos de 1948 a 1953, segundo D'ANTUONO.

## G — PROFISSÃO

Sendo a brucelose uma zoonose, aqueles que lidam com animais ou são empregados em indústrias de produtos de origem animal, necessariamente estão mais sujeitos ao contágio do que os de outras profissões. Anotaremos algumas estatísticas, demonstrativas da origem profissional predominante para a doença.

Dentre as profissões correlacionadas a animais ou seus produtos, há diferenças consideráveis de frequência, naturalmente condicionadas à maior ou menor possibilidade de contacto com material contaminado. Para certos países ou cidades, a brucelose torna-se até um problema industrial. É o caso de Buenos Aires onde 30% dos trabalhadores de matadouro, na secção de suínos, foram encontrados contaminados pela *Br. suis*.

De qualquer maneira, a maior frequência está ligada à mais elevada concentração de animais e de indústrias derivadas. As estatísticas do Ministério da Agricultura dos Estados Unidos, em 1947, mostram bem essa relação, segundo JORDAN:

Estados (por zonas)	População bovina e suína	Número de casos humanos % do total
New England.....	1 445 000	6,7
Middle Atlantic.....	4 890 000	10,4
East North Central.....	27 140 000	19,8
West North.....	44 059 000	22,9
South Atlantic.....	10 224 000	7,1
East South Central.....	9 966 000	5,0
West South Central.....	17 983 000	14,7
Mountain.....	9 095 000	3,5
Pacific.....	5 817 000	9,9
Total.....	130 709 000	100

A não ser o penúltimo número, em que a dependência não foi mantida, houve absoluta relação entre a população bovina-suína e maior frequência de casos humanos. Relações análogas refere DE LA GARZA para o México.

Muito elucidativa, para a preponderância profissional, é a estatística apresentada por JORDAN:

Trabalhadores em fazendas.....	1 480	72,9
Trabalhadores em frigoríficos.....	442	21,8
Veterinários e auxiliares.....	41	2,1
Boiadeiros.....	27	1,3
Açougueiros.....	13	0,6
Condutores de gado.....	9	0,4
Diversas profissões rurais.....	17	0,7

Também na Ásia, o problema tem sido examinado. Uma estatística publicada pelo Instituto Científico do Estado de Tachkent, no Turquestão, por exemplo, revela que a porcentagem em 1935, de sôro-aglutinações positivas observadas nas populações em contacto com animais, na União Soviética, era muito elevada, conforme pode ser visto no quadro abaixo:

Profissão	Região de Moscou	Região Occidental	Omsk	Scazaksher	Ousbe- quistão
Empregados em fa- zendas, veterinários e zootecistas.....	100%	45,8%	27,3%	30%	35,3%
Pastores.....		16,8%	50,7%	37%	10,8%
Ordenhadores.....	50%	30,9%	22%		

DOENÇA PROFISSIONAL \* — Em vários países, a brucelose é considerada doença profissional em relação a veterinários, empregados em fazendas, trabalhadores na indústria de laticínios, magarefes e outros empregados em matadouros. A razão disso é que, embora sendo grande o número de infecções brucelosas que se verificam pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente laticínios, uma parte bem maior, sobretudo os casos mais graves de bruceloses de origem bovina e suína, é conseqüente ao contacto direto do homem com os animais doentes ou com suas carcaças.

Na Argentina e no Uruguai, há cerca de 25 anos a brucelose é considerada doença profissional para os grupos de trabalhadores que vimos anteriormente. Diversos outros países assim catalogam a infecção, em suas legislações trabalhistas ou sociais. Alguns exemplos que citaremos, colhidos da farta bibliografia sobre brucelose, servirão para mostrar a magnitude e a complexidade do problema.

*Estados Unidos da América do Norte* — Neste País, onde, segundo as estimativas de ALICE EVANS e de HUDDLESON, existem cerca de 4 a 5 milhões de brucelosos, o problema social da infecção vem sendo exaustivamente explorado. No que se refere à doença entre os empregados em matadouros e em pessoas que têm estreito contacto com animais, JORDAN & Co. têm feito uma série de pesquisas sobre o assunto, principalmente no estado de Iowa. HUDDLESON, em trabalho apresentado à Academia de Ciências de New York, em 1946, sumariza os conhecimentos sobre a situação nos Estados Unidos. Transcrevemos, a seguir, um de seus quadros, baseado em elementos fornecidos por JORDAN e relativo à incidência em Iowa no quadriênio 1942-1945.

Ocupação do grupo	Área	Contacto com animais		Consumidores de leite cru		Total de casos 1942-945	População em cada grupo	Incidência anual por 100 000
		Número	% do total	Número	% do total			
Crianças (até 12 anos).....	Rural	19	65,6	29	100,0	29	916 768	0,9
Jovens (de 13 a 20 anos).....	»	26	72,6	36	100,0	36	916 768	0,9
Mulheres adultas de fazendas..	»	56	60,9	92	100,0	92	916 768	2,2
Homens adultos, trabalhadores em fazendas.....	»	611	100,0	611	100,0	611	311 776	43,0
Crianças (até 12 anos).....	Urbana	5	27,8	18	100,0	18	1 621 500	0,4
Jovens (de 13 a 20 anos).....	»	6	31,6	16	84,2	19	1 621 500	0,3
Donas de casa (mulheres adultas)	»	3	3,2	77	81,9	94	1 621 500	1,4
Empregados no comércio.....	»	57	26,0	159	72,6	219	1 621 500	3,3
Empregados em matadouros....	»	205	98,1	69	35,0	209	20 000	2871,5
Veterinários.....	»	11	100,0	8	72,7	11	800	250,0
Total.....	Rural	969	74,7	1 115	83,3	1 338	2 538 268	12,3
	Urbano							

Pelo quadro acima, vê-se que quando se analisam os dados em relação ao número de pessoas em cada grupo de ocupações e levando em conta o histórico da exposição ao germe, torna-se evidente que o con-

\* Parte do tópico sobre "Doença profissional" foi publicada em "Brasil-Médico", 1950, 64(22-30):93-98 e 1952, 66(5-6):65-77, por Milton Thiago de Mello.

tacto com o animal vivo infectado ou com sua carcassa desempenha papel muito mais importante na transmissão da brucelose ao homem, do que o consumo de leite cru. Isto se verifica quer o animal seja manuseado na fazenda, pelos empregados desta ou pelos veterinários, quer no local de abate, pelos empregados em matadouros e frigoríficos, inclusive veterinários inspetores de carnes.

Em 1949, no Symposium sobre Brucelose, realizado nos Estados Unidos, sob os auspícios do Instituto Nacional de Saúde Pública, do Departamento de Agricultura e do Conselho Nacional de Pesquisas, JORDAN apresentou outro circunstanciado trabalho, em o qual foram analisados 2.031 casos de brucelose humana ocorridos no Estado de Iowa, no período de 1940 a 1947, e todos praticamente, em pessoas que haviam tido contacto com animais. Muitos outros dados são incluídos nesse importante trabalho. Uma das tabelas, bastante elucidativa, compara a média de morbidade específica por 100.000, em certos grupos profissionais expostos a contacto com animais, com a média por 100.000, em grupos de pessoas sem êsse contacto.

*Brucelose humana em Iowa, no período 1940-1947. Média da morbidade específica por 100.000 em certos grupos profissionais expostos a contacto com animais, comparada com a média por 100.000 no grupo sem contacto com animais. Segundo JORDAN, 1949.*

Grupos profissionais	Número de casos 1940-1947	Média anual de casos	Total exposto ao risco	Média específica por 100 000	Observações
Veterinários (inclusive auxiliares).....	36	4,5	800 (a)	562 (a)	Número aproximado, em Iowa
Empregados em frigoríficos.....	442	55,2	20 000 (b)	276 (b)	Número estimado
Empregados em fazendas (homens)...	1 480	185,0	311 776 (c)	59 (c)	Número de trabalhadores do sexo masculino, censo 1940
Grupos sem contacto com animais, 1940-1946.....	601	45,2	2 336 492 (d)	2 (d)	Total da população de Iowa, excluídos os grupos a, b e c

Por essa tabela, pode ser visto que o grupo mais intensamente atingido é constituído pelos veterinários e seus auxiliares; seguem-se os trabalhadores em matadouros e frigoríficos e, depois, os empregados em fazendas, do sexo masculino. A incidência no grupo sem contacto com animais é mínima.

Logo no início de seu trabalho, JORDAN declara que o contacto direto com animais e o uso de laticínios crus, provenientes de vacas e cabras infectadas fornecem as principais vias de transmissão ao homem. O índice de pessoas atingidas é o mais elevado entre aquelas cujas ocupações as colocam em contacto com animais domésticos e com o próprio germe (trabalhadores em frigoríficos, trabalhadores em fazen-

das, veterinários, tratadores de animais e laboratoristas); o índice é o mais baixo entre os residentes nas zonas urbanas, que só usam laticínios pasteurizados e não referem ter lidado com animais.

Nesse mesmo Symposium sobre Brucelose, MORALES-OTERO declara ter sido realizado, em 1939, um inquérito sorológico em Pôrto Rico, entre 222 indivíduos adultos que trabalhavam na indústria de laticínios, e em 1.003 outras pessoas adultas que não referiam contacto com animais. No primeiro grupo, 24,7% apresentaram reações positivas, enquanto que no segundo, apenas 4,2% as apresentaram.

Examinando a epidemiologia da brucelose nos EE. UU., STEELE cita as pesquisas realizadas em Iowa, por JORDAN & Cols., a partir de 1927, e que tiveram como consequência imediata modificar bastante a antiga hipótese de que a brucelose é apenas uma doença veiculada pelo leite; passou a prevalecer o fato de que bem mais importante, na epidemiologia, é o contacto com animais doentes. STEELE resume, a seguir, estudos feitos em outros estados norte-americanos, sempre mostrando maior incidência entre os grupos profissionais obrigados a entrar em contacto com animais. Em certo ponto declara que, embora todo o leite destinado às populações fôsse pasteurizado, restaria ainda essa grande fonte de brucelose, constituindo um risco profissional incontável.

Trabalho interessantíssimo foi o publicado por DAMON & Cols., em 1950, focalizando a brucelose como um risco profissional. Os autores fizeram suas pesquisas no estado de Indiana. Colheram sangue de: 1) indivíduos que trabalhavam em fazendas e cujos contactos com animais, possivelmente infectados, eram numerosos; 2) empregados em matadouros e fábricas de adubos, com evidentes oportunidades de exposição à doença; e 3) veterinários, que são expostos quase diariamente, no decurso de suas atividades. Os resultados podem ser condensados no quadro abaixo:

*Incidência da brucelose em grupos profissionais, no estado de Indiana.  
Resumido de DAMON & Cols., 1950*

Grupos profissionais	Número de examinados	Provas positivas		
		N.º	%	
Trabalhadores em matadouros...	142	39	27,4	
Trabalhadores em fábricas de adubos	394	51	12,9	
Trabalhadores em fazendas	homens.....	190	7	3,7
	mulheres.....	123	2	1,6
Veterinários.....	{ Ano de 1947..	61	33	56,0
	{ Ano de 1948..	73	34	46,5
	{ Ano de 1949..	39	1	2,5

Durante as reuniões anuais da Associação Médica Veterinária Americana, os mesmos autores realizaram provas diagnósticas para brucelose, em veterinários que compareceram a essas reuniões, e procedentes de todas as partes do País. Os resultados foram os seguintes:

Reunião de Cincinnati, 1947 — 252 examinados, 43 provas positivas (17,3%).

Reunião de São Francisco, 1948 — 174 examinados, 29 provas positivas (16,6%).

Reunião de Detroit, 1949 — 203 examinados, 52 provas positivas (25,6%).

Os autores também verificaram que os índices de infecção, num mesmo frigorífico, variam bastante, conforme o tipo de trabalho executado pelos operários, sendo mais atingidos aqueles que têm contacto com os animais ou seus produtos, o que, aliás, tem sido constatado frequentemente.

O aspecto profissional da brucelose foi acentuado por ABRAMS & WARR, num trabalho importante sobre as doenças profissionais transmitidas via contacto com animais e produtos de origem animal. Além de referirem as pesquisas de JORDAN, em Iowa, relatam o que tem sido feito na Califórnia. Uma análise de 266 casos, nos anos de 1949 e 1950, notificados aos departamentos de Saúde Pública e de Relações Industriais, mostrou que desses, 105 forneceram histórias nítidas de contacto profissional.

*Canadá* — GWATKIN & PEART, ainda no Symposium sobre Brucelose, fizeram uma revisão dos trabalhos efetuados no Canadá. Dizem que em 1949, SUTHERLAND, realizando um inquérito em trabalhadores em frigoríficos, em Toronto, Ontário, observou que quase todo novo empregado tornava-se infectado dentro do primeiro ano de serviço ou, pelo menos, dentro dos cinco primeiros anos depois de começar a trabalhar na secção de matança do frigorífico. Dez anos antes, THOMPSON realizara um inquérito sorológico em vários grupos profissionais, em Ottawa, tais como funcionários públicos, professores, trabalhadores na indústria de laticínios, veterinários, laboratoristas e outros; verificou, entre veterinários e laboratoristas, com grande constância, provas sorológicas positivas.

*Argentina* — Em trabalhos sucessivos, diversos pesquisadores argentinos verificaram, confirmando o que já fôra feito em outros países, que a incidência da brucelose entre os empregados de matadouros era bastante elevada, principalmente nos grupos que lidavam com vísceras, inclusive inspetores veterinários. Mais de 2/3 da brucelose humana, nesse País, é profissional.

Ainda no 2.º Congresso Interamericano de Brucelose, realizado em 1948 em Buenos Aires, apareceram trabalhos dessa natureza.

O próprio Presidente do Congresso, Dr. CARLOS A. CRIVELLARI, na qualidade de Diretor de Saúde Pública da Argentina, revelou dados muito interessantes a respeito do assunto. Para o tratamento de cada bruceloso que contrai a doença no matadouro, gastam-se 3.880 pesos argentinos e, como o número desses doentes é sempre renovado, disto resulta que nos estabelecimentos industriais de carnes gasta-se mais, com

indenizações aos incapacitados pela doença, do que com todos os outros acidentes de trabalho em matadouros, reunidos. A gravidade do problema vai mais longe, porém: os empregados que se destinam às secções de porcos já sabem que fatalmente se contaminarão e contrairão a brucelose de origem porcina, de relativa malignidade e com nítida preferência pelas localizações ósseas. Isto faz com que se recusem a trabalhar nesses serviços, o que já está acarretando dificuldades na marcha dos trabalhos normais dos grandes estabelecimentos industriais.

CRISCUOLO, médico do Exército Argentino, catedrático de Doenças Infecciosas da Universidade de Córdoba e um dos mais ativos pesquisadores de brucelose da Argentina, é de opinião que em Buenos Aires a brucelose é um problema da medicina industrial, enquanto que nas zonas Central e Norte do País ela constitui um problema geral.

Ainda com relação aos empregados em matadouros, CRISCUOLO acentuou um aspecto inusitado contra o qual, naquele País, vão sendo tomadas medidas enérgicas: a simulação. Sendo a brucelose considerada doença profissional para certos grupos de trabalhadores, os indivíduos atingidos são tratados gratuitamente, dispõem de colônias de repouso e recebem indenizações, nos casos mais graves. Ora, o diagnóstico é feito, em grande parte, por meio de provas de aglutinação e intradérmicas, pela anamnese e pela sintomatologia. Certos indivíduos, para se aproveitarem dos benefícios da legislação social, sem fazerem jus à mesma, por não estarem doentes, injetam-se suspensões mortas de brucelas, o que determina o aparecimento de aglutininas no seu sangue e reatividade cutânea mais ou menos acentuada; dias depois, começam a queixar-se de febres, dores em várias partes do corpo, inapetência, tremores, enfim, os vagos sintomas (que já conhecem) encontrados na brucelose. Dirigem-se ao serviço médico do estabelecimento onde, entre outras coisas, são feitas as provas diagnósticas, quase sempre de resultados positivos, logicamente. Para a despistagem desses casos de simulação é necessário um inquérito epidemiológico muito bem conduzido, exames repetidos e controle rigoroso dos pacientes suspeitos.

Desejamos relatar, ainda, uma faceta da brucelose como doença profissional, verificada na Argentina e relatada por MINOPRIO, a qual segundo nos parece, ainda não foi assinalada com a mesma gravidade em outros países. Observou-se que em Mendoza e outras regiões vinhateiras apareciam casos de brucelose entre os empregados nas vinhas sem que se pudesse apontar o consumo de alimentos contaminados ou o contacto com animais doentes, como ponto de partida para a infecção. As pesquisas feitas revelaram que a contaminação se processava pelos germes existentes no esterco de cabras, usado na fertilização dos solos cultivados. Esse adubo provinha, muitas vezes, de longe, dos chamados "postos de cabras", onde se aglomeram muitos destes animais, em péssimas condições de higiene e com elevado índice de infecção. Por este motivo, tem sido sistematicamente recomendado que se evite a adubação das vinhas e outros cultivos com esterco de cabras.

Podemos ter nítida idéia da incidência da brucelose entre grupos profissionais, no trabalho sobre "Epidemiologia da brucelose humana na República Argentina", apresentado por MOLINELLI & Cols., ao 3.º Con-

gresso Inter Americano de Brucelose, realizado em Washington, D.C., em novembro de 1950. Os autores estudaram quase 3.500 doentes de brucelose, durante muitos anos, com a cooperação de vários médicos argentinos. Declararam que a brucelose humana, na Argentina, é contraída das seguintes maneiras:

a) Contacto direto profissional com animais brucelosos e subprodutos destes .....	42%
b) Ingestão de alimentos contaminados ....	22%
c) Concomitância de contacto profissional e ingestão de alimentos contaminados .....	31%
d) Permanência em ambientes contaminados com brucelas, ou em suas proximidades ...	4%
e) Infecção acidental em laboratórios de bacteriologia .....	0,6%
f) Contágio inter-humano .....	0,2%

As tabelas detalhadas que os autores apresentam fazem ressaltar; além disso, os riscos a que estão submetidos os grupos de indivíduos que lidam com animais.

Os casos de brucelose por contacto direto profissional com animais brucelosos (42% + 31% do total) foram registrados entre:

a) indivíduos encarregados do abate, industrialização e transporte de bovinos para o consumo (pessoal dos matadouros e frigoríficos, que sacrificam animais ou elaboram subprodutos animais; técnicos da inspeção veterinária; pessoal encarregado do transporte e da recepção de vísceras; açougueiros, etc.);

b) indivíduos que criam ou exploram gado (cabreiros, leiteiros, feitores, peões de campo, veterinários, empregados de fazendas, granjeiros, criadores de porcos, etc.), no decurso de muitas atividades pecuárias (trato, ordenha, etc. de animais brucelosos; assistência a vacas em trabalho de parto; extração manual de restos de placenta; manipulação de fetos, etc.);

c) indivíduos que manipulam tripas, sêbo, ou fabricam embutidos; trabalhadores em galpões ou cortumes, em contacto com couros frescos ou salgados.

Os dados de MOLINELLI & Cols. assemelham-se aos verificados por ZELLER, numa série de 359 casos:

a) Contacto com bovinos brucelosos .....	76
b) Uso de leite e laticínios crus .....	173
c) Contacto e uso de leite, simultaneamente ...	42
d) Infecções de laboratório .....	3
e) Outras fontes .....	4
f) Desconhecida a fonte de contágio .....	194

No anterior Congresso Interamericano de Brucelose, realizado em Buenos Aires, em 1948, ROSSI & CEDRO, veterinários do Matadouro e Frigorífico Municipal da Cidade de Buenos Aires, apresentaram um

trabalho em que ressaltam os riscos a que estão sujeitos os empregados em matadouros e frigoríficos, principalmente os que trabalham na mesa de evisceração de bovinos, que é um foco de disseminação de brucelas, pois é sabido que o útero grávido, a placenta, os líquidos e as membranas fetais são os pontos em que elas se alojam com mais freqüência. Consideram a secção de suínos o foco de contaminação mais importante, se se levar em conta a alta porcentagem de animais infectados, o elevado poder patogênico da brucela do porco para o homem e o número de doentes registrados entre o pessoal que aí trabalha (30-31%). A maior parte dos indivíduos pertencentes aos serviços de inspeção veterinária (médicos veterinários e seus ajudantes), que adquiriram brucelose, haviam trabalhado nessa secção. A sôro-aglutinação entre as pessoas da inspeção veterinária foi positiva em 40% dos indivíduos, dos quais 15% haviam apresentado formas clínicas da doença.

*Uruguai* — Durante o I Congresso Nacional de Brucelose, realizado em Montevideo, em dezembro de 1947, foram apresentados alguns trabalhos relacionados com a epidemiologia da brucelose. IMAZ, por exemplo, examinou 660 trabalhadores dum frigorífico, sendo 434 homens e 226 mulheres, encontrando um total de 15,3% de provas positivas (18,43% em homens e 9,69% em mulheres). Os índices parciais detalhados, que encontrou, permitiram-lhe estabelecer que a porcentagem maior de infecção era encontrada nas secções que lidavam com carne crua; as que trabalhavam com a carne cozida ou com outros produtos de origem animal ocupavam posição intermediária; as que não lidavam com materiais de origem animal deram a porcentagem menor. Os índices permitiram estabelecer, mais uma vez, que a porcentagem de infecção guarda relação direta com a freqüência do contacto com os materiais infectantes.

*Brasil* — A situação da brucelose como doença profissional em nosso País se tem limitado a poucos levantamentos do índice de morbidade entre os empregados de matadouros e frigoríficos, sem que disto resultassem, ainda, medidas concretas no sentido de protegê-los ou, pelo menos, ressarcir-los dos prejuízos que sofrem em sua saúde. Até a Lei da Câmara dos Vereadores do Rio de Janeiro, a qual concedia gratificação pelo risco de vida ou da saúde, aos magarefes, foi vetada pelo Prefeito, em 1950.

Opondo-se aos índices relativamente baixos na população, as verificações brasileiras em trabalhadores de matadouros e frigoríficos são ilustrativas.

No Rio de Janeiro, em 1942, CUNHA & BIFONE fizeram provas aglutinantes em soros sanguíneos de 65 operários das salas de matança e salsicharia do Matadouro de Nova Iguaçu, mas nenhuma reação foi positiva, apesar de 24,4% dos porcos abatidos apresentarem-se infectados.

Em São Paulo, os primeiros casos de brucelose humana se verificaram, na maior parte, em empregados em matadouros e frigoríficos; quase todos os outros surgiram em pessoas que haviam tido estreito contacto com animais. No Frigorífico Armour, por exemplo, CUNHA &

BIFONE, em 1943, 1945 e 1946, tiveram oportunidade de examinar os trabalhadores, analisando as relações entre as tarefas executadas pelo pessoal e o número de casos com provas positivas, em cada grupo de operários. Insistem no fato de que a moléstia deve ser considerada de natureza profissional, ressaltando o perigo que representa para os funcionários da inspeção veterinária que devem manusear e examinar os órgãos lesados, principalmente os gânglios linfáticos. No inquérito realizado em 1943, de 608 indivíduos, encontram 65 (10,6%) com aglutininas, convindo ressaltar os seguintes grupos:

Picação de porcos: examinados 48, positivos 17	35,4%
Inspeção Veterinária Federal: examinados 19, positivos 3	15,7%
Matança (bovinos e suínos): examinados 86, positivos 12	13,9%
Tripária: examinados 158, positivos 19	12,0%
Picação de bois: examinados 188, positivos 13	6,9%
Salga (carne suína): examinados 17, posi- tivo 1	5,8%

Não foram encontradas provas positivas entre os empregados em salamaria, tripas secas, graxaria, carne verde, conserva, currais, charque e oficinas.

Influiu decisivamente no índice de contaminação a natureza do trabalho no frigorífico. Aquêles que tinham contacto permanente com carnes e derivados, ou seja os que faziam matança e picação, ou trabalhavam na tripária, mostraram porcentual muito mais elevado de contaminação que os dos demais trabalhos do estabelecimento.

Dados mais recentes, de 1953, embora em número limitado, de AMARAL & Cols., mostram incidência maior de sôro-aglutinações positivas em empregados em matadouros.

Em Minas Gerais, PÉRES & Cols. fizeram investigações em operários do Matadouro Municipal de Belo Horizonte e de duas fábricas de banha, encontrando, no total de 168 indivíduos, 11 (6,5%) com provas aglutinantes positivas; utilizando a prova intradérmica, encontraram, em 114 indivíduos, 43 (37,7%) reagindo positivamente.

*Sôro-aglutinação (método lento, em tubo) — Segundo PÉRES & Cols., 1945*

Resultados	Matadouro	Fábrica Perrella	Fábrica Regional	Global
Negativos.....	86 (87,8%)	29 (83,0%)	30 (85,8%)	145 (85,4%)
Suspeitos.....	6 ( 6,1%)	3 ( 8,5%)	3 ( 8,5%)	12 ( 7,1%)
Positivos.....	6 ( 6,1%)	3 ( 8,5%)	2 ( 5,7%)	11 ( 6,5%)
Total.....	98 (100%)	35 (100%)	35 (100%)	168 (100%)

Nota: Negativo — até 1/25. Suspeito — até 1/50. Positivo — 1/80 ou mais.

*Intradermo-reação — Segundo PÉRES & Cols., 1945*

Resultados	Matadouro	Fábrica Perrella	Fábrica Regional	Global
Negativos.....	47 ( 63%)	11 ( 58%)	13 ( 65%)	71 (62,3%)
Positivos.....	28 ( 37%)	8 ( 42%)	7 ( 35%)	43 (37,7%)
Total.....	75 (100%)	19 (100%)	20 (100%)	114 (100%)

No Rio Grande do Sul, SILVA relata que nos Frigoríficos Nacionais Sul Brasileiros, município de Canoas, de 107 indivíduos examinados, 19,6% mostraram reações positivas. Refere que ARRUDA, no Frigorífico Armour, em Livramento, de 450 operários examinados, verificou 6% infectados.

Na Paraíba, COSTA, em 1947, examinou 8 magarefes do Matadouro Municipal de João Pessoa, encontrando todos com provas aglutinantes positivas, enquanto somente 6 apresentaram provas intradérmicas positivas. No Matadouro Municipal de Campina Grande, realizando provas intradérmicas em 13 magarefes, verificou, em 9 (69,2%), resultados positivos.

No Paraná, os trabalhos de SCHLÖGEL, de BERTOLLI e de POLENGHI & Cols. mostram a maior incidência em indivíduos que tiveram contacto com animais.

No Pará, CAUSEY & AZEVEDO examinaram 87 empregados nos Matadouros de Belém e encontraram 12 com provas que consideraram positivas (13,8%). Em 68 empregados de 9 estábulos, 16 se apresentaram infectados (23,5%). Em ambos os casos, a porcentagem de indivíduos do sexo masculino atingidos era bem superior à verificada entre as mulheres.

Esses casos que acabamos de citar, observados em nosso meio, referem-se, apenas, a inquéritos realizados em grupos profissionais. Os casos isolados, descritos na literatura médica brasileira, também se referem, em grande parte, a indivíduos que tiveram contacto profissional com animais.

Os índices nos *profissionais de matadouro* são sempre muito elevados. PURRIEL & Cols., por exemplo, examinaram os trabalhadores relacionados com indústria leiteira ou pecuária do Uruguai, com os seguintes resultados:

Frigorífico Artigas .....	15,47%
Frigorífico Nacional .....	19,00%
Frigorífico Swift .....	8,56%
Frigorífico Anglo .....	5,80%
Usina de pasteurização de leite .....	15,92%
Trabalhadores em fazendas .....	7,81%
Moradores na zona rural .....	1,04%
Operários em indústria têxtil .....	3,72%

Algumas secções dos frigoríficos deram índices até 75%.

Resultados análogos são os de MOLINELLI, em 431 empregados em matadouros, dos quais 56 ou 12,9% deram reações positivas para brucelose.

Há uma profissão muito sujeita à brucelose. É a de *veterinário*. Algumas referências, além das citadas antes, demonstram suficientemente a asserção.

Examinou WILSON certo número de veterinários na Escócia: dos que não haviam até então tocado em placenta, nenhum se mostrou reagente positivo e nos que exerciam a profissão havia 1 ano ou menos, 53,5% eram reagentes positivos.

BEATTIE, a sua vez, examinou estudantes de veterinária: 130 tinham tido contacto anterior com animais e 23% eram reagentes positivos; 52 haviam tido contacto reduzido com o gado e nestes apenas 1,9% eram reagentes positivos. Ou então, dos que fizeram partos ou haviam tocado em placenta, 34,8% reagiram positivamente e nos que não exerciam esta espécie de trabalho, 8,5%, apenas, deram provas positivas.

THOMSEN, em 65 veterinários da Dinamarca, encontrou 61 reagentes positivos; KNOTH, em 17, na Saxônia, 18%; POPPE, no sul da Alemanha, 12,5% em 40.

Dados mais recentes são de BLAWAT, na Polônia, que acentuou o aspecto da brucelose como doença profissional para veterinários e seus auxiliares. Praticando provas de aglutinação, de fixação de complementos e intradérmicas e juntando seus resultados aos de outros pesquisadores de seu País, verificou que 23% dos veterinários mostravam-se infectados, na Silésia. Por outro lado, examinando as respostas a um questionário organizado em 1951, relativo às doenças profissionais, demonstrou BLAWAT a existência de 101 casos de brucelose em 671 veterinários (14,68%), proporção esta semelhante à obtida anteriormente, em 255 pessoas que trabalhavam em estábulos (14,11%).

*Vacina B-19* — Além das infecções contraídas dos animais doentes, os veterinários estão, ainda, sujeitos àquelas causadas pelos próprios agentes imunizantes de que se utilizam para a profilaxia da brucelose bovina. Sem falar das vacinas feitas com germes totalmente virulentos, e que se empregaram durante algum tempo, convém referir os acidentes com a amostra atenuada de *Br. abortus*, chamada B-19.

Devido ao uso generalizado dessa amostra, considerada por muitos, erradamente, como desprovida de patogenicidade, é comum os veterinários e seus auxiliares lidarem com a vacina sem as precauções que teriam se estivessem alertados sobre os perigos que dela podem decorrer. Alguns dos casos mais típicos serão citados a seguir.

Em 1944, GILMAN referiu a infecção num estudante de veterinária que acidentalmente se contaminara por via conjuntival, durante seu trabalho de vacinação de bezerros. Ao contrário do que declararam SPINK & THOMPSON, recentemente, não foi êsse o único acidente com tal origem.

Em 1947, ESPASANDIN & ABARACON relataram o caso dum veterinário que, durante vacinações que procedia em animais, feriu-se acidentalmente com a agulha duma seringa contendo a vacina B-19; depois de reações inflamatórias na mão em que sofrera o acidente, surgiram outros sintomas imputáveis à brucelose. Inicialmente, a sôro-aglutinação foi ao título de 1/50 mas 3 semanas depois subiu a 1/200.

A seguir, em 1951, DOWNING relatou caso semelhante, num fazendeiro que se infectara acidentalmente com a *Brucela* 19, quando auxiliava o serviço de vacinação em seus animais; logo em seguida, em virtude das circunstâncias, foi retirado sangue do indivíduo, sendo a sôro-aglutinação negativa; no mesmo dia, à noite, o fazendeiro começou a sentir mal-estar acompanhado doutros sintomas, inclusive febre; in-sucesso com penicilina e bons resultados com aureomicina. No 3.º dia após o acidente, a sôro-aglutinação foi positiva a 1/640, título êsse que se manteve até três meses e meio depois.

SPINK & THOMPSON descreveram, em 1953, dois casos em veterinários que se inocularam acidentalmente com a amostra 19; ambos manifestaram sintomatologia de brucelose aguda e de um dêles isolou-se uma amostra de *Br. abortus* que, por suas características, foi identificada à amostra 19.

Os autores chamam a atenção para os cuidados com que deve ser manipulada a vacina.

Outro caso, logo a seguir, foi relatado por BARDENWERPER, também em veterinário, tendo sido firmado o diagnóstico em vista do quadro clínico, dos antecedentes e das provas de laboratório, embora não tenha sido isolado o germe causal.

DALRYMPLE-CHAMPNEYS, em 1950, disse ter encontrado, num período de dois anos, certo número de casos em que os pacientes contraíram a brucelose após a injeção acidental de vacina B-19 ou depois de haverem quebrado ampolas que continham a mesma, arranhando-se com os fragmentos de vidro.

---

*Infeções de laboratório* — Os laboratoristas pagam pesado tributo à brucelose. A facilidade de contágio torna esta doença das mais perigosas para êsses profissionais. Pode-se quase afirmar que nenhum dêles escapa à contaminação, tão certa é a mesma. Por isso, CASTAÑEDA, no início, faz com que os neófitos em seu laboratório trabalhem só com a brucela do boi, a menos virulenta das três; depois, com a do porco, antes de confiar-lhes a brucela da cabra, a mais virulenta de tôdas.

A possibilidade de contaminação dos pesquisadores que lidam com brucelas tem sido sempre assinalada. Isto porque êsses germes têm uma resistência relativamente grande aos agentes físico-químicos, sobretudo ao dessecamento.

Nas técnicas habituais de laboratório bacteriológico, formam-se aerossóis que podem passar despercebidos. A bacteriologia clássica não dava importância a êsses fatos; somente há muito poucos anos, graças aos trabalhos realizados em Campo Detrick, no Serviço de guerra bacteriológica do exército norte-americano, tem sido possível reconhecer os perigos de certas técnicas e a maneira de evitá-los.

Desde que o operador esteja lidando com brucelas, sem proteção adequada, os aerossóis conterão, forçosamente, os germes, que pairarão no ambiente, infectantes por longo tempo, constituindo um perigo não só para os laboratoristas como, também, para simples visitantes.

THIAGO DE MELLO enumerou, recentemente, diversas técnicas bacteriológicas suscetíveis de produzirem aerossóis, sugerindo meios de defesa contra êles. São elas as seguintes:

- Centrifugação em tubos ou frascos
- Transferência de material sêco (liofilizado) para tubo, contendo caldo
- Retirada de uma agulha de injeção, de recipiente com rôlha de borracha
- Abertura de frasco ou ampôla contendo material sêco (liofilizado)
- Retirada de rôlha de algodão, de vidro ou de borracha, dum frasco ou tubo
- Fechamento de ampolas ao fogo
- Mudança de líquido, de um recipiente para outro
- Transferência de líquidos, com pipeta
- Fervura de materiais contaminados com germes esporulados
- Separação por centrifugação em "sharples"
- Flambagem de alças de metal ou de vidro
- Mistura de líquidos, com pipeta, aspirando e soprando
- Operações com vácuo. Liofilização
- Necrópsia de animais e, principalmente, cortes de pulmões
- Transporte e deposição de líquidos com alça. Aglutinação, em lâminas
- Introdução de alça num líquido
- Instilação nasal em animais
- Trituração de materiais em liquidificador ("waring blender") ou gral
- Operações com ovos embrionados
- Operações com seringas
- Aberturas de placas de Petri

Como se vê, muitas são as probabilidades de infecção para o técnico que lida com material contendo brucelas. A melhor recomendação a ser feita para sua proteção consiste no emprêgo de câmaras especiais fechados, onde, no interior duma capela, também fechada, fôsse o material manuseado. Neste sentido, são dignos de elogios os esforços da firma norte-americana Kawaunee Mfg. Co., de Michigan, que tem fabricado tipos especiais de câmaras, oferecendo a máxima proteção para os trabalhos bacteriológicos (Fig. 66). Câmaras semelhantes podem ser construídas, mesmo de madeira, oferecendo ampla segurança, embora com tempo de duração mais limitado. PHILLIPS & Cols., de Camp Detrick, divulgaram, em 1955, um tipo de câmara portátil, feito em matéria plástica (Fig. 66-A).

No estado atual do desenvolvimento bacteriológico, o emprêgo de câmaras especiais constituiria quebra da rotina e muitos laboratórios

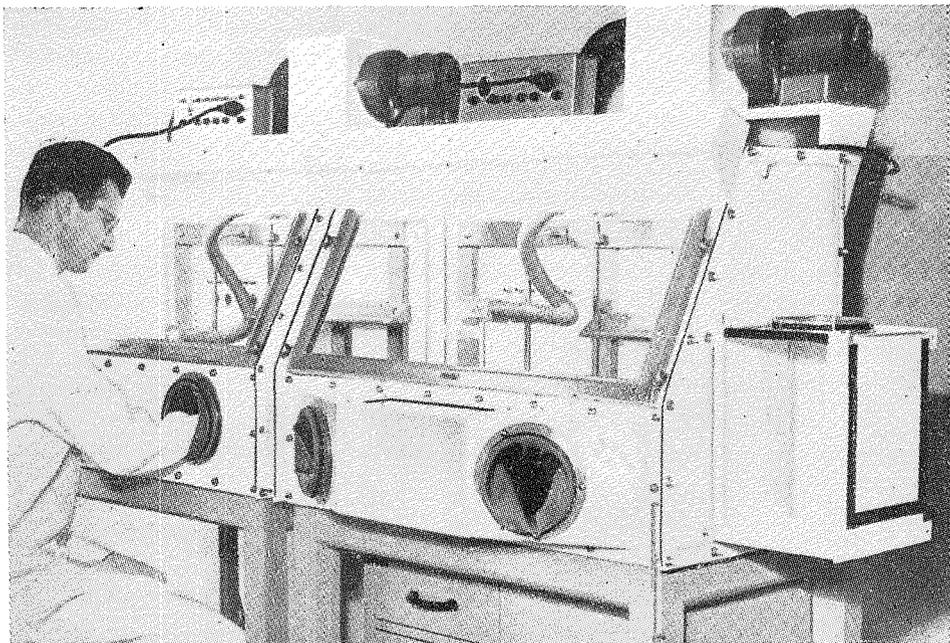


Fig. 66 — Tipo de câmara apropriada ao trabalho com germes altamente infectantes, como as brucelas. Gentileza de Kewaunee Mfg. Co.

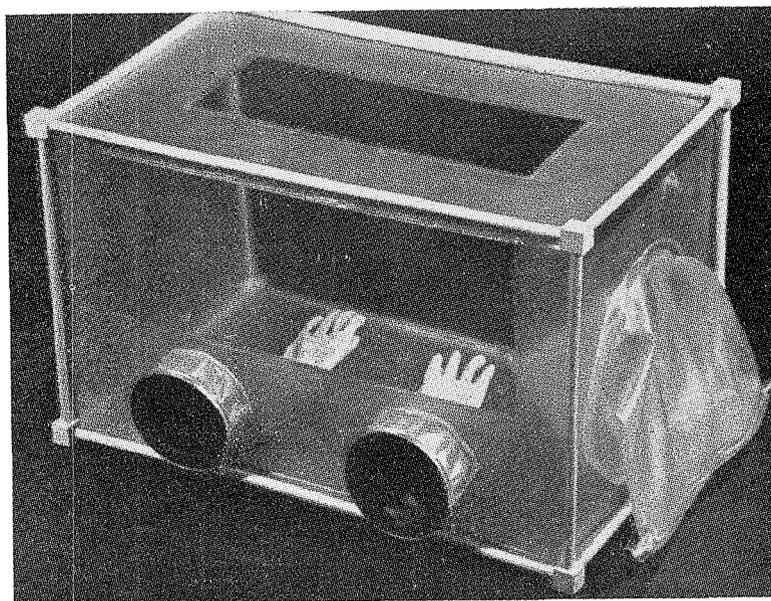


Fig. 66-A — Tipo de câmara para trabalhos com material infectante, feita em matéria plástica. Dimensões de 23" x 23" x 37". Segundo PHILIPS & Co's.

recusam-se a modificar suas técnicas. Contudo, se existir um interesse real na prevenção de acidentes produzidos pelos aerossóis, haverá necessidade de modificação das técnicas bacteriológicas usuais.

Alguns exemplos de acidentes em laboratórios provocados por brucelas podem ser colhidos na revisão de SULKIN & PIKE. Foram essas bactérias causadoras de maior número de infecções do que quaisquer outros agentes infecciosos. Anteriormente, MEYER & EDDIE já tinham feito inquérito semelhante, constatando elevado número de infecções entre técnicos que trabalhavam com brucelas.

SULKIN & PIKE reviram 224 casos de brucelose dessa origem, enquanto o agente infeccioso seguinte que causou maior número de infecções de laboratório foi o bacilo da tuberculose, com 153 casos, seguindo-se o da tularemia com 65, o da febre tifóide com 58, o estreptococo com 55 e outros em menor quantidade. É claro que diversas outras ocorrências escaparam aos inquéritos de MEYER & EDDIE e de SULKIN & PIKE, como as de BISCAY & CARBONELL, que despreveram seus próprios casos, resultantes de manuseio constante de culturas virulentas.

O trabalho clássico de HUDDLESON & MUNGER dá uma idéia dos perigos que encerra o contacto com brucelas, mesmo em laboratórios bem aparelhados; observou-se uma epidemia por *Br. melitensis* em alunos duma universidade, em East Lansing, onde havia um laboratório que efetuava pesquisas com brucelas; o inquérito procedido revelou que a infecção ocorrera pela contaminação do encanamento d'água, em virtude do refluxo desta numa pia onde se depositara material insuficientemente esterilizado.

Outro exemplo bem significativo, sobretudo com relação ao problema dos aerossóis, ocorreu nos laboratórios de Camp Detrick e foi relatado por HOWE & COLS. Em experiências de infecções de animais por meio de aerossóis contendo brucelas, verificaram-se 17 casos de brucelose entre os próprios experimentadores; felizmente para estes, faziam-se na época os primeiros ensaios com a estreptomina e a aplicação desta evitou efeitos desastrosos, já que os casos apresentavam certa gravidade. Para evitar a formação de aerossóis, KAPLAN & ELBERG, nesses laboratórios, imaginaram um dispositivo que permitia concentrar, por filtração, grandes quantidades de *Br. suis*, com segurança.

O reconhecimento do perigo que encerra o trabalho com brucelas nos laboratórios, sobretudo quando se lida com *Br. melitensis* é geral, mas nem sempre se tomam as precauções adequadas e recomendadas por todos os que realmente se interessam pela prevenção de tais acidentes.

Em sua monografia, publicada em 1942, CASTAÑEDA apresenta pequena revisão de casos, baseado, principalmente, no trabalho de MEYER & EDDIE. Assim se refere êle: "Por último, há um modo especial de adquirir a infecção e que tem dado lugar a numerosos casos humanos. Consiste em acidentes de laboratório, pelos quais os cultivos de brucelas, contaminando as mãos, a conjuntiva, a mucosa bucal ou, ainda, o tubo digestivo, provocaram infecção, amiúde virulenta, que chegou a causar a morte. A êste respeito, MEYER & EDDIE fazem bem documentada revisão da literatura, assinalando o caso do Dr. Semple, segundo

comunicação de Wright, em 1897, como o primeiro ocorrido em laboratório. Depois se observaram casos em Malta, na Inglaterra, na Itália e noutros países. O próprio Nicolle foi vítima da infecção, em Tunis. Até o ano de 1922, houve, segundo informes de autores europeus, 64 infecções ocorridas em laboratório, 42 das quais por *Br. melitensis* e 22 por *Br. abortus*. Entre os infectados, houve dois eminentes homens de ciência: Carbonne (1903), na Itália, e MacFadyen (1907), na Inglaterra, que morreram devido à brucelose.

Nos Estados Unidos, as infecções acidentais ocorreram a partir do ano de 1922. Desde então, até 1939, registraram-se 74 casos em diversos laboratórios, sendo 44 em bacteriologistas, 6 em pessoas encarregadas dos animais infectados e o resto em serventes. Estes acidentes colocaram a brucelose entre as infecções mais frequentes de laboratório e por isso não se deve perder de vista o risco que existe em desprezar as precauções que, às vezes, parecem exageradas."

A seguir, refere CASTAÑEDA o caso da epidemia observada em Michigan, descrito por HUDDLESON & MUNGER, em que se infectaram, duma só vez, 41 estudantes, um dos quais morreu. Conclui da seguinte maneira: "Pelo que diz respeito à nossa experiência, apesar das precauções recomendadas ao pessoal de laboratório, tivemos que lamentar três casos em pessoas do Departamento de Investigações Médicas. Um ocorreu em 1940, num bacteriologista, provavelmente ao inocular coelhos com suspensões de *Br. melitensis*. Os outros ocorreram simultaneamente em dois ajudantes. Parece que esta última infecção deveu-se a culturas esterilizadas incorretamente. O primeiro caso foi bastante grave e um dos outros dois teve características de brucelose maligna, complicada com manifestações meníngeas".

No Brasil, já observamos dois casos de infecção em laboratório.

A autópsia de animais infectados constitui um dos mecanismos de contaminação, principalmente quando se pratica o corte dos pulmões. Realmente, nessa ocasião, os ramos da tesoura, ao cortarem o tecido pulmonar, aproximam as paredes alveolares e dos bronquíolos que, em geral, contêm grande quantidade de brucelas; quando os ramos da tesoura se afastam, depois de cortado o órgão, as paredes, devido à sua elasticidade, voltam à posição normal e, então, milhares de finas películas de mucosidade misturada com brucelas se rompem, formando aerossóis.

Noutro ponto de seu trabalho, CASTAÑEDA informa que, "pela extraordinária vitalidade das brucelas nas poeiras, são particularmente perigosas para os trabalhadores dos laboratórios, juntando-se a esta propriedade a de que ao flambarem-se as alças de platina, nos repiques de culturas, as massas de germes, expostas à chama dão lugar a explosões que dispersam partículas insuficientemente aquecidas, capazes de serem fonte de infecção para o operador".

HARRIS transcreve as recomendações de RUTH GILBERT, da Divisão de Laboratório e de Pesquisas do Departamento de Saúde Pública do Estado de New York, em virtude da natureza altamente infecciosa das brucelas que exige precauções rígidas: "Tanto quanto seja possível, trabalhar com um ajudante, numa sala completamente equipada e desti-

nada a êsse fim. Devem ser usados aventais especiais, e quando necessário, luvas, óculos e máscaras, os quais serão colocados num recipiente na sala, para esterilização, depois de usados. No final do dia a área de trabalho e o chão próximo devem ser lavados com solução de cresol a 1%. As agulhas e alças devem ser aquecidas com especial cuidado depois do uso, para evitar espalhamento de partículas. O uso dum enchedor de pipetas, de segurança, ou duma peça intermediária para a bôca, é recomendado, bem como a abertura e o fechamento de todos os recipientes por um auxiliar. Outras precauções recomendadas são: manter a ponta da pipeta acima duma placa de Petri, contendo algodão completamente embebido em cresol a 1%, para recolher quaisquer gotas que possam cair; guardar as culturas e material contaminado que deva ser conservado, em armários fechados a chave ou em recipientes, contendo o nome do germe e o aviso *Cuidado*, escrito com lápis vermelho; deixar os utensílios contaminados em recipientes metálicos e colocá-los num esterilizador; se não houver espaço para os recipientes no esterilizador, marcá-los com as palavras *Não tocar*".

Além dessas precauções, HARRIS recomenda como essencial o emprego de pessoal suficientemente treinado.

Conforme êle bem assinala, o medo das infecções por brucelas nos laboratórios, tem levado muitos hospitais e outras instituições a deixar de efetuar as técnicas necessárias que se relacionem com essas bactérias. Êsse excesso de cautela tem contribuído para as deficiências no diagnóstico da brucelose, encontradas em muitas instituições.

Um aspecto interessante das precauções a tomar com as brucelas, no laboratório, é que nem todos os métodos habitualmente usados são suficientes para destruí-las. Assim, por exemplo, FOSTER verificou que brucelas tratadas com acetona — 11°C durante duas semanas e que aparentemente tinham perdido a parede celular, ainda se mostravam vivas e infectantes.

---

É unânime o consenso da maior infecciosidade da brucela da cabra. De 383 casos enumerados por MOLINELLI, 372 foram causados por brucelas de cabra. Daí resulta que a primitiva noção da predominância de contágio pelo leite, estabelecida na ilha de Malta, precisa ser modificada, pois 50% dos veterinários, 30% dos que trabalham com estrume, 15% dos que operam em matadouros, diz STEELLE, são contaminados de brucelose, dõnde se conclui, acrescenta êle, que o contacto direto com material contaminado é muito mais perigoso que a ingestão de leite cru.

Ficou, assim, bem estabelecido, que a brucelose humana é uma doença adquirida, principalmente, pelo contacto com animais infectados.

Por outro lado, a resenha que fizemos, demonstra claramente que certos grupos profissionais, por serem obrigados a estreito contacto com animais, correm o risco de contrair a doença.

Não insistiremos sôbre a gravidade da infecção nem sôbre a incapacidade temporária ou permanente a que ela obriga os indivíduos doen-

tes, consecutiva às suas diversas modalidades clínicas, assunto que pode ser apreciado em outros pontos.

Tudo isso está a indicar a necessidade da inclusão da brucelose humana como doença profissional para certos grupos de trabalhadores, forçados a contacto profissional com animais possivelmente brucelosos.

PONS & VALENTI, em sua monografia sôbre brucelose humana, organizam um capítulo sôbre "A brucelose como doença profissional: questões médico-legais que suscita" e dizem que "as estatísticas de todos os países demonstram que a morbidade brucelosa é muito mais elevada entre os veterinários, bacteriologistas, fazendeiros, pastôres, açougueiros, trabalhadores em frigoríficos, vaqueiros, leiteiros, jardineiros e, em geral, entre todos os indivíduos pertencentes a classes sociais que, por seus deveres profissionais, se relacionam mais ou menos diretamente com os animais infectados ou com os germes produtores da doença. Esta observação fêz com que muitos autores considerem a brucelose como Doença Profissional. Para alguns autores seria mui oportuna uma legislação que protegesse tais profissionais".

MICHEL-BÉCHET também dedica um capítulo ao estudo da "Brucelose e Medicina Legal", em seu livro editado em 1939, na França. Dêle transcrevemos o seguinte trecho: "Uma afecção tão difundida, de manifestações tão diversas, tão especiais, não poderia deixar de apresentar problemas às vêzes delicados de Medicina Legal. As circunstâncias etiológicas em certas profissões podem originar verdadeira doença profissional. Em suma, trata-se duma doença cujos efeitos são desastrosos sob o ponto de vista social. Há interêsses em estabelecer uma legislação que proteja êsses doentes"...

Risso, em 1947, faz um estudo sôbre a legislação existente a respeito da brucelose no Uruguai e em outros países. Desde 1938, o Banco de Seguros do Estado solicitara a inclusão da brucelose como doença profissional, dentro do regime legal (Lei de acidentes do trabalho); em 1939, reiterou a solicitação; em 1941, foi incluída como doença profissional. De acôrdo com uma lei geral sôbre acidentes do trabalho e doenças profissionais, do mesmo ano, "quando a incapacidade para o trabalho durar mais de 30 dias, a indenização se elevará a 2/3 do salário, a partir do 31.º dia, a contar do dia em que abandonou o serviço". Dadas as características clínicas da brucelose, os trabalhadores doentes praticamente chegam a perceber 2/3 do salário.

Para que se aquilate da importância dada à brucelose no Uruguai, como doença profissional, transcrevemos o trecho em que Risso aponta as diretrizes seguidas e a seguir: "Pelo exposto, vemos que a brucelose, sob o ponto de vista do Seguro, foi aceita como doença indenizável, num sentido sumamente amplo; enquanto certas legislações aceitam apenas uma determinada classe de pessoas no Seguro, tais como sanitaristas e laboratoristas, etc., a nossa não faz distinção nenhuma. Isto equivale a dizer que toda pessoa que atue em meio propenso a contrair a doença pode ser segurada pelo empregador e, conseqüentemente, receberá, no caso de doença, todos os benefícios do Seguro, não só em salários como, também, indenizações por incapacidade permanente parcial ou total, se chegam a ser verificadas lesões que, como as vertebrais,

podem levar a uma incapacidade definitiva. Exemplificamos com o caso Frigorífico Nacional que, por proposta do Serviço Médico, seguiu em grupo, há vários anos, todos os seus empregados. Neste momento está em estudos pelo Diretório do Banco de Seguros do Estado o problema da obrigatoriedade do seguro”.

O mesmo autor cita que na França a notificação de casos de brucelose é obrigatória mas ainda não foi a doença considerada indenizável, enquanto que na Rússia o é, para as pessoas que tenham contacto com animais e produtos de animais infectados (pastôres, trabalhadores em matadouros, zootecnistas, veterinários e pessoal dos laboratórios de bacteriologia).

Na Argentina, a brucelose foi incluída entre as doenças profissionais indenizáveis (Lei n.º 9.688), em 1932. Mais tarde, em 1936, os funcionários públicos também foram beneficiados. São indenizadas, igualmente, as pessoas que se ocupam com certos trabalhos ou profissões, de preferência os sanitaristas e o pessoal dos laboratórios científicos, tal como sucede na Alemanha, na Austrália, na Bulgária, no Canadá, no Chile, em Dantzig, na Espanha, na Suécia, na Tchecoslováquia, etc.

Durante a Primeira Conferência Nacional da Brucelose, realizada em Buenos Aires, em 1947, as resoluções aprovadas sobre o tema “A brucelose como acidente do trabalho (doença profissional)” foram as seguintes:

- 1.º) Proporcionar o seguro da doença, nacional e obrigatório.
- 2.º) Incluir no projeto de lei para a luta contra a brucelose atribuições ao órgão sanitário para:
  - a) exigir e fazer cumprir condições higiênicas e sanitárias do trabalho nos meios em que fôr possível a contaminação.
  - b) obrigar os empregadores a notificar os casos de brucelose que se verificarem em seus estabelecimentos e a dar às autoridades sanitárias facilidades para investigar a doença no homem e nos animais e, bem assim, o mecanismo da contaminação.
  - c) obrigar os empregadores a colaborar com as autoridades na educação sanitária de seus empregados.

Nessa mesma Conferência, alguns trabalhos focalizaram aspectos médico-legais da brucelose humana. CABASSI, por exemplo, organizou pormenorizado ante-projeto de lei para a luta contra a brucelose, incluindo, entre outras coisas, uma “Caixa de seguro dotal contra os riscos da brucelose”, com duas fontes de recurso. A caixa B seria destinada a atender exclusivamente aos gastos resultantes de pessoas doentes de brucelose que, por uma forma ou outra, tivessem adquirido a doença e habitassem o território da província; com essa caixa, seriam pagas as despesas com hospitalização, medicamentos, roupas, alimentos, etc. Os fundos para a mesma seriam fornecidos a) por um “Seguro Operário”, pago pelos empregadores; b) por um imposto por animal abatido, pago pelo fazendeiro; e c) uma terceira parte, paga pelo Estado. A direção geral da companhia teria três núcleos de estudos: Luta contra a brucelose animal — Estudo bacteriológico da doença — Assistência médico-social aos doentes. Nesta última parte, além da assistência

médica aos doentes em fase aguda, seria efetuada a assistência ao lar do enfermo, seriam criados sanatórios de clima e procedida a readaptação ao trabalho dos que não tivessem obtido recuperação completa após o tratamento.

Pelos exemplos que citamos acima, cremos que não é descabido sugerir a inclusão da brucelose humana entre as doenças profissionais, na legislação social brasileira.

De acôrdo com a Portaria n.º SCM-51, de 13-IV-1939, foram consideradas indústrias insalubres aquelas que, por sua própria natureza, ou pelo método de trabalho adotado, eram capazes de produzir doenças, *infecções* ou intoxicações, devendo constar dum quadro anexo à referida Portaria. Dêsse quadro de indústrias insalubres, consta apenas o carbúnculo, entre as doenças infecciosas:

“III — Produtos animais que apresentem perigo de infecção carbunculosa. Grau 1 — Insalubridade máxima: Operações industriais em que haja contacto com quaisquer produtos oriundos de animais carbunculosos. Manipulação ou transporte de produtos oriundos de animais carbunculosos...

XII — Operações diversas ... Grau 2 — Insalubridade média: ... Escarnagem (curtumes)”.

Portarias subseqüentes incluíram outras indústrias e o Decreto-lei n.º 7.036, de 10-XI-1944 modificou o artigo 2.º da lei de acidentes do trabalho, ampliando o conceito de doença profissional:

“Art. 2.º — Como doença, para os efeitos desta lei, entendem-se, além das chamadas profissionais — inerentes ou peculiares a determinados ramos de atividade — as resultantes das condições especiais ou excepcionais em que o trabalho fôr realizado. Parágrafo único — A relação das doenças chamadas profissionais será organizada e publicada pelo Ministério do Trabalho, Indústria e Comércio e revista trienalmente”.

A brucelose deverá ser incluída como doença profissional para os seguintes grupos profissionais:

Veterinários e auxiliares de veterinários.  
Empregados em frigoríficos, matadouros, açougues e lacticínios.  
Empregados em fazendas de criação de animais.  
Laboratoristas.

O amparo a ser concedido aos indivíduos pertencentes a êsses grupos profissionais, quando adquirirem a brucelose, será o mesmo em vigor na legislação trabalhista brasileira. Quando se tratar de funcionário público, êsse amparo será o definido no Estatuto do Funcionalismo Público Civil da União e nos Estatutos semelhantes, em vigor nos Estados, Territórios e Distrito Federal; neste último, por exemplo, o assunto seria regulado pelo artigo 154 do Decreto-lei n.º 3.770, de 28-X-41 (Estatuto dos Funcionários Públicos Cíveis da Prefeitura do Distrito Federal), Decreto-lei n.º 6.435, de 24-IV-1944 (dispondo sôbre a aposentadoria do pessoal extranumerário da Prefeitura do Distrito Fede-

ral) e Decreto-lei n.º 7.417 (que concede aos extranumerários diaristas e tarefeiros da Prefeitura do Distrito Federal, essas mesmas vantagens).

## H — ALIMENTOS COMO FONTES DE INFECÇÃO

A noção dominante até pouco tempo era a da predominância dos alimentos, sobretudo o leite e laticínios, na contaminação humana. Em verdade parece que as populações que tomam leite e laticínios crus ficam muito sujeitas à brucelose.

A primeira idéia sobre a contaminação proveio do leite; na ilha de Malta, foi visto por ZAMITT que 10% das 2.000 cabras da ilha examinadas eliminavam brucelas pelo leite. A proibição de seu uso determinou uma queda espetacular no número de casos entre os soldados ingleses ali aquartelados (Fig. 67), enquanto a incidência na população que não adotou êsse conselho continuou inalterada.

Examinando as fontes de infecção dos casos observados na cidade do México, ANGELINI apura os seguintes percentuais: queijo fresco 70,9, creme cru 12,7, leite cru 17,2. Êstes dados se referem à população geral, porque não há dúvida que nas profissões a situação é bastante diferente, como vimos.

HENRICSSON assinala a freqüência das brucelas no leite do comércio; WINKLER encontrou-as em 35% das amostras, em Leipzig (1919); HETZ, em 4,6%, em Stuttgart (1921), na Alemanha. Segundo ENGEL, 30% dos leites do mercado de Budapest possuíam brucelas vivas e ROGICK as encontrou em 58% de 50 amostras de leite de vacas brucelosas destinadas a um matadouro em São Paulo.

Salienta o papel contaminador do leite o inquérito de MADSEN que, em 209 pessoas com aglutinação positiva, verificou que 43 não tinham contacto com animais.

No quadro abaixo, podem ser vistos os coeficientes de vários pesquisadores.

### *Freqüência de brucelas em leite, segundo vários investigadores*

No leite de vacas infectadas	%	No leite do mercado	%
Bang & Bendixen	28	Carpenter	18
Fitch & Lubbehusen	29	Davies	62
Hayes & Barger	47	Evans	23,4
Krage e Cotton & Collidge	27	Klimmer & Haupt	32
Pfenninger	35	Jones	15,3
Rogick	58	Pullinger	6,3 e 28,2
Seather	34	Sal	30
		Schroeder	12
		Steck	11
Schmidt	50	Wilson & Nutt	8,8

Essas estatísticas são de países onde a pasteurização do leite destinado a comércio não era obrigatória.

A presença de brucelas vivas no leite, indica, de modo claro, seu papel na contaminação e a importância das vacas como disseminadoras de brucelose, sobretudo tendo em conta que a eliminação das brucelas pelo leite se processa durante meses ou por todo o período da lactação

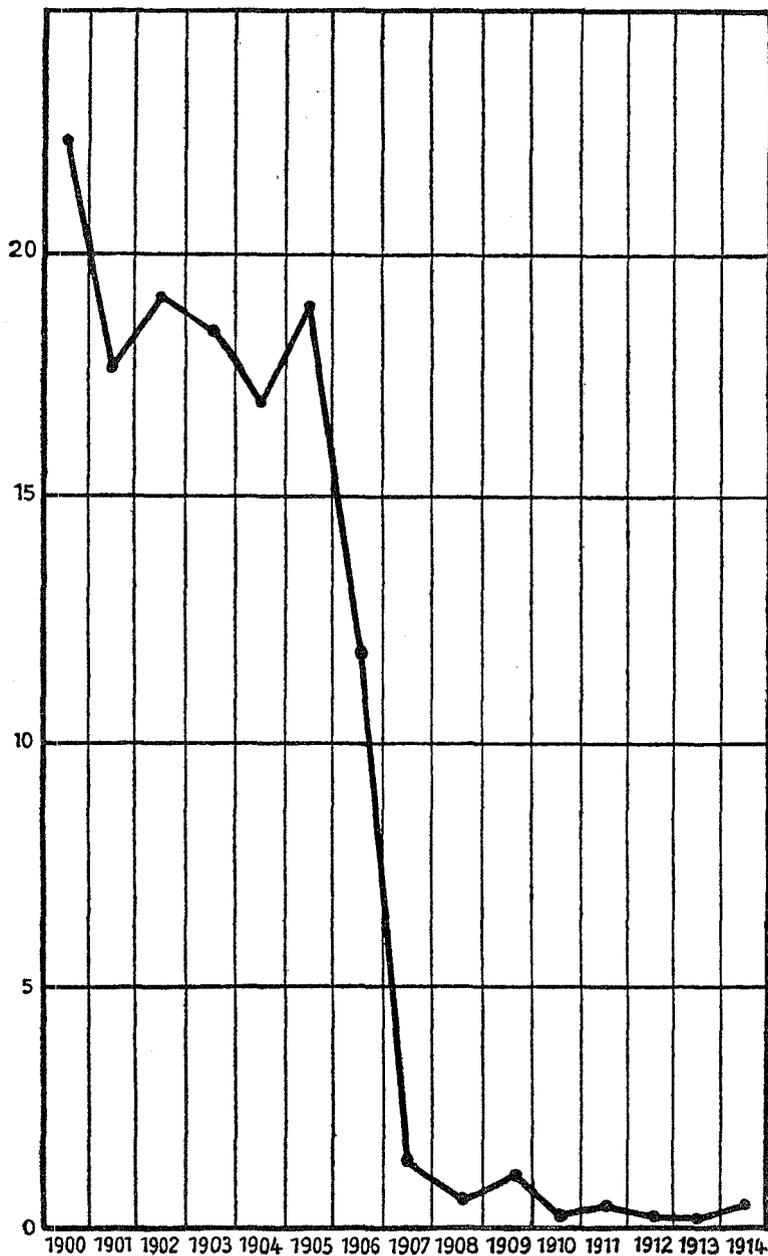


Fig. 67 — Diminuição do número de casos de brucelose entre os soldados ingleses da Ilha de Malta, após a proibição do uso de leite cru. Segundo STEPHENS, em SIGNORELLI.

Outra conseqüência muito importante para a transmissão e para a profilaxia da brucelose veiculada pelo leite é a possibilidade de sobrevivência das brucelas nos laticínios. Em muitos países não se faz pasteurização do leite a ser industrializado. Creme, manteiga, sobretudo a manteiga doce, quase a única fabricada no Brasil, queijo, mormente os queijos frescos ou de cura rápida, podem apresentar brucelas.

A sobrevivência do germe nos alimentos e a verificação de sua presença no leite e nos laticínios do comércio, provam suficientemente que tais alimentos veiculam o germe e o vão disseminando por toda parte. É este o mecanismo das contaminações nas cidades, de pessoas que não vão ao campo, tampouco têm contacto com animais, carnes e derivados, crus. Portanto, a viabilidade das brucelas nos alimentos não cozidos trouxe a possibilidade de sua disseminação nos centros urbanos, sobretudo depois das facilidades atuais do transporte das zonas rurais, a qualquer distância, de alimentos frescos ou conservados crus.

Em resumo, leite e laticínios, carnes, conservas de carnes podem veicular o germe com facilidade. DE LA GARZA, apurando a origem alimentar para infecções no México, encontrou como fontes de infecções:

Queijo fresco de cabra .....	42,72%
Queijo fresco de vaca .....	28,18%
Creme de leite .....	12,72%
Leite de vaca, cru .....	10,00%
Leite de cabra, cru .....	7,27%

Animais em lactação, com perfeita saúde aparente, eliminam brucelas pelo leite; outros, mesmo com sôro-aglutinações positivas, não são eliminadores. De outro lado, a eliminação nem sempre é contínua, podendo ser intermitente, com intervalos de semanas e meses, sem a presença de brucelas no leite eliminado. A bacteriolactia, em geral, é um fenômeno tardio na infecção. Nas cabras infectadas artificialmente ela ocorre após 70 dias da presença de aglutininas no sangue.

Esclarece bem o papel da ingestão de leite nas contaminações o que observaram STONE & BOGEN, em 3 instituições com numerosas pessoas. De 200 soros examinados, verificaram: a) numa instituição de pessoas que ingeriram leite cru de plantel altamente contaminado, 35% de sôro-aglutinações positivas; b) noutra, que o usaram de plantéis menos contaminados, 12%. Na primeira instituição, nenhuma das pessoas apresentava provas positivas no momento da sua admissão. De 842 indivíduos, antigos residentes, 65 apresentaram reações positivas; em 12 empregados, uma reação positiva; em 176 recém admitidos, nenhuma reação positiva.

HARRIS refere 2 casos em crianças e MOLINELLI & Cols. dois outros, de crianças contaminadas pelo leite materno.

HARRIS conta uma interessante observação de um médico de New York que se infectou pela ingestão de um queijo italiano, tipo Parmejane, no qual encontraram-se brucelas.

Determinaram GILMAN & Cols. que nos queijos preparados com leite de vacas brucelosas eliminadoras de brucelas, os germes conservaram-

se vivos durante 6 meses após a preparação, dos lacticínios, confirmando verificações de DRESCHER & HOPFENGARTNER e de THOMPSON.

Outros alimentos são capazes de transmitir a brucelose, além do leite e dos lacticínios. Carnes cruas, bifes crus ou mal passados, saladas, águas contaminadas, são elementos a levar em conta na transmissão da doença. Para tanto, deve-se saber da sobrevivência das brucelas em vários alimentos. É o que nos informa o quadro de LUSTIG & VERNONI, registrado no tratado de KOLLE & WASSERMANN:

*Viabilidade de brucelas em alimentos e outros materiais*

Material	Autor	Dias
Leite de cabra esterilizado, contaminado com urina normal artificialmente infectada....	Shaw	3
Leite de cabra esterilizado, contaminado com urina naturalmente infectada.....	Shaw	38
Leite de cabra esterilizado, contaminado.....	Kennedy	10 a 16
Leite de cabra, esterilizado, contaminado com <i>Br. melitensis</i> , adicionado de fermento lácteo	Darbois	18
Leite de cabra contaminado natural ou artificialmente, a 0°C .....	Neri	40 ou mais
Queijo sem sal, de leite de cabra contaminado.....	Eyre	2
Idem, de leite de cabra natural ou artificialmente contaminado.....	Neri	15-44 ou mais
Manteiga.....	Donzello	25
Frutas conservadas à temperatura ambiente.....	Furnari	22
Verduras (em salada).....	Donzello	15-17
Cebolas.....	Donzello	6
Vinho c/14-18° alcoólico.....	Signer, Donzello	menos de 1
Cerveja.....	Signer, Donzello	1 1/2
Vinagre.....	Donzello	menos de 1
Água de bica esterilizada.....	Horrocks, Gilmour	6-40
Idem.....	Shaw	50
Idem.....	Gilmour	6-42
Idem, resfriada.....	Signer	menos de 5
Idem, não esterilizada.....	Gilmour	7
Idem, idem.....	Shaw	10-72
Água de cisterna.....	Gilmour	2
Idem, esterilizada.....	Gilmour	12
Água potável.....	Signer, Fiorentini	5
Água do mar.....	Signer, Fiorentini	5
Idem.....	Shaw	11-46
Idem.....	Gilmour	1
Idem, esterilizada.....	Horrocks	25
Idem, esterilizada e não esterilizada.....	Gilmour	12-13
Urina de doente, com acidez natural.....	Kennedy	2-22
Idem, com fermentação amoniacal.....	Horrocks	6

Material	Autor	Dias
Idem, esterilizada.....	Shaw	17-33
Idem, não esterilizada.....	Shaw	2-49
Idem, diluída em água esterilizada, a 1/100.....	Shaw	9-79
Lama de cisterna.....	Gilmour	2
Idem, esterilizada.....	Gilmour	21
Terra esterilizada, seca.....	Horrocks	69
Idem, úmida.....	Horrocks	7
Poeira de estrada, de Malta, seca.....	Horrocks	42
Idem, idem, úmida.....	Horrocks	72
Idem, de Palermo, seca.....	Donzello	14
Idem, idem, úmida.....	Donzello	18
Areia esterilizada, seca.....	Horrocks	20
Poeira de estrada, esterilizada, misturada com urina infectada e dessecada ao ar.....	Kennedy	30-44
Poeira de estrada e terra não esterilizada.....	Horrocks	20-38
Terra de jardim, estéril, seca..	Gilmour	60
Pazendas diversas embebidas em urina contaminada e dessecadas.....	Kennedy	13-17
Idem, contaminadas com culturas e dessecadas.....	Horrocks & Cols.	80
Superfície de vidro, papel de filtro e de cigarros, umedecidos com culturas e dessecados.....	Horrocks & Cols.	16-21

Ficou patenteada, pela leitura do quadro, a relativa resistência das brucelas em diversos meios e nos mais diferentes alimentos.

Nos líquidos ácidos ou alcoólicos (vinagre, cerveja), a sobrevivência foi curta, mas em vegetais frescos (salada) foi tão longa como nos outros alimentos.

Todavia, MAZÉ & CEZARI verificam curta viabilidade, de 48 horas apenas, em leites acidificados e resistência de 5 dias em vários tipos de queijos preparados com leite de cabra.

Aliás, a relativa resistência das brucelas à acidez e à alcalinidade pode ser vista em experiências por nós realizadas. Suspensão de *Br. melitensis*, em concentração igual à da turvação do tubo n.º 9 da escala de McFarland, era adicionada à solução ácida (HCl) ou alcalina (NaOH); em tempos determinados, uma gota da mistura era passada para caldo peptonado. Houve maior sensibilidade ao álcali que ao ácido, se bem que não tenhamos experimentado ácidos orgânicos.

MINGLE surge-se contra a idéia do predomínio do leite como fonte de infecção, oferecendo dados comprobatórios da origem carnea para a maioria dos casos de Utah e de Iowa, nos Estados Unidos.

Recentemente, McCULLOUGH verificou que as carnes defumadas podem reter brucelas vivas, até meses depois de preparadas e expostas à venda.

O que não há dúvida, é que os alimentos representam papel significativo, e CAMARGO & COLS. atribuem-lhes 80% das contaminações, no México.

## I — CONTÁGIO

O contágio inter-humano, se existe, é bastante raro. Acentuam MAZZETTI & TESI que os que cuidam dos doentes (médicos) até os que tocam no sangue infectado (enfermeiros, pessoas da família) raramente adoecem, mesmo em se tratando de casos provocados pela brucela da cabra, que é a que mais vêzes provoca infecções agudas, portanto, mais visíveis clinicamente. Contudo, SPINK descreveu recentemente vários casos numa família, originários, ao que parece, não por contágio recíproco e sim por uma fonte única de germes, o leite infectado por *Br. abortus*.

Levando em consideração que os pacientes eliminam brucelas pela urina, fezes e suor, pode-se pensar que o número de germes assim eliminados não seja suficiente a produzir a infecção, como admitem MAZZETTI & TESI, comparando com a quantidade eliminada pelo leite, placenta, fluxo vaginal e esperma. Todavia, algumas observações existem, admitindo essa possibilidade, embora sempre reduzida.

Sendo o contágio inter-humano, a bem dizer, desprezível, fica, o assinalado com produtos contaminados, uma das fontes principais da doença. Parece, mesmo, que a origem animal é condição necessária para vingar a contaminação humana. Aliás, não é a única doença infecciosa em que essa anomalia se observa. Na psitacose, na febre amarela, e ainda em outras, o fenômeno tem sido bem observado.

Talvez a explicação de MAZZETTI & TESI não represente a verdade. É possível que em ambos os casos a passagem ou a origem animal seja uma condição indispensável ao aumento da atividade infectante do agente patogênico. É admissível também, que a transmissão ao organismo humano (que não é o ambiente natural do germe e ao qual ele se adapta por uma contingência de momento) traga-lhe as mesmas modificações de virulência que costumam sobrevir nas condições artificiais de cultura. É uma hipótese para trabalho.

Foi visto que a zoonose se prolonga no tempo e que o germe é eliminado pelas excreções, pelas secreções e pelos órgãos lesados, quando há lesões abertas. Acrescendo-se a isto a facilidade de penetração do agente infectuoso, aí estão condições que facilitam enormemente o contágio.

Nos animais, este se faz principalmente por via digestiva, por intermédio de alimentos contaminados, através das mucosas do tubo gastrointestinal, desde a boca.

A cópula é outra fonte de contaminação animal bem verificada, conseqüente à freqüência de lesões no aparelho reprodutor do macho.

Eventualmente, a pele pode ser penetrada pelo germe. As provas experimentais, levadas a efeito desde NICOLLE a MORALES-OTERO, em animais e no homem, são conclusivas a este respeito.

Como fontes de germes, podem-se considerar os animais domésticos em primeiro plano, particularmente a cabra, o boi e o porco. Localizan-

do-se as brucelas em todos os órgãos e tecidos desses animais, há que considerá-los todos potencialmente contagiantes, quando infectados.

Alguns órgãos ou aparelhos do organismo animal são mais vezes elementos de transmissão pelo relativo organotropismo das brucelas. Os órgãos de reprodução, os gânglios e os ossos chatos (mais ricos de tecidos do sistema retículo endotelial), as vísceras abdominais, fígado, baço, rins, principalmente os focos inflamatórios e supurativos, por acaso existentes, são fontes de infecção.

O contacto com animais infectados, excretadores intermitentes ou permanentes de brucelas, constitui, para os que lidam com eles, a fonte mais freqüente de contaminação. O contágio repetido depende de duas circunstâncias:

a) Uma, do prolongamento da infecção. Nas doenças de contagiosidade reduzida, como a lepra e a tuberculose, por exemplo, é a repetição do contacto com o germe, sempre presente por largo tempo nas excreções e secreções, que faz a contaminação quase obrigatória. Mostraram MANTHEI & CARTER, em Beltsville, com efeito, que as brucelas permanecem no organismo animal longo tempo. Porcas infectadas conservam brucelas nos órgãos genitais pelo menos 35 meses e no porco 51 meses, enquanto as cabras as conservam no úbere pelo menos 2 anos. A brucelose realiza, mais que nenhuma outra doença, esta condição, os germes permanecendo indefinidamente no organismo animal que os vai eliminando sempre para o ambiente.

b) A outra condição é a do contacto aproximado. Infectando de preferência animais domésticos, gera-se uma aproximação mais do que freqüente dos germes com o homem, máxime em certos países de clima temperado ou frio, nos quais os estábulos são localizados junto das habitações, quando não dentro delas, sobretudo no pavimento inferior. Acrescente-se a falta de higiene, muitas vezes presente, e aí temos condições em extremo favoráveis à disseminação.

Em muitos países e regiões, como México, Oeste argentino, regiões montanhosas da Espanha, a maioria da população é muito pobre e vive em estado de carência alimentar considerável, favorecendo mais ainda a implantação do germe.

Outros animais domésticos, os chamados animais de laboratório, cobaia, coelho, rato, camundongo, podem infectar-se espontânea ou artificialmente e assim transmitir a doença a outros animais e ao homem. Rossi descreve uma epizootia em criação de cobaias, em que mais de 1.000 destes animais foram atingidos.

Além dos animais domésticos (bois, cabras, carneiros, cães, aves), animais em estado selvagem podem possuir brucelas, embora menor significação pareçam apresentar para a difusão da doença. Na França, por exemplo, VERGE verificou infecção espontânea nas lebres selvagens, bem como JACOTOT & VALLÉE a observaram. MANCERA conseguiu transmitir experimentalmente a brucelose, fazendo picar animais por carrapatos infetados. Admite êle que moscas e percevejos sejam transmissores, pelo menos pelo contacto das suas fezes com a pele sadia.

Mantendo-se vivas as brucelas sôbre a superfície de vidros e em panos dessecados, isto aumenta sobremodo a possibilidade de contaminação do ambiente. A sobrevivência no solo úmido ou, mesmo, na poeira, facilita a penetração pela pele dos pés humanos e de animais, ou pelas vias digestivas e respiratórias, nos estábulos e currais.

Um mecanismo interessante a ser levado em conta é o da formação de aerossóis durante a mungidura e em outras oportunidades, no manuseio dos animais. Na defecação, na micção e na mungidura, a produção de aerossóis é enorme, contaminando o ar ambiente. De outro lado, o aerossol é uma condição em extremo favorável à sobrevivência dos germes e à sua disseminação e penetração pelas mucosas.

Realmente, êsse deve ser um meio importante de contágio no meio rural.

---

Podemos resumir a epidemiologia da brucelose no seguinte quadro, adaptado de EISELE:

*Epidemiologia da brucelose humana*

I — Animais ao homem, através de laticínios e outros produtos alimentares de origem animal (via gastro-intestinal)

A — Produtos não pasteurizados

- 1 — Leite
- 2 — Creme
- 3 — Coalhada
- 4 — Manteiga
- 5 — Queijo
- 6 — Sorvete
- 7 — Outros produtos de origem animal

B — Produtos mal pasteurizados

II — Animais ao homem, por contacto directo (via cutânea)

A — Animais que apresentam a infecção

- 1 — Bovinos
- 2 — Porcos
- 3 — Cabras
- 4 — Carneiros
- 5 — Cavalos
- 6 — Cães
- 7 — Aves

## B — Grupos profissionais atingidos

- 1 — Empregados em fazendas
- 2 — Trabalhadores na indústria de laticínios
- 3 — Magarefes e outros empregados em matadouros e frigoríficos
- 4 — Veterinários

III — Animais ao homem, por meio de aerossóis (via respiratória)

IV — Infecções em pessoal de laboratório

V — Modos possíveis mas sem evidência de importância na transmissão natural da doença

- A — Cópula
- B — Leite materno
- C — Insetos
- D — Água
- E — Aves

---

BIBLIOGRAFIA

- ABRAMS, H. & WARR, P.  
1951. *Industrial Med. Surg.*, 20(8):341-351.
- ALESSANDRINI, A. & DOMINICI, D.  
1936. *Ann. d'Igiene*, 46(3):97-113.
- ALIVISATOS, G. P.  
1953. *WHO/Bruc. Inform. Series*, Aug., n.º 99.
- AMARAL, J. P. & Cols.  
1953. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 13:169-186.
- ANDERSON, F. M.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 220-224.
- ANGELINI, A.  
1948. *Prim. Reunion Interam. Bruc.*, México, 1946: 161-167.
- AVERY, H.  
1942. *J. Trop. Med. Hyg.*, 45(19):145-153.
- BANG, O. & BENDIXEN, H. C.  
1928. Em Poppe.  
1931. Em Huddleson.
- BARDENWERPER, H. W.  
1954. *J. A. M. A.*, 155:970-971.
- BEATTIE, C. P.  
1938. *J. Hygiene*, 38:260-268.
- BELGRANO, C. R.  
1948. *La Sem. Medica*, 55(2822):245-255.  
1948. *Rev. Med. Ciencias Afines*, 10(5):210-219.

- BENDTSEN, H. & Cols.  
1954. Nord. Vet.-Med., 6:11-21.
- BER, A.  
1933. C. R. Soc. Biol., 113:1269-1270.
- BERTOLLI, B.  
1952. Rev. Dep. Saúde Paraná, 2:137-139.
- BIERRING, W. L.  
1929. J. Amer. Med. Assoc., 93(12):897-903.
- BIRCH, R. R.  
1932. Cornell Vet., 22:134. Em Huddleson.
- BISCAY, V. M. & CARBONELL, A. F.  
1951. Rev. Med. Cubana, 62(3):151-161.
- BLAWAT, F.  
1953. Bull. Inst. Mar. Trop., Polonia. Res. Rev. Vet. Militar, Bs. Aires, 1955, 3(10):393.
- BRUCE, D.  
1887. Practitioner, 39:161-170.  
1893. Ann. Inst. Pasteur, 7:289-304.
- CABASSI, E.  
1947. Primera Conf. Nac. Bruc., Bs. Aires, Julio: 91-102.
- CALIRI, F.  
1929. Giorn. Batt. Imun., 4:941.
- CAMARGO, C. & Cols.  
1948. Em Pacheco.  
1948. 2.º Congr. Interamer. Bruc., Bs. Aires. Mem. não publicadas.
- CANTALOUBE, P.  
1911. La Fièvre de Malte en France. Paris: 255 pp.
- CARPENTER, C. M.  
1926. Em Poppe.  
1943. Em Harris.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucellosis, Mexico: 253 pp.  
1948. Informação pessoal.
- CAUSEY, C. E. & AZEVEDO, M. C.  
1947. Rev. Serv. Esp. Saúde Públ., 1(1):77-86.
- COSTA, G. A.  
1949. Informação pessoal.
- CRISCUOLO, E.  
1948. Em M. Thiago de Mello, Brasil-Médico, 1950, 63(22-30):93-98.  
1948. 2.º Congr. Interamer. Bruc. Bs. Aires. Mem. não publicadas.
- CRIVELLARI, C. A.  
1948. Em M. Thiago de Mello, Brasil-Médico, 1950, 63(22-30):93-98.  
1948. 2.º Congr. Interamer. Bruc. Mem. não publicadas.
- CUNHA, J. B. DA & BIFONE, J.  
1950. Bol. Div. Def. San. Animal, 1:66-87.

- DALRYMPLE-CHAMPNEYS, W.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Aug., n.º 9.
- DAMON, S. R. & COLS.  
1950. J. Amer. Vet. Med. Ass., 117(880):39-40.
- DARLEY, W. & GORDON, R. W.  
1947. Ann. Int. Med., 26:528-541.
- D'ANTUONO, G.  
1953. L'Igiene Moderna, 46(5-6):257-274.
- DAVIS, C. L.  
1937. North Amer. Vet., 18:48. Em Huddleson.
- DOOLEY, P.  
1932. Arch. Int. Med., 50(3):373-379.
- DOWNING, C. W.  
1951. Vet. Med. Em Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):62.
- DRESCHER & HOPFENGÄRTNER  
1930. Münch. Tierärztl. Woch., 81. Em Gilman & Marquardt.
- DUBOIS, M. R.  
1911. Rev. Vét. Mil., 68:129. Em Huddleson.
- DUBOIS, C. & SOLLIER, N.  
1932. Ann. Inst. Pasteur, 48(3):372-376.
- EISELE, C. W.  
1947. Med. Clin. North Amer., 31(1):182-197.
- ENGEL, R.  
1938. Z. Bakt., 142:165-168.
- ESPASANDIN, J. & ABARACON, D.  
1947. Mem. Primer Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 501-505.
- EVANS, A.  
1947. Am. J. Publ. Health, 37(2):139-151.
- FARBAR, M. E. & MATHEWS, F. P.  
1928-29. Ann. Int. Med., 2(3):875-880.
- FELDMAN, W. H. & OLSON JR., C.  
1935. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 86:153-161.
- FELDMAN, W. H. & COLS.  
1935. J. Inf. Dis., 56:321-332.
- FELSENFELD, O.  
1951. Iowa Sta. Coll. Vet., 13(2):89-92.
- FELSENFELD, O. & COLS.  
1951. Amer. J. Vet. Res., 12(42):48-54.
- FIorentINI, P.  
1907. Lav. Ist. Clin. Med. Gen., 2:43. Em Harris.
- FITCH, C. P. & LUBBEHUSEN, R. F.  
1926. Cornell Vet., 16:4. Em Poppe.
- FOSHAY, L.  
1940. Amer. J. Clin. Path., 10(2):176-187.

- FOSTER, J. W.  
1952. Informação pessoal.
- GARZA, A. A. DE LA  
1947. *Salubridad & Asist.*, 7(6):611-633.
- GILMAN, H. L.  
1944. *Cornell Vet.*, 34:193.
- GILMAN, H. L. & COLS.  
1946. *J. Dairy Science*, 29(2):71-85.
- GILMAN, H. L. & MARQUARDT, J. C.  
1951. *J. Milk & Food Techn.*, 14(2) Em separata.
- GRANDI  
1933. *La Nuova Vet.*, 4:305.
- GWATKIN, R. & PEART, A. F. W.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept. 1949: 209-219.
- HARDY, A. V. & COLS.  
1936. *J. Amer. Med. Assoc.*, 107(8):559-564.
- HARRIS, H. J.  
1943. *Bull. New York Acad. Med.*, 19(9):631-655.  
1950. *Brucellosis (Undulant Fever)*. 2nd ed., rev. New York: 617 pp.
- HAYES, F. M. & BARGER, C. H.  
1935. Em Huddleson.
- HENRICSSON, E.  
1932. Em Morse.
- HETZ, J.  
1921. Em Poppe.
- HOEDEN, VAN DER J.  
1932. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 59:1383-1396; 1446-1460. Em Morse.
- HORROCKS, W. H. & KENNEDY, J. C.  
1906. *J. Trop. Med.*, 9:138-139.
- HOWE, C. & COLS.  
1947. *New Eng. J. Med.*, 236:741-747.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. *Brucellosis in Man and Animals*. Rev. ed., New York: 379 pp.
- HUDDLESON, I. F. & EMMEL, M. W.  
1929. *Tech. Bull. n.º 103*, Mich. Agric. Exp. Station. Em Felsenfeld & ColS.
- HUDDLESON, I. F. & MUNGER, M.  
1940. *Amer. J. Publ. Health*, 30(8):944-954.
- IMAZ, C. M.  
1947. *Mem. Primer Congr. Nac. Bruc.*, Montevideo: 269-272.
- Institut Scientifique d'Etat de Tachkent (Turkestan)  
1935. Em "Arch. Intern. Brucelloses", 1938, 1(1):33-35.
- JACOTOT, H. & VALLÉE, A.  
1951. *Ann. Inst. Pasteur*, 80(1):99-101; (2):214-215.
- JONES, E. R.  
1943. *J. Path. Bact.*, 55(3):357-362.

- JORDAN, C. J.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 143-154.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 98-115.
- JÖRGENSEN, H.  
1943. Maanedsskrift f. Dyrl., 54:116-123.
- KAPLAN, A. M. & ELBERG, S.  
1946. J. Bact.: 52(5):513-517.
- KLIMMER, M. & HAUPT, H.  
1923. Virch. Arch., 242:350-354.
- KLING, C.  
1928. Off. Int. Hyg. Publ., 20(9):1401-1407.
- KNOTH, M.  
1930. Dtsch. Tierärztl. wschr., 38:822. Em Wilson & Miles.
- KRAGE, P.  
1926. Em Poppe.
- LANGMUIR, A. D.  
1951. Publ. Health Rep., 66(13):387-399.
- LUSTIG, A. & VERNONI, G.  
1928. Em W. Kolle, R. Kraus & P. Uhlenhuth-Handbuch d. Path. Mikroorg., 3.<sup>a</sup> ed., Band 4, Teil 1:511-584.
- MADSEN, T.  
1928. Off. Int. Hyg. Publ., 20(9):1395-1400.
- MANTHEI, C. A. & CARTER, R. W.  
1950. Amer. J. Vet. Res., 11(39):173-180.
- MANZULLO, A.  
1935. Folia Biol., (46-48):211-215.
- MARIOTTE, C. O.  
1948. Prim. Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 169-185.
- MAUBECIN, R. A.  
1948. Em Pacheco.  
1948. 2.<sup>o</sup> Congr. Interamer. Bruc., Bs. Aires. Mem. não publicadas.
- MAZÉ, P. & CEZARI, E.  
1931. C. R. Soc. Biol., 108:630-632.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325.
- MCCULLOUGH, N. B.  
1950. Em Pacheco.
- MEYER, K. F. & EDDIE, B.  
1941. J. Inf. Dis., 68:24-32.
- MICHEL-BÉCHET, R.  
1939. Localisations viscérales et aspects chirurgicaux des brucelloses. Paris: 168 pp.
- MINGLE, C. K.  
1948. Em Pacheco.  
1948. 2.<sup>o</sup> Congr. Interamer. Bruc., Bs. Aires. Mem. não publicadas.

- MINOPRIO, J. L.  
1948. Em Pacheco.  
1948. 2.º Congr. Interamer. Bruc., Bs. Aires. Mem. não publicadas.
- MOLINELLI, E. A.  
1933. *Semana Méd.*, 1(14):1176-1179; 2(50):1919-1923.  
1934. *Semana Méd.*, 2(43):1248-1258.  
1934. *Rev. Asoc. Med. Arg.*, 48(337):863-884.
- MOLINELLI, E. A. & Cols.  
1942. *Proc. Sixth Pacific Sci. Congr.*, Berkeley, 1939: 267-291.  
1950. 3rd Interam. Congr. Bruc., Washington, Nov.: 15-27.  
1951. *La Prensa Med. Arg.*, 38(16):947-954.
- MORALES-OTERO, P.  
1949. *Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med.*, 24(4):355-361.  
1948. *Studies of Brucella infection in Puerto Rico*. San Juan: 173 pp.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 204-208.
- MORSE, E. V.  
1951. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 119(895):304-308.
- MORSE, E. V. & Cols.  
1951. *Amer. J. Vet. Res.*, 12(45):324-325.
- NEGRO, G.  
1937. *Giorn. Batt. Immun.* 19:17-28.
- NICOLLE, C. & CONSEIL, E.  
1910. *Arch. Inst. Pasteur Tunis.* (3):83-91.
- PACHECO, G.  
1949. *Rev. Bras. Med.*, 6(4):282-284.  
1951. *Brasil-Médico*, 65(14-15):137-139.
- PÉRES, J. N. & Cols.  
1945. *An. 3.º Congr. Bras. Vet.*, Pôrto Alegre, Out.: 558-564.
- PFENNINGER, W.  
1923. Em Poppe.
- PHILLIPS, G. B. & Cols.  
1955. *Appl. Microb.*, 3(4):216-217.
- POLENGHI, F. D. & Cols.  
1953. *XI Congr. Bras. Hig.*, Curitiba: 32 fls. mimeogr.
- PONS, A. P. & VALENTI, P. F.  
1944. *La Brucelosis Humana (Fiebre de Malta-Enfermedad de Bang)*, Barcelona: 251 pp.
- POPPE, K.  
1929. Em W. Kolle, R. Kraus & P. Uhlenhuth, *Handb. d. Path. Mikroorg.*, 3.ª ed., 6(2):693-749.
- Primera Conf. Nac. Brucellosis  
1947. Buenos Aires, Julio: 62.
- PULLINGER, E. J.  
1934. *Lancet*, 226, 1:967-971.
- PURRIEL, P. & Cols.  
1945. *Acción Sindical*, 7(1):25-36.
- RISSO, H.  
1947. *Mem. Primero Congr. Nac. Bruc.*, Montevideo, Dic.: 564-566.

- RITA, L. & COLS.  
1948. *Ann. d'Igiene*, 58(4):205-229.
- ROGICK, F. A.  
1940. *Rev. Ind. Animal, N. S.*, 9, 3(1):7-33.
- ROSSI, F. A.  
1941. *Rev. Med. Ciencias Afines*, 3(12):862-872.
- ROSSI, F. & CEDRO, V. C. F.  
1949. *Gac. Vet.*, 59. Em separata.
- RUCHELLI, A. P.  
1935. La fiebre ondulante en el Noroeste de la Provincia de Catamarca. Tese. Fac. Med. Buenos Aires: 243 pp.
- SAL  
1938. Em Engel.
- SCHLÖGEL, F.  
1953. *O Hospital*, 43: 405-409.
- SCHMIDT, H. J.  
1948. Primera Reunion Interam. Bruc., México, 1946: 155-160.
- SCHROEDER, E. C. & COTTON, W. E.  
1911. *Amer. Vet. Rev.*, 40:195-206. Em Schmidt.
- SEATHER  
1923. Em Henry, B. S. & Col. Resumo em *Rec. Méd.*, 1936, 112(5):297-298.
- SIGNORELLI, S.  
1941. *L'Infezione Brucellare nell'Uomo*, Napoli, 327 pp.
- SILVA, N. N. DA  
1942. Atas XI Conf. San. Panam., Rio: 256-263.  
1943. *Arq. Dep. Estadual Saúde, R. G. Sul*, 4:7-14.  
1947. *Hospital*, 32(6):925-938; *Mem. Primer Congr. Nac. Bruc.*, Montevideo, Dic.: 86-100.  
1949. *Congr. Méd. Comem. Cincoent. Fac. Med. Pôrto Alegre, Março*: 4 pp.
- SPINK, W. W.  
1953. *Bull. W.H.O.*, 9:385-398.  
1954. *Amer. J. Med. Sciences*, 227(2):128-133.
- SPINK, W. W. & MAGOFFIN, R. L.  
1950. 3rd. Interamer. Congr. Bruc., Washington, Nov.: 94-103.
- SPINK, W. W. & THOMPSON, H.  
1953. *J. A. M. A.*, 153:1162-1165.
- STECK  
1918. Em Poppe.
- STEELE, J. H.  
1949. *Bol. Of. San. Panam.*, 28(10):1028-1033.
- STONE, R. V. & BOGEN, E.  
1935. *Amer. J. Publ. Health*, 25(5):580-588.
- SULKIN, S. E. & PIKE, R. M.  
1951. *Amer. J. Publ. Health*, 41(7):769-781.
- THIAGO DE MELLO, M.  
1954. *Ciência e Cultura*, 6(4):201-202.

- THOMPSON, R.  
1933. Can. Med. Assoc. J., 29:9-11.
- THOMSEN, A.  
1934. Acta Path. Microb. Scand., Suppl. 21:253 pp.
- TOVAR, R. M.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8(26):138-140.
- VERGE, J.  
1946. Rec. Méd. Vet., 122(3):97-114.
- WELLMANN, G.  
1950. Z. Bakt., I Orig., 156:414-426.  
1952. Z. Bakt., I Orig., 159(1-2):71-86.  
1953. Proc. XVth Intern. Vet. Congr., Stockholm, IA 21:3-9.
- WILSON, G. S.  
1932. Vet. Rec., 44:1240.
- WILSON, G. S. & MILES, A. A.  
1946. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 3rd ed.  
London, Vol. II: 1692-1729.
- WILSON, G. S. & NUTT, M. M.  
1926. J. Path. Bact., 29:141-148.
- WINKLER, M.  
1919. Em Poppe.
- ZAMMITT, T.  
1905. Rep. Comm. Medit. Fever, Part III:83. Em Huddleson.  
1906. Rep. Comm. Medit. Fever, Part IV:96. Em Huddleson.
- ZELLER, H.  
1931. Berl. Tierärztl. Woch., 47(35):565-572.
-

## CAPÍTULO V

---

### Importância econômica

É das maiores conhecidas, dentre as doenças infecciosas, a importância econômica da brucelose. Poucas representam, como essa infecção, ao mesmo tempo papel saliente pelos males que causam e pelos prejuízos que acarretam. As perdas econômicas que provoca são de tal monta que não há receio de errar asseverando, foram elas os fatores essenciais para o progresso no conhecimento da doença. Influindo direta e persistentemente sobre a pecuária, na produção do leite, na fertilidade das fêmeas e dos machos, na viabilidade dos embriões, na engorda e na robustez dos animais jovens, a significação econômica da brucelose sobrepuja a de tôdas as demais doenças dos rebanhos, mormente dos bovinos, que são os fornecedores quase exclusivos de carne e de leite às populações do mundo. (Ver também o capítulo da Brucelose Animal).

A brucelose não influi apenas na produção leiteira pela redução do leite mas também na epidemiologia da doença humana pelos laticínios. Mais de 30% das fêmeas brucelosas eliminam os germes pelo leite, tornando-o, assim, um dos maiores veículos de disseminação da doença no homem, quando não são tomadas medidas para eliminá-los desses alimentos.

Atacando as espécies domésticas, a brucelose ocasiona uma série de alterações fisiológicas, tôdas influentes na produção animal. Provoca perdas por abortos que orçam entre 10% a 50%; redução da vitalidade dos bezerros (30% dos quais não se desenvolvem ou morrem precocemente); diminuição do peso dos animais em cerca de 15%; queda da lactação em cerca de 20%; produção de esterilidade em 30% das fêmeas infectadas.

As perdas de crias são elevadas, mas em números variáveis de propriedade a propriedade, rebanho a rebanho, porque a primeira vez que a doença acomete um grupo de animais, quase tôdas as vacas em gestação abortam; em nova concepção, nem tôdas estas fêmeas que abortaram uma vez, o fazem novamente; numa terceira, o número é ainda menor e assim, sucessivamente, até que as vacas ou não abortam mais ou se tornam infecundas ou estéreis.

É claro que os prejuízos da pecuária serão tanto mais elevados quanto maior fôr a extensão da doença nos rebanhos. Exibem os cálculos dessas perdas números espantosos, justificando, só por si, quaisquer dispêndios e esforços para o estudo da doença, principalmente, no que se refere à profilaxia e ao tratamento.

Segundo várias estatísticas mundiais, o índice de contaminação oscila entre 5% a 40% nos bovinos, entre 20% e 60% nos suínos e 12% a 30% nos caprinos. Tais variações dependem das condições higiênicas do rebanho, do regime de criação e de outros fatores.

Não pretendemos examinar as estatísticas sobre a incidência da brucelose animal, bastando alguns exemplos, de vários países, para ilustrar a importância da doença, apenas sob o ponto de vista econômico.

Nos Estados Unidos, o total de bovinos brucelosos é muito mais elevado que o de tuberculosos. No decênio de 1935 a 1945, foram ali praticadas mais de 70 milhões de provas diagnósticas para brucelose em bovinos, obtendo-se aproximadamente 3 milhões de resultados positivos, ou sejam 4,3%; no mesmo decênio, em mais de 279 milhões de provas tuberculínicas no gado, apenas se constatarem cerca de 3 milhões e 800 mil positivas ou seja, pouco mais de 1%. Em 1950, de 6 milhões de bovinos examinados, 3,5% foram considerados positivos para brucelose e aproximadamente 14% dos rebanhos daquele País apresentavam-se atingidos pela doença.

Por êsses dados, vê-se que a brucelose é muito mais espalhada que a tuberculose e pode-se prever, assim, o grau de disseminação no homem, devendo notar-se que a contaminação humana de origem bovina, para a tuberculose, é pouco significativa na epidemiologia, ao contrário do que ocorre com a brucelose.

A economia norte-americana se beneficiou em 50 milhões de dólares por ano, com o abaixamento da contaminação do gado pela brucelose, ali conseguido, em alguns anos de emprêgo de regras profiláticas.

Os números totais da freqüência da brucelose no gado, nos Estados Unidos, são inferiores aos observados noutros países do Continente, inclusive o nosso.

LASH & O'REAR calcularam em mais de 100 dólares o valor das perdas de leite de cada vaca infectada, nos Estados Unidos, e em 135 a 486 dólares a perda por abôrto, conforme a qualidade da vaca.

MINGLE admite uma queda de 20% na produção leiteira, disso resultando uma perda aproximada de 4 e meio milhões de litros por ano, representando um total de 50 milhões de dólares. O "Conselho Nacional de Pesquisas" norte-americano orçou os prejuízos totais, por ano, em 100 milhões de dólares, para a brucelose bovina. Com a brucelose porcina, montam a cerca de 30 milhões de dólares. Por isso, entre os principais assuntos a serem investigados por êsse Conselho, foi incluído um programa de erradicação da brucelose nos animais domésticos.

Em 1934, quando o primeiro esforço organizado para a luta contra a brucelose bovina foi feito, estimou-se em cerca de 12% o total de bovinos brucelosos, nos Estados Unidos; desta data para cá, a porcentagem baixou, mas ainda se encontram infectados cerca de 4%, pelo menos, das vacas adultas, segundo MINGLE.

Na Alemanha, as estatísticas, antes da 2.<sup>a</sup> Guerra Mundial revelaram, para a pecuária, perdas superiores às da tuberculose e da aftosa, ou sejam, 200 milhões de marcos. Para REIN MULLER, os prejuízos atingiram, em 1951, a cifra de 250 milhões de marcos.

Segundo KILCHSPERGER, os prejuízos causados pela brucelose bovina foram avaliados, na Suíça, em 10 milhões de francos suíços, no cálculo de KASTLI e em 30 a 90 milhões, nos de SCHNYDER e REICHLING.

GONZALEZ, segundo DE LA GARZA, observou, somente na Cidade do México, redução diária de 74 mil litros de leite. Segundo ele, existem nos arredores do Distrito Federal do México, 12.250 vacas com brucelose, as quais deveriam produzir 98.000 litros de leite diariamente mas, na realidade, produziram apenas 24.000; dos 7.350 bezerros esperados, apenas 4.042 foram paridos.

SAN MIGUEL calcula a perda anual do Chile em 37 milhões de pesos chilenos, referem SZYFRES & Cols.

GENTILE calculou, para a Itália, prejuízos anuais de 800 milhões de liras, segundo ALESSANDRINI & DOMINICI.

Na França, as perdas de leite no ano de 1947 foram calculadas por BRESSOU em 5 milhões de litros. Em 1946, reduziu-se a produção leiteira de 1.800 litros por vaca para 1.400, devido à brucelose, donde um decréscimo da produção, de 133 milhões de litros para 90 milhões.

CARRÈRE & RENOUX alinham uma série de dados econômicos sobre a doença na França. Citam que DE LA TOURNELLE & JACQUET calcularam em mais de 1 bilhão e 43 milhões de francos por ano os prejuízos em leite e em crias, em 20% das 125.000 vacas em que basearam seus cálculos, o que daria, para o total da França, mais de 35 bilhões, anualmente. Adicionem-se os 600 milhões, computados por LAFENÊTRE para os prejuízos causados aos rebanhos caprino e ovino. Concluem CARRÈRE & RENOUX com uma frase que é bem conhecida, no seu significado, de todos aqueles que estudam a brucelose: "Conhecemos bem poucos flageolos sociais que tenham tal repercussão econômica". Em 1950, a brucelose representaria, pelos cálculos desses autores, os seguintes danos para a economia francesa, aí incluídas as despesas humanas (salário completo pago aos doentes, se tratada a brucelose como doença profissional; seqüelas antigas, em geral não relacionadas à brucelose; despesas com a Assistência Médica Gratuita; perdas motivadas pela falta de produção dos doentes, etc.). Cada caso de brucelose humana custa 140.000 francos à Caixa Mútua de Seguros Sociais Agrícolas; são 9.000 casos por ano.

Bovinos .....	35.000.000.000 francos
Caprinos e ovinos .....	600.000.000 "
Despesas humanas .....	1.632.000.000 "
Soma .....	37.232.000.000 francos

No Brasil, as estimativas dos prejuízos causados pela brucelose são muito reduzidas. Mesmo com as deficiências conhecidas das estatísticas oficiais sobre o assunto, é possível avaliar em 10% a 20%, pelo menos, o total de animais contaminados no rebanho bovino e em 20% a 40% no porcino.

Um dos primeiros cálculos desses danos causados pela infecção é o de NEVES DA SILVA, para o Rio Grande do Sul. Em 32.096 bovinos examinados, 6,34% revelaram-se positivos; em 4.600 vacas leiteiras, 19,5% mostraram-se infectadas. Também 29,4% de 2.070 suínos. Tomando por base o fato de que BOCALANDRO & Cols. calcularam para o rebanho

de 34 milhões, da Argentina, uma perda anual de 100 milhões de pesos, NEVES DA SILVA avaliou que o estado do Rio Grande do Sul, com 10 milhões de bovinos, sofreria um prejuízo anual de 40 milhões de cruzeiros. Acrescenta que, dos bovinos abatidos anualmente, haveria 90 mil brucelosos e sendo de 15% a queda ponderal pela doença (60 k por animal doente), haveria uma redução anual de cerca de 5.400 toneladas de carne ou 16 milhões de cruzeiros. Juntando a isso o fato de 20% das 20.000 vacas leiteiras apresentarem-se infectadas, 4.000 deixariam de produzir cada uma 2 litros por dia ou sejam 8.000 litros diários, o que corresponderia a 7 milhões e 300 mil cruzeiros anualmente. Ao todo, portanto, num cálculo de acordo com os valores da época, sem falar na esterilidade dos reprodutores:

Perdas de crias .....	Cr\$ 40.000.000,00
Perda de peso dos bovinos abatidos	" 16.000.000,00
Perda de leite .....	" 7.300.000,00
Soma .....	Cr\$ 63.300.000,00

THIAGO DE MELLO, tomando por base as estatísticas para a produção animal do estado do Rio de Janeiro, no ano de 1949, e os dados sobre a incidência conhecida da brucelose no País, efetuou a seguinte estimativa dos prejuízos anuais com a doença, nesse Estado:

Perdas de crias .....	Cr\$ 15.000.000,00
Diminuição da produção de carnes	" 7.000.000,00
Idem de laticínios .....	" 12.500.000,00
Idem de gorduras .....	" 1.500.000,00
Soma .....	Cr\$ 36.000.000,00

Um interessante cálculo dos prejuízos para o Brasil foi feito recentemente por BORG, em trabalho transcrito, mais tarde, por BIFFONE. Tomando por base os dados existentes da produção animal e da incidência da brucelose no País, organizou um gráfico do desenvolvimento real do rebanho brasileiro, no decênio 1940-1950, comparando-o com o do desenvolvimento teórico se não existisse a brucelose (Fig. 68).

Cálculos precisos para o País inteiro ainda não foram feitos mas é possível ter uma idéia da gravidade do problema se fôr levado em conta que os rebanhos bovino e suíno brasileiros são dos mais numerosos do mundo (60 milhões de bovinos e 35 milhões de suínos) e os inquéritos até agora realizados permitem supor que a incidência da brucelose nos mesmos seja respectivamente de 10% a 20% e de 20% a 40%. Comparando com a produção de café, base da economia brasileira, o valor dos produtos de origem animal ultrapassa muito o da rubiácea (Fig. 69).

Este capital vultoso deve merecer maior atenção para a sua defesa, justificando plenamente uma campanha de combate à brucelose, entre outras medidas de melhoramento e de higiene.

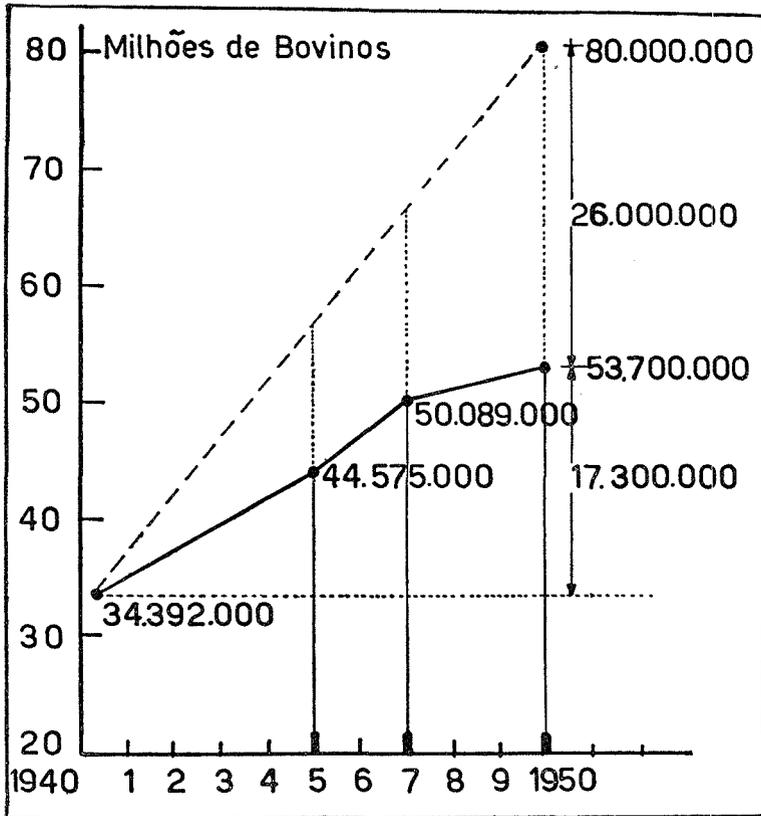


Fig. 68 — Desenvolvimento comparativo do gado bovino entre 1940 e 1950, no Brasil. Traço cheio: desenvolvimento real do rebanho nacional, interrompido: desenvolvimento teórico, calculado pela hipótese da eliminação da brucelose, em 1940, e levando em consideração um aumento proporcional na matança, a fim de cobrir as necessidades nacionais. Segundo BORG.

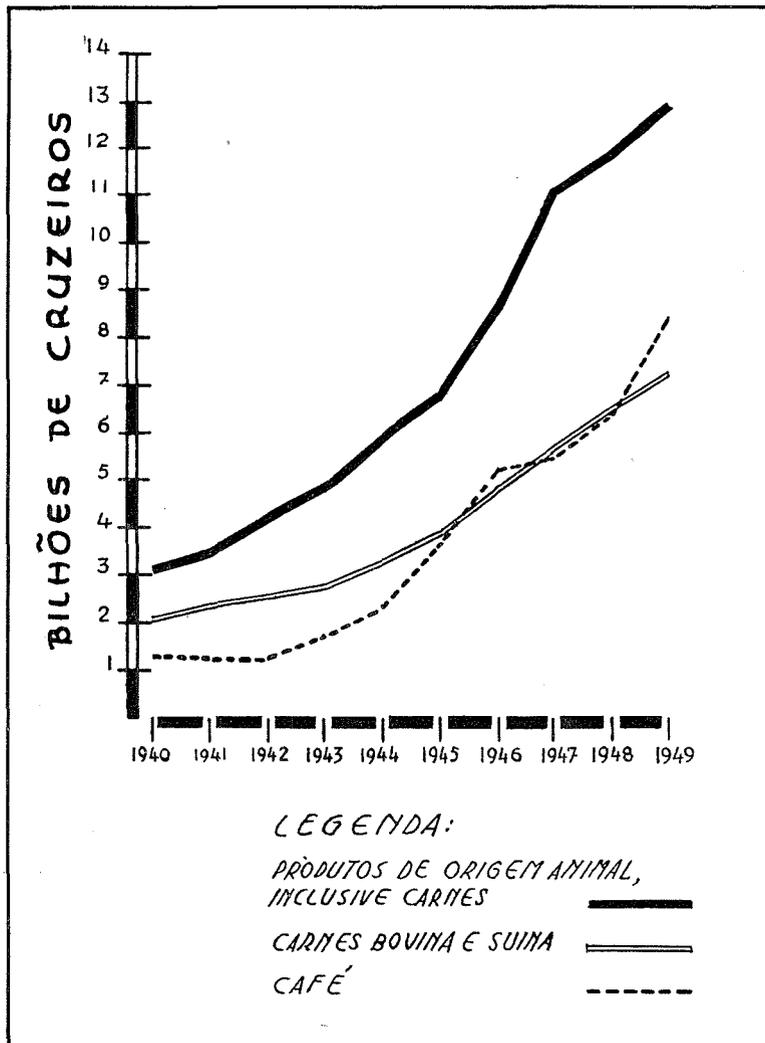


Fig. 69 — Valor da produção brasileira de origem animal, comparando com o do café (período 1940-1950). Segundo THIAGO DE MELLO.

## BIBLIOGRAFIA

- ALESSANDRINI, A. & DOMINICI, D.  
1936. Ann. d'Igiene, 46(3):97-113.
- BIFFONE, J.  
1953. Felctiano, 8(49):16-27.
- BORG, G.  
1952. A incidência da brucelose sôbre a economia nacional brasileira, Set.: 12 pp. mimeografadas.
- BRESSOU  
1947. Em Thiago de Mello.
- CARRÈRE, L. & RENOUX, G.  
1950. Bull. Acad. Med., 134:620-621.
- Editorial  
1949. Science, 109:475-476.  
1951. J. A. M. A., 145(15):1136-1137.
- GARZA, A. A. DE LA  
1947. Salubridad y Asist., 7(6):611-633.
- LASH, E. & O'REAR, H. M.  
1942. Yearbook Agric.: 501-511.
- MINGLE, C. K.  
1948. Em Thiago de Mello.  
1951. Amer. J. Publ. Health, 41(8):923-927.
- SILVA, N. N. DA  
1949. Congr. Méd. Comem. Cincoentenario Fac. Med. Pôrto Alegre, Março: 4 pp.
- SZYFRES, B. & Cols.  
1947. Primer Congr. Nac. Bruc., Diciembre, Montevideo: 82-85.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Nov. Washington: 69-75.
- THIAGO DE MELLO, M.  
1949. Brasil-Médico, 63(40-52):289-291.  
1952. Rev. Mil. Rem. Vet., 12(1):1-16.
-



## CAPÍTULO VI

---

# Patologia

### A — ALTERAÇÕES ORGANICAS

Uma das particularidades mais importantes para a patogenia e a sintomatologia da brucelose é a universalidade da localização das bruce-  
las, que não poupam tecido ou órgão. Por isso mesmo, são capazes de  
provocar lesões desde a pele até o sistema nervoso central. Neste parti-  
cular, ela se assemelha a certas doenças que apresentam variabilidade  
de sintomas considerável e aspectos clínicos polimorfos, como a sífilis e  
a tuberculose. Assim, nos achados de autópsia e nas observações clíni-  
cas, verificaram-se as seguintes alterações mais freqüentes nos órgãos ou  
aparelhos abaixo:

*Pele*: eflorescências máculo-papulares, vesiculosas e descamativas,  
abcessos, úlceras, nodosidades.

*Articulações*: tumefação supurativa, hidrartrose.

*Ossos*: osteomielite, espondilite, abcessos, osteoperiostite.

*Coração*: endocardite, pericardite, miocardite, aneurismas micóticos.

*Vasos*: hemorragias, flebite, trombose, arterite.

*Visceras*: *fígado*-hepatomegalia, abcessos, necrose, hepatite, colecis-  
tite aguda e crônica, atrofia subaguda; *baço-esplenomegalia*, degenera-  
ção, esplenite, periesplenite.

*Aparelho digestivo*: *bôca* — estomatites, úlcera, glossite, edema da  
mucosa; *estômago* — úlceras, hemorragias; *intestino delgado* — tumefa-  
ção das placas de Peyer; *apêndice* — apendicite; *colons* — colite ulcera-  
tiva; *reto* — retite ulcerativa, abcessos.

*Aparelho respiratório*: *pulmões* e *pleura* — pleurisia seca ou exsu-  
dativa, infiltração peri e justa-hilar, focos de pneumonia lobar, bron-  
quites, cavernas, hemoptise; *nariz* — rinite; *garganta* — amigdalites, la-  
ringofaringites.

*Aparelho urogenital*: *útero* — endometrites, colpites, salpingites;  
*placenta* — necrose, fibrose, calcificação; *ovário* — degeneração cística;  
*epidídimo* — infecção supurativa; *testículo* — orquite, atrofia; *vagina*  
— vaginite, atrofia; *mamas* — mastite; *rins* — pielite, nefrite; *beriga* —  
cistite aguda ou crônica.

*Órgãos linfóides*: *amígdalas* — inflamações; *gânglios* — tumefação,  
supuração, hemorragias.

*Sistema nervoso*: meningite, meningo-encefalite, paralisias, nevri-  
tes, algias, neurastenia, adinamia, cefaléias.

*Órgãos dos sentidos: olhos* — edema papilar, hemorragias e inflamação da úvea e da córnea, ambliopia; *ouvidos* — surdez, otites.

Nenhuma doença, a não ser a sífilis, apresenta tamanho grau de disseminação no organismo e tão variadas lesões.

Essas localizações podem ser circunscritas ou isoladas a um tecido ou órgão, a mais de um, ou a muitos deles. Daí decorre a multiplicação dos sofrimentos devidos à variabilidade dos sintomas.

Encontraram MEYER & Cols., experimentalmente, em cobaias, localização e lesões em todos os órgãos, exceto músculos. HUTCHINGS & Cols. isolaram brucelas dos seguintes órgãos de porcos infectados artificialmente: discos intervertebrais, vértebras, próstata, testículo, vesículas seminais, útero, ovário, glândula mamária, baço, gânglios, fígado, músculos, medula, pulmão, medula óssea, coração e rins.

Determinam as brucelas, onde se localizam, alterações comuns a outros processos infectuosos, ao lado de lesões que lhes concedem certas particularidades.

Uma das alterações mais gerais são os processos inflamatórios, os quais incluem as brucelas entre os gêrmes piogênicos ou produtores de inflamações purulentas, como certos estreptococos, estafilococos, corinebactérias e neissérias. Nenhuma particularidade apresentam, a não ser o caráter de permanência no tempo, que é uma das características da brucelose. Nesta condição, as brucelas promovem irritações nos locais onde se implantam; zonas de congestão e exsudação se formam com os caracteres das inflamações comuns, sempre com a particularidade inerente à brucelose — a cronicidade. A não ser nas formas febris, em que acompanham a curva evolutiva do processo infectuoso, desaparecendo com êle, ou antes dêle, as inflamações são de duração longa, de meses e anos, sobretudo nas mucosas, sob forma de rinites, bronquites, colpites, vaginites, otites, etc. Nada de peculiar ali se nota além de edema intersticial, congestão, leucocitose, comum nas flogoses infectuosas. Outras vêzes a inflamação se intensifica até formar focos purulentos ou abscessos, que, por volumosos, se expandem e procuram saída, não raro por caminhos tortuosos, como se pode apreciar nas lesões ósseas.

*O granuloma é a lesão histológica básica na brucelose*, afirma BRAUDE, referindo que isso já fôra observado em 1912 por FABYAN (Fig. 70).

Microabscessos foram estudados experimentalmente por BRAUDE que distingue nêles 3 partes: centro, constituído por massa homogênea de restos celulares, prenhe de leucócitos; zona intermediária de tecido granulomatoso composto de células epitelióides e polinucleares; camada externa formando uma cápsula, fibrosa, rica de colágeno. BRAUDE distingue, ainda, 2 tipos de granulomas: não supurativo e supurativo, o *microabcesso*; o primeiro, associado a uma boa defesa do animal, o segundo, revelando fraca resistência do mesmo. O estudo detalhado da evolução dos granulomas foi feito, em seguida, pelo mesmo autor, que conclui, ao contrário de muitos outros, que o desenvolvimento dêsse processo não depende da existência de hipersensibilidade.

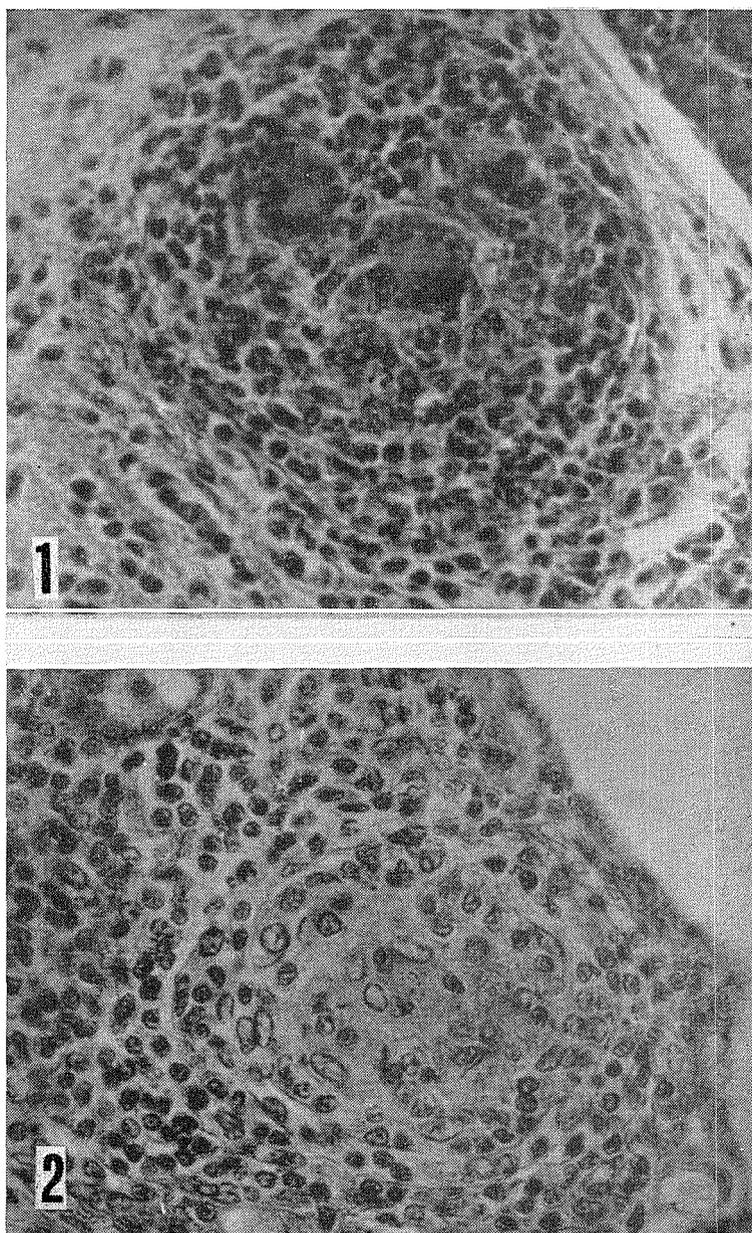


Fig. 70 — Brucelose experimental, 1 — Foco inflamatório em tecido conectivo da região cervical de camundongo. 2 — Formação de tubérculo em pulmão de cobaia. Segundo FABYAN.

No pus, predominam células mononucleares; nas inflamações agudas, os polinucleares podem dominar, ao menos transitóriamente. Uma

tal condição por vêzes significa também presença de outra doença infectuosa.

Um tanto diferente é o que se vê nas localizações viscerais. Nestas formam-se com freqüência nódulos pequenos, primeiro vistos por SCHRÖDER & COTTON, análogos aos encontrados em algumas doenças infectuosas, como na peste, por exemplo. Esses nódulos, focos necróticos ou granulomas, não podem ser considerados característicos da brucelose, porém são um elemento diagnóstico de valor.

Em cobaias infetadas experimentalmente SMITH & FABYAN descreveram-nos como formados por células grandes, com núcleos vesiculosos, pobres de cromatina, e cujo protoplasma se corava mal, tornando-as análogas às células epitelióides dos processos tuberculosos. Em torno dessas células dispunham-se linfócitos, formando um conjunto celular com estrutura de granuloma. Tal qual sucede no granuloma tuberculoso, o centro do granuloma bruceloso apresenta-se eventualmente necrosado.

Pouco varia o tamanho dos focos, cujas dimensões são aproximadas às de uma cabeça de alfinete, e se diferenciam dos processos tuberculosos pelo menor número e isolamento, enquanto os focos necróticos tuberculosos tendem a se fundir, formando massas necrosadas extensas e volumosas. Os focos necróticos na brucelose são esparsos na superfície ou na massa dos órgãos, e seu número é pequeno. Apresentam-se como pontos brancos ou levemente amarelados (Figs. 45, 46). Quando involuem, tornam-se fibrosos e prenhes de linfócitos. *Br. suis* determina, em cobaias, focos necróticos mais volumosos do que *Br. abortus*, como pode ser visto nas figuras de WELLMANN. (Figs. 45, 46).

Estuda AJELLO, em detalhe, essas alterações de granulomatose brucelosa; esta é constituída por linfócitos, monócitos, histiócitos, eosinófilos, algumas células plasmáticas ("plasmazellen"), raros polinucleares, células gigantes, formadas por mono e polinucleares e fibroblastos. Os infiltrados podem ser constituídos por todos ou por alguns desses elementos.

Os órgãos que mais vêzes apresentam nódulos são: baço, fígado, gânglios, pulmões, rins, medula óssea, pela ordem de freqüência. Em qualquer circunstância o nódulo necrótico ou granuloma é comum na brucelose, servindo até certo ponto como elemento diagnóstico na infecção experimental. Bem assim no homem, em certas condições, como pela punção medular óssea esternal, proposta por SPINK, ou, ainda, nas verificações necroscópicas.

Resultam as formações granulomatosas nos órgãos acima, da afinidade das brucelas pelo sistema retículo-endotelial, de que são ricos principalmente os tecidos dos mesmos, o que confere à brucelose as características de uma retículo-endoteliose (hiperplasia do tecido retículo-endotelial que pode ser promovida por várias causas, de ordinário de natureza infectuosa).

Discorda AJELLO da maioria dos patologistas que consideram a brucelose uma retículo-endoteliose, apesar da existência de infecções naturais e experimentais em que se encontram lesões histológicas do sistema retículo-endotelial. Acha que o granuloma bruceloso é antes de natureza

hiperplástica e característico da doença, embora semelhante aos que se observam na tuberculose, reumatismo, febre tifóide, dos quais se diferencia pela ausência de reação agregativa, pela presença de eosinófilos, pela falta de processos necrobióticos e caseificação, e pela tendência à transformação fibrosa. RÖSSLE, diz êle, interpreta essas formações como de natureza alérgico-hiperérgica.

## B — PATOGENIA

Um detalhe de alta significação na patogenia da doença é que as brucelas penetram facilmente nas células. Quando uma bactéria patogênica realiza isto, só morre com a célula. Tal fato indica uma grande resistência do germe à destruição, a não ser que se descubra um agente específico que também penetre na célula, como sucede com a quinina na malária, a sulfanilamida na neisseriose, a penicilina na sífilis, sendo tais doenças provocadas por agentes intracelulares e, por isto mesmo, muito resistentes à extinção natural pelas defesas orgânicas. Realmente, é o que sucede com a brucelose, cujo germe se protege, dessa forma, contra as defesas do organismo e contra os agentes terapêuticos, ao mesmo tempo que torna o processo patológico prolongado como na sífilis, na tuberculose, na malária, nas viroses.

A facilidade de penetração das brucelas no corpo celular torna-as prontamente fagocitadas pelos leucócitos, daí a aplicação diagnóstica que lhe deu HUDDLESON. A localização intracelular foi observada por diversos pesquisadores. (Figs. 18, 19, 20, 71, 72). THEOBALD SMITH, verificou-a nas células de cório placentário, que se apresentavam repletas de brucelas, aí penetradas e colonizadas (Fig. 18). Em numerosas verificações sobre os efeitos de bactérias no embrião de galinha, GOODPASTURE observou a multiplicação intracelular dos germes nos embriões infectados. A presença de brucelas intracelulares foi referida por GOODPASTURE & ANDERSON, no embrião de pintos, sendo mais abundantes nas células mesodérmicas. BUDDINGH & WOMACK, encontraram, no embrião de pinto, considerável número de macrófagos contendo brucelas, nitidamente em vias de multiplicação, sugerindo que os monócitos representem papel na defesa orgânica.

No decorrer da infecção as brucelas se localizam nos grandes mononucleares ou macrófagos, formando um tecido reacional análogo ao encontrado na tuberculose, na sífilis, nas micoses e na febre tifóide, assinala LOWBEER.

CASTAÑEDA pesquisou de modo sistemático os germes em células de órgãos de animais infectados experimentalmente, em esfregaços ou em cortes. A presença de brucelas intracelulares, foi encontrada por êle com facilidade nos animais infectados por via sanguínea, no interior de macrófagos, no 5.º dia *post inoculum*. Em algumas células, o número era

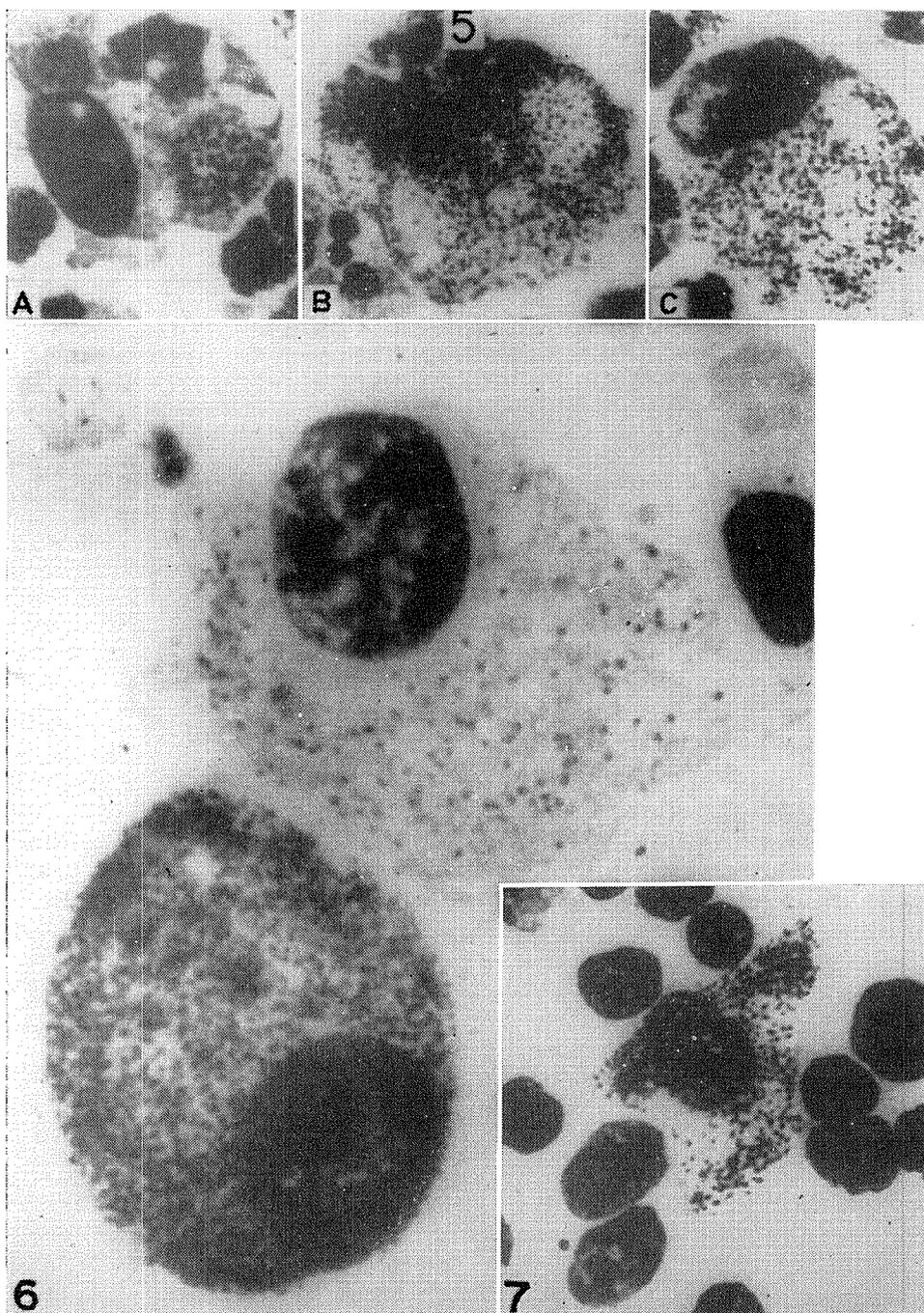


Fig. 71 — Colonização intracelular de *Br. melitensis*, após inoculação intradérmica. 5A — histiócito de pele, com microcolônia em parte do protoplasma; 178 horas de inoculação. 5B e 5C — histiócitos de pele com o protoplasma cheio de brucelas; 288 horas de inoculação. 6 — histiócitos de pele: um totalmente cheio de brucelas e outro com poucos germes no protoplasma; 312 horas de inoculação, quando 100% dos macrófagos mostraram brucelas no protoplasma, com os graus extremos de parasitismo. 7 — célula reticular de gânglio linfático regional de camundongo, totalmente cheia de brucelas; 240 horas de inoculação. Segundo ARIAS-STELLA.

bastante para fazer pensar em multiplicação intracelular, sobretudo nas testiculares. No testículo existiam os germes nas células parenquimatosas, nos fibroblastos, nas células intersticiais e nas endoteliais e reticulares, onde davam aparência de multiplicação, havendo ainda a particularidade da sua pobreza fora daquelas parasitadas. Células endoteliais e reticulares do baço foram também encontradas por êle cheias de brucelas, bem como células renais.

A via nasal permitiu-lhe demonstrar a penetração dos germes nas células alveolares do pulmão e uma vasta fagocitose deles pelos mononucleares, enquanto os polinucleares se mostraram pobres de brucelas. Acredita CASTAÑEDA que a fagocitose pelos mononucleares seja uma condição que muito facilita o transporte do germe a todos os pontos do corpo, multiplicando as colônias de bactéria dentro do próprio macrófago.

De suas verificações parece decorrer ainda que as brucelas do porco e do boi mais facilmente se implantam nos tecidos que a da cabra.

Concorreria a penetração nos macrófagos para a formação dos granulomas que podem ser considerados uma reação encistadora em torno dos macrófagos invadidos.

NYKA precisou mais detalhadamente as verificações de CASTAÑEDA, encontrando, ainda, em animais infectados experimentalmente, brucelas nas células de Kupfer, nas células endoteliais dos capilares do testículo, nos monócitos, no polinucleares, nas células endoteliais dos capilares sinusóides, nos megacariócitos do baço, nas células endoteliais dos capilares dos glomérulos renais, nas da córtex das suprarenais. Também as observou parasitadas, no baço e no rim do homem. De suas verificações concluiu NYKA que nos macrófagos as brucelas apareciam em vias de destruição, mostrando-se os corpos bacilares tumefeitos, granulosos, de contornos mal definidos, aparência que não é vista nas encontradas dentro das células parenquimatosas, deixando prever que o grande número ali encontrado representava verdadeira multiplicação microbiana.

As fotografias mais nítidas sôbre a colonização intracelular devem-se a ARIAS-STELLA (Fig. 71).

FORBUS & Cols. examinam extensivamente a fagocitose das brucelas na infecção brucelosa experimental em porcos, e assinalam a particularidade de o germe ser fagocitado só pelos leucócitos polinucleares neutrófilos do sangue circulante, enquanto nos órgãos linfóides o é por clasmatócitos, tornando razoável a hipótese de sua multiplicação nessas células, tal o número de germes encontrados dentro delas.

Acompanhou BUENO a evolução do processo alterativo ganglial, que com o baço e a medula óssea são os focos de produção reticulo-endotelial e onde as brucelas assentam suas bases infectantes. Em infecções naturais e provocadas, observou êle, no início, acentuado desenvolvimento dos centros germinativos dos folículos linfóides, mais nítido na periferia do gânglio, seguindo-se grande proliferação das células reticulo-endoteliais, como verdadeira reticulo-endoteliose e formação de gigantócitos. Seguiram-se as alterações degenerativas da parede dos vasos, que chegavam à necrose, com extravazamento de hematias, alterações que êle denominou degeneração ou necrose fibrinóide da parede vascular.

Nos arteríolos as alterações parietais levavam à formação de endarterite obliterante. Nos elementos figurados do sangue notou aumento enorme de eosinófilos que se infiltravam no tecido ganglial ou formavam microabcessos, em torno dos quais as células reticulares se enriqueciam de granulações eosinófilas. Eventualmente havia proliferação de neutrófilos. Os focos necróticos nem sempre eram conseqüentes a infiltrações inflamatórias e sim eram fruto de necrose celular do tecido reticular. Atribui BUENO a alterações alérgicas o que observou em seus exames, representando sinais de hiperergia inflamatória e já bem estudadas e reproduzidas experimentalmente com os mais diversos produtos. Acentua êle que tôdas elas são achados constantes nas reações alérgicas.

Pesquisas importantes foram as realizadas por BRAUDE, e citadas anteriormente. Inoculou no peritônio 100 bilhões de células de *Br. abortus*, em camundongos brancos. Fêz esfregaços de sangue retirado da cauda dos animais, de 15 em 15 minutos após a inoculação, até que as brucelas apareceram no sangue. Então, os esfregaços passaram a ser feitos de hora em hora, até 6 horas. Também sacrificou animais com 3, 6 e 24 horas após a inoculação, bem como diariamente até o 6.º dia. Com isso pôde controlar a evolução das lesões e o desenvolvimento dos germes no interior das células, confirmando plenamente as pesquisas anteriores. Ao fim de 3 horas podia ser vista fagocitose intensa de *Br. abortus* pelos leucócitos polimorfonucleares, no sangue de camundongos (Fig. 72); com 6 horas já se observavam agregados de leucócitos poli-

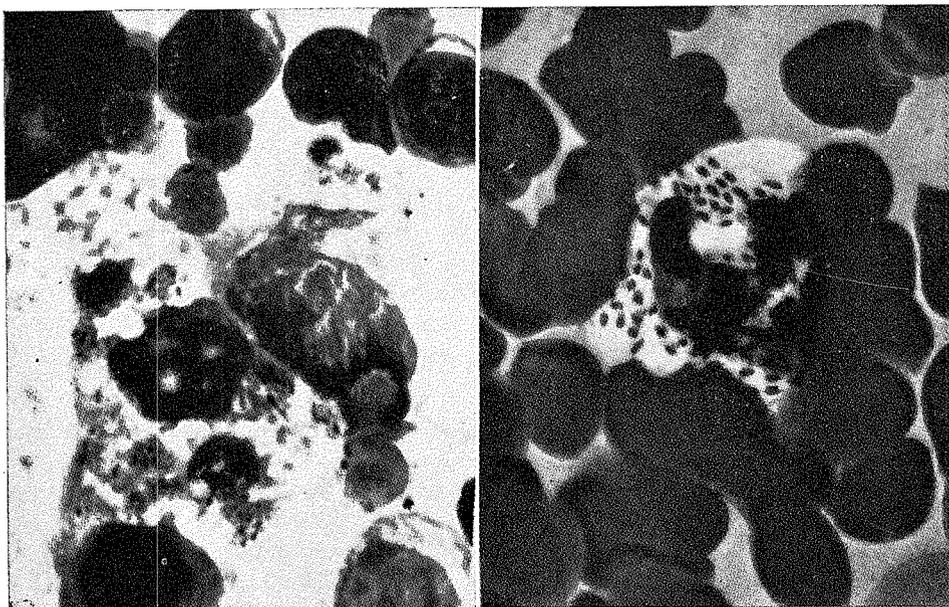


Fig. 72 — Brucelas intracelulares. À esquerda, em leucócito polimorfonuclear de sangue de camundongo, 3 horas após injeção intraperitoneal de *Br. abortus*; à direita, agregados de brucelas no citoplasma de histiócito, num preparado por impressão feito com baço de camundongo sacrificado 72 horas após a inoculação intraperitoneal. Segundo BRAUDE.

morfonucleares cheios de brucelas, nos sinusóides do fígado; daí sucessivamente iam sendo observadas as localizações das brucelas; com 72 horas após a inoculação, podiam ser vistos os germes em grande quantidade no citoplasma de histiócitos do baço dos animais sacrificados (Fig. 72).

De acôrdo com o visto acima, o mecanismo patogênico da brucelose é o seguinte: o germe, uma vez transposta a pele ou a mucosa, seria prêso pelos macrófagos e células reticulares, e daí levado a vários pontos do corpo, onde se localizaria definitivamente ou seguiria pelos vasos linfáticos, colonizando-se e proliferando nos gânglios, passando em seguida aos tecidos, onde também se multiplicaria. As brucelas realizariam um parasitismo intracelular nos elementos do tecido retículo-endotelial, havendo GOODPASTURE & ANDERSON demonstrado que elas podem viver e se multiplicar nos tecidos, conforme já foi citado; disso resultam formas crônicas na brucelose.

Sendo a brucelose uma retículo-endoteliose, onde abundarem os elementos do SRE (sistema retículo-endotelial), aí estarão as brucelas em grande quantidade (baço, gânglios, medula óssea, etc.). Serão êstes os pontos eletivos para sua localização e onde mais extensas e mais freqüentes se observarão lesões. É também onde poderém ser mais facilmente encontradas, com finalidades diagnósticas. Êsses conhecimentos são muito importantes no estudo da evolução clínica e na apreciação dos resultados da terapêutica relacionados com o mecanismo imunobiológico (Fig. 73).

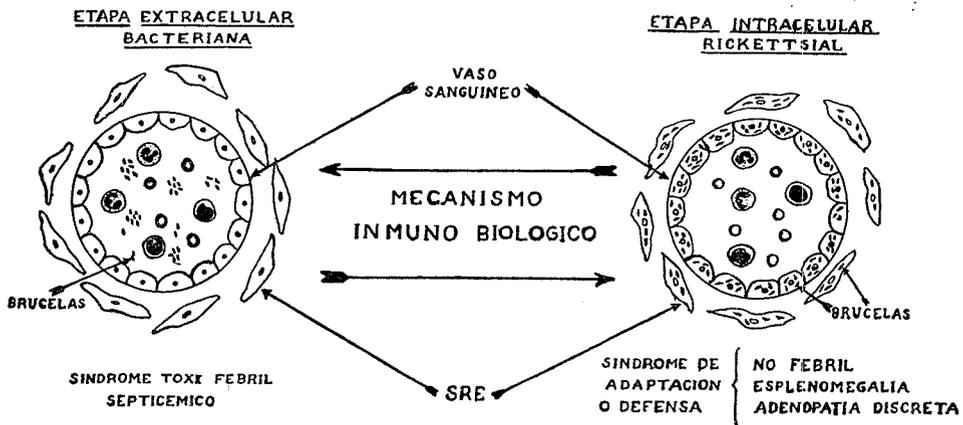


Fig. 73 — Ciclo biológico das brucelas no organismo humano. Segundo URTEAGA B. & Cols.

### C — PATOLOGIA ESPECIAL

As alterações produzidas pelas brucelas, embora primeiro vistas no homem, têm sido muito mais encontradas e examinadas nos animais, em virtude das facilidades que apresentam êstes, seja para infecção ex-

perimental seja na doença natural, completadas ainda pelos exames diagnósticos em que se empregaram animais para evidenciação de germes no leite, no sangue e noutros materiais. De maior valia são as lesões notadas nos órgãos linfóides de cobaias, nas vísceras e nos ossos.

Nos livros de HARRIS e de SIGNORELLI encontram-se as descrições mais importantes relativas à histopatologia da brucelose. Nos tópicos a seguir apresentaremos, somente, um resumo sobre algumas das localizações mais interessantes.

*Baço* — Das vísceras, a que aparenta alterações mais intensas é o baço, onde são mais abundantes os focos necróticos ou granulomas, como vimos acima. Independente destes, há hiperplasia linfóide, resultando no aumento da víscera, que fornece com isso um sintoma clínico relativamente comum na doença, sobretudo na forma aguda, a esplenomegalia, às vezes, muito acentuada. A consistência do órgão é mole, outras vezes, firme, sobretudo nas formas crônicas.

As alterações histológicas descritas por JAFFÉ no coelho inoculado experimentalmente, são mais acentuadas no corpo de Malpighi, relacionadas com SRE. Esse autor encontrou na polpa esplênica raros megacariócitos, abundantes mielócitos, eosinófilos, pseudo-eosinófilos e normoblastos bem como dilatação dos seios que se apresentam prenhes de hemátias e de células pigmentárias.

Os elementos celulares encontrados no baço são análogos aos dos gânglios e serão descritos nos órgãos linfóides.

Descreveu MOESCHLIN, segundo PAMIR & BERKOL, um tipo de célula encontrada por êle em esplenograma e que julga característico da brucelose. Corresponde às células fusiformes anteriormente descritas por LÖFFLER & ALBERTINI, ainda segundo PAMIR & BERKOL. Caracterizam-se elas pelas grandes dimensões, citoplasma azul, contornos apagados, núcleo oval, levemente segmentado, tipo monocitóide e com cromatina vermelho-violeta, arranjada em retículo de malhas grandes ou pequenas.

Ao lado do aumento do baço, notam-se congestão e hiperemia, a polpa embebida de hematias, e peri-esplenite, com tendência a infiltração hemorrágica.

Mostra o exame microscópico dilatação dos vasos e eritrofagia pelos macrófagos. Relativa redução ou hipoplasia dos folículos linfáticos, com tendência a formação histióide de pequenos focos de necrose e degeneração hialina. Redução da cariocinese nas células foliculares. Proliferação conjuntiva com tendência a esclerose.

As lesões do baço também foram estudadas detalhadamente por BRAUDE & SPINK, na brucelose experimental em camundongos brancos. Os autores concluem que o baço não é essencial para uma defesa contra as brucelas, porque os elementos retículo-endoteliais de outros órgãos podem compensar a sua falta em camundongos esplenectomizados. Contudo, o baço parece fornecer ao fígado um grau protetor considerável contra a invasão pelas brucelas. A esplenomegalia resulta unicamente do ataque ao órgão pelos germes, na infecção experimental.

*Órgãos linfóides* — A tumefação dos gânglios tem sido muito mencionada em quase todos êles: inguinais, axilares, cervicais, mesentéricos, nas placas de Peyer e nos folículos solitários intestinais, isolada ou generalizadamente. A adenopatia corresponde, de ordinário, a reações inflamatórias, que raramente culminam em supuração ou necrose.

Em alguns casos a tumefação ganglial assume proporções exageradas, simulando a doença de Hodgkin, confusão que atinge até o aspecto histológico. PARSONS & POSTON descrevem 4 casos desse tipo, em que o exame histológico não distinguiu as duas doenças, tendo sido a presença de brucelas o elemento de distinção. FORBUS & COLS. isolaram brucelas de 24 casos de doença de Hodgkin, sendo as lesões encontradas nos gânglios análogas às desta doença. Todavia, HARRIS pensa que se trata de simples coincidência das duas afecções.

Na medula dos gânglios linfáticos, SMITH & FABYAN encontraram grandes células epitelióides, ao lado de células linfóides e plasmáticas, com abundantes mitoses; vasos linfáticos em tórno, cheios de linfócitos. Aumento de gânglios encontraram êles em todos os animais inoculados com brucelas.

As lesões gangliais foram examinadas experimentalmente em porcos, por FORBUS e sua escola, com amostras de brucela isolada de porco e de um caso de doença de Hodgkin. Inoculados os animais por via peritoneal, encontraram-se nos gânglios infartados áreas necróticas com zonas de hemorragia e pigmentação pronunciada; de outras vezes, o aumento era discreto. Em qualquer dos casos o aumento não se limitava a um só gânglio, mas a vários dêles e em pontos distantes ou não, correlacionados ao peritônio, onde se fizera a inoculação. Nos animais infectados pela bôca ou por via venosa, a adenite comparava regularmente e se estendia a vários gânglios ao mesmo tempo. As verificações foram contraprovadas em porcos normais.

ARIAS-STELLA descreve assim as lesões encontradas: hiperplasia das células mononucleares grandes, contando de 15 a 20 micra de diâmetro, com protoplasma eosinófilo, núcleo excêntrico, lobulado, identificáveis aos clasmatócitos. Formação de granulomas com células de protoplasma eosinófilo pálido, podendo chegar à necrose, cujo núcleo central aparenta massa caseosa eosinófila, rodeada de clasmatócitos com núcleos hipercromáticos, protoplasma degenerado e de alguns elementos linfóides. Poucas células gigantes e fraca reação perinecrotica. Em alguns casos há focos de proliferação semelhante células linfóides; então há necrose e células gigantes, levando a pensar em tuberculose; a investigação bacteriológica resolve o diagnóstico.

Estuda RÖSSLE, histologicamente, um gânglio axilar proveniente de açougueiro que se contaminara num ferimento do braço. Não encontrou RÖSSLE os seios foliculares, tampouco nódulos secundários e centros germinativos. Os vasos linfáticos espessados e os linfoblastos eram abundantes. Encontrou, todavia, aglomerados focais, em cujos bordos

dispunham-se células menores, irregulares no tamanho, com núcleo oval apagado, não raro, rompido, por vêzes células multinucleadas. Noutras ocasiões lembravam núcleos de células epitelióides. Havia células claras, formando nódulos, lembrando tuberculose ganglial inicial. Enfim, lesões análogas às descritas por JAFFÉ e por KLIMMER & HAUPT na adenite brucelosa animal.

*Fígado* — Sendo um dos órgãos mais afetados, notam-se congestão e esteatose, além de focos necróticos e infiltração difusa.

As alterações hepáticas podem chegar à cirrose, de acôrdo com MACCULLOUGH & EISELE. Sinais de hepatite foram assinalados por febres com elevação da taxa de bilirubina sanguínea, segundo ARIAS-STELLA, que a sua vez encontrou esteatose e focos inflamatórios circunscritos, de células endoteliais, análogos aos granulomas vistos por êle em outros casos.

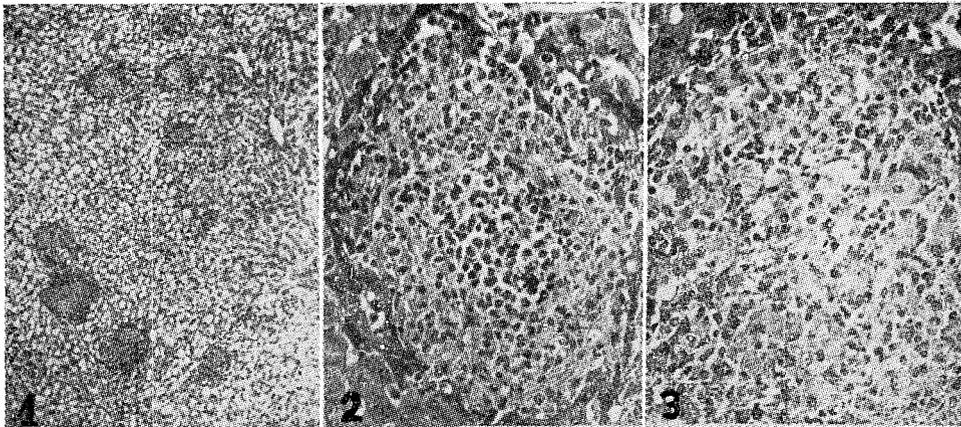


Fig. 74 — Influência da cortisona na brucelose experimental de coelho. 1 — Fígado de animal tratado durante 5 dias com 1 mg de cortisona, diariamente; a seguir, infectado com *Br. suis* e sacrificado no 5.º dia de infecção; pequenos granulomas com necrose central. 2 — Lesão hepática em animal tratado com cortisona e infectado, como o anterior, sacrificado com 2 semanas de infecção. 3 — Como no anterior mas injetado com solução salina fisiológica, em vez de cortisona. Segundo ABERNATHY & SPINK.

SPINK & HALL e ABERNATHY & SPINK estudaram os granulomas hepáticos na brucelose experimental bem como na infecção natural humana, por biópsia do fígado (Figs. 74, 75, 76). Verificaram, que o ACTH e a cortisona não são capazes de modificar o quadro histológico da brucelose hepática (Fig. 75).

*Aparelho digestivo* — Ulcerações foram observadas na bôca e no intestino delgado; as margens das mesmas aparecem infiltradas, com base endurecida por edema. Congestão de todo o intestino foi vista por HUGHES, segundo HARRIS e EYRE. ARIAS-STELLA encontrou-a sob aspecto de pequenas áreas localizadas na mucosa e na submucosa, ocasionalmente hemorrágicas. Refletem-se essas alterações em perturbações funcionais que justificariam a denominação de “febre gástrica” de MARSTON.

Nos casos crônicos em que aparecem diarreias o epitélio sofre necrose superficial. Refere ARIAS-STELLA hiperplasia dos folículos linfóides em todo o trato intestinal, com hialinização de numerosos folículos, infiltração e edema da mucosa, às vèzes, extensivos ao estômago e ao esôfago.

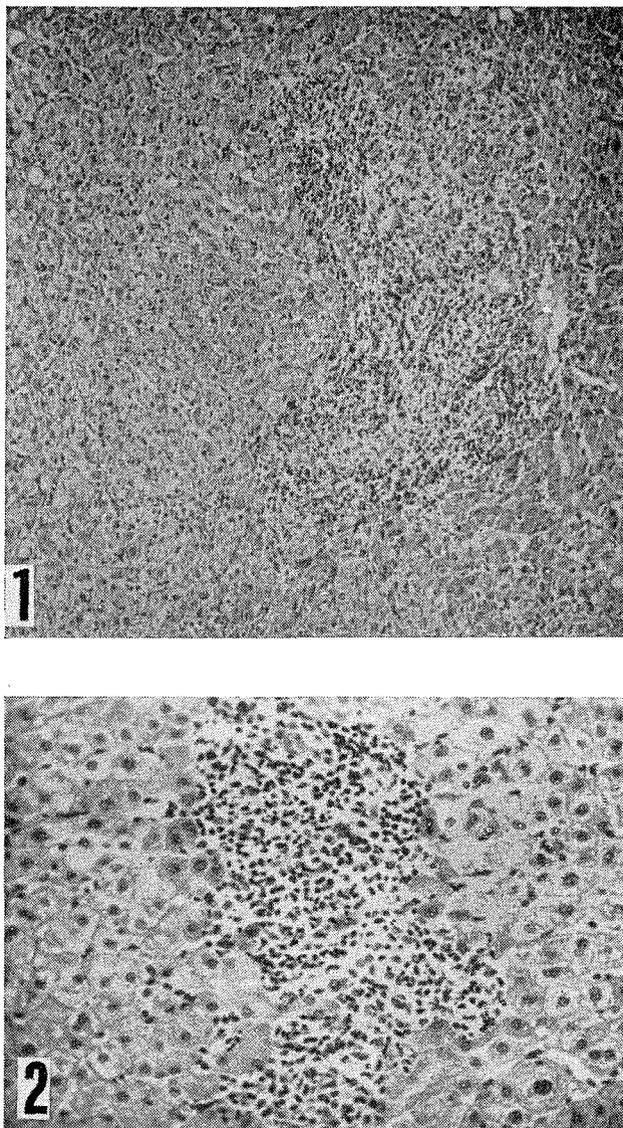


Fig. 75 — Influência do ACTH na brucelose. 1 — Biópsia de fígado após 11 dias de tratamento com ACTH; não houve modificação do quadro histológico. 2 — Biópsia de fígado do mesmo paciente, antes do tratamento com ACTH. Segundo SPINK & HALL.

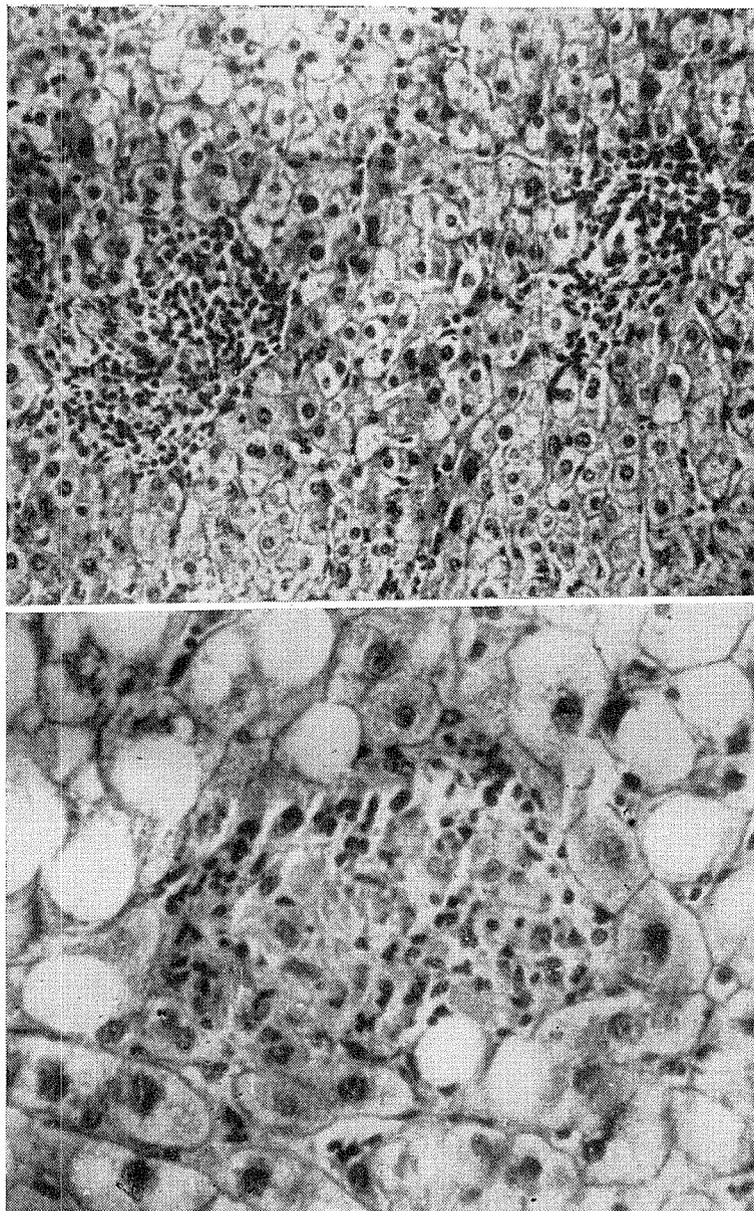


Fig. 76 — Infiltração nodular: contendo células epitelióides; biópsia de fígado em caso de brucelose crônica. Segundo SPINK & COLS.

*Aparelho gênito-urinário* — Assinala SHARP alterações de natureza inflamatória, até congestivo-hemorrágica, bem como fibrose e calcificação.

Testículo e epidídimo são lesados com regularidade. FABYAN encontrou-os alterados em animais, em consequência de infecções obtidas experimentalmente.

JAFFÉ verificou alterações inflamatórias nos testículos de cobaias infectadas artificialmente, redução de espermatogônios e espermatócitos, e abundância de células redondas, em geral agrupadas, claras, de núcleo apagado, e desaparecimento do epitélio. Esses aglomerados coram-se mais intensamente, apresentando caseificação central e desaparecimento celular, sem haver necrose. Após 6-8 semanas da inoculação, passada a fase aguda, aparecem infiltrados: 1) de grandes células ovais, arredondadas, impregnando os tecidos intersticiais e os canais testiculares, formando focos irregulares e múltiplos; 2) células redondas, pobres de cromatina, originadas dos elementos endoteliais e periteliais. Não se forma caseificação central, como no processo tuberculoso testicular.

As lesões renais degenerativas foram encontradas na brucelose aguda. OTAIZA, segundo ARIAS-STELLA, estudou 12 casos de brucelose benigna nos quais encontrou 9 com nefrite; em 2 fez verificações necroscópicas tendo observado a existência de nefrite intersticial. MAZZA & JÖRG encontraram glomérulo-nefrite difusa e aguda em 2 casos. Lesões análogas assinalaram SHARP, SPRUNT & MACBRYDE e ainda outros, segundo ARIAS-STELLA.

*Aparelho circulatório* — Encontram-se lesões ulcerativas e aneurisma micótico, que em nada se distinguem de alterações idênticas provo-

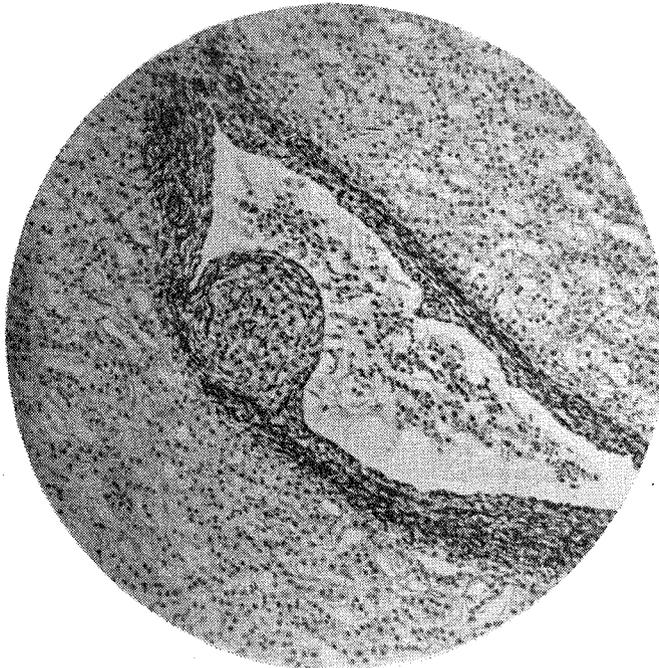


Fig. 77 — Flebite granulomatosa pseudoendotelial. Segundo LÖFFLER & ALBERTINI.

cadadas por outras causas. WOHLWILL verificou a existência de trombose dos vasos pulmonares, num caso de morte súbita de um bruceloso conseqüente a uma tromboflebite da perna. ARIAS-STELLA observou lesões vasculares esplênicas, constituídas por densos infiltrados sub-endoteliais de células mononucleares que quase obstruíram os vasos ou formavam granulomas necróticos subendoteliais. Num caso descreveu infiltrações perivasculares das arteríolas e vênulas meningeanas, com necrose fibrinóide endotelial e dissociação da camada média por edema. Acredita que estas lesões sejam conseqüentes à localização das brucelas no endotélio vascular e, também, que os aneurismas micóticos, tantas vezes vistos na brucelose, resultem de lesões vasculares brucelosas.

LÖFFLER & ALBERTINI figuram uma lesão de flebite granulomatosa pseudo-endotelial (Fig. 77). Também podem ser encontradas endocardites, tanto no homem como em animais infectados experimentalmente (Fig. 78).

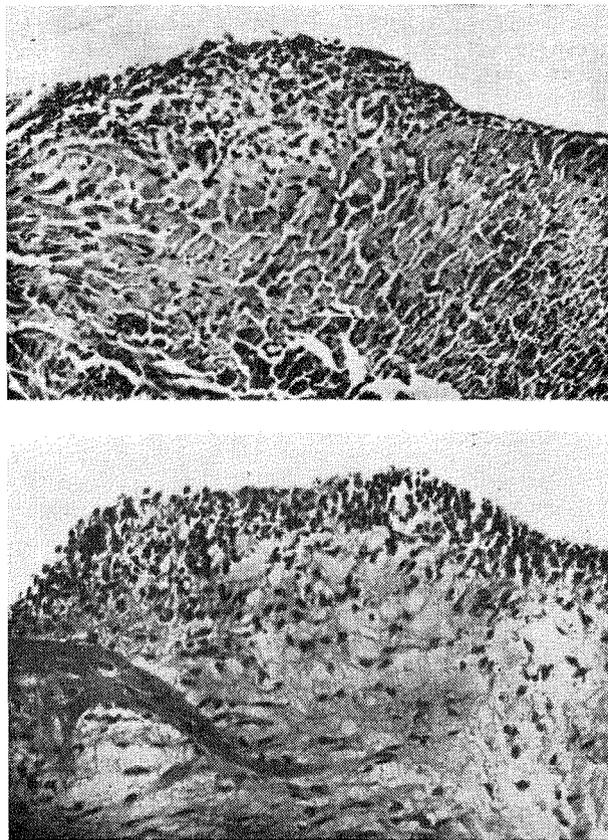


Fig. 78 — Endocardite brucelosa. Em cima: foco infiltrativo do endocárdio; em baixo: foco infiltrativo na válvula mitral. Infecção experimental em cobaia. Segundo CINTI.

*Pulmão* — A não ser na particularidade da localização, os processos congestivos e condensativos pulmonares são indistinguíveis dos promovidos por germes de outra natureza.

*Ossos* — As alterações histológicas encontradas nos animais inoculados por SMITH & FABYAN foram células grandes, com núcleo vesicular, pobres de cromatina e protoplasma mal corado, análogas às células epitelióides dos focos tuberculosos. A medula se encontrava parcial ou totalmente destruída e, na periferia, havia neoformação inflamatória com produção de pontes ósseas de tecido aureolado, aumentando o contorno ósseo.

As lesões ósseas são mais freqüentes na brucelose pela *Br. melitensis*, com uma proporção até 70%.

LOWBEER fez um estudo minucioso da brucelose óssea no homem e nos animais, particularmente das lesões de coluna. O tecido ósseo medular é substituído por um tecido difuso de granulação, por vêzes edematoso, constituído por grandes e pequenos mononucleares e raros polinucleares. Estendendo-se ao disco, destrói a cartilagem. Em certos pontos forma-se nova superfície óssea, de recalcificação. Destruído o disco intervertebral, o espaço fica estreitado e costuma formar-se aí uma exostose com os ligamentos. Em cães infectados com *Br. suis* as alterações ósseas foram análogas às encontradas por êle em 3 casos humanos.

*Sistema nervoso* — Além dos processos infiltrativos conseqüentes a alterações inflamatórias, com edema, encontrados no sistema nervoso, descreveram-se, nos poucos casos em que se fez autópsia: leptomeningite, proliferação e infiltração de células plasmáticas, linfócitos e grandes mononucleares na pia e na aracnóide no caso de HANSMANN & SCHENKEN; paquimeningite hemorrágica, no de LEVISON & CHRISTENSEN; leptomeningite com focos fibrinosos e infiltração perivascular, na observação de ARIAS-STELLA.

Na meningo-encefalite existe uma córtico-encefalite, notando-se congestão do encéfalo, dilatação vascular e edema da piamáter e da aracnóide. Freqüentes pontos hemorrágicos ou congestivos, sinais portanto de uma meningo-vascularite, assinala VALENTI.

Um tanto diferente é o que se encontra nas alterações angioespásticas. Nelas se encontram: mesarterite granulomatosa, arterite hemorrágica intraparietal, perivascularite irritativa. A última é predominante ou mais freqüente, sendo responsável pelos espasmos vasculares em conseqüência da ação irritativa que faz contrair a adventícia.

Em verdade, as lesões do sistema nervoso provocadas por brucelas têm sido pouco estudadas devido ao reduzido número de doentes que morreram em conseqüência dessas alterações.

NUNNO estudou-as experimentalmente e, em virtude da importância de que se revestem essas lesões, para explicar o aparecimento de sintomatologia nervosa nos pacientes humanos, transcrevemos as principais conclusões a que chegou êsse pesquisador: 1) Pela injeção subdural de grandes quantidades de brucelas vivas, aparecem alterações

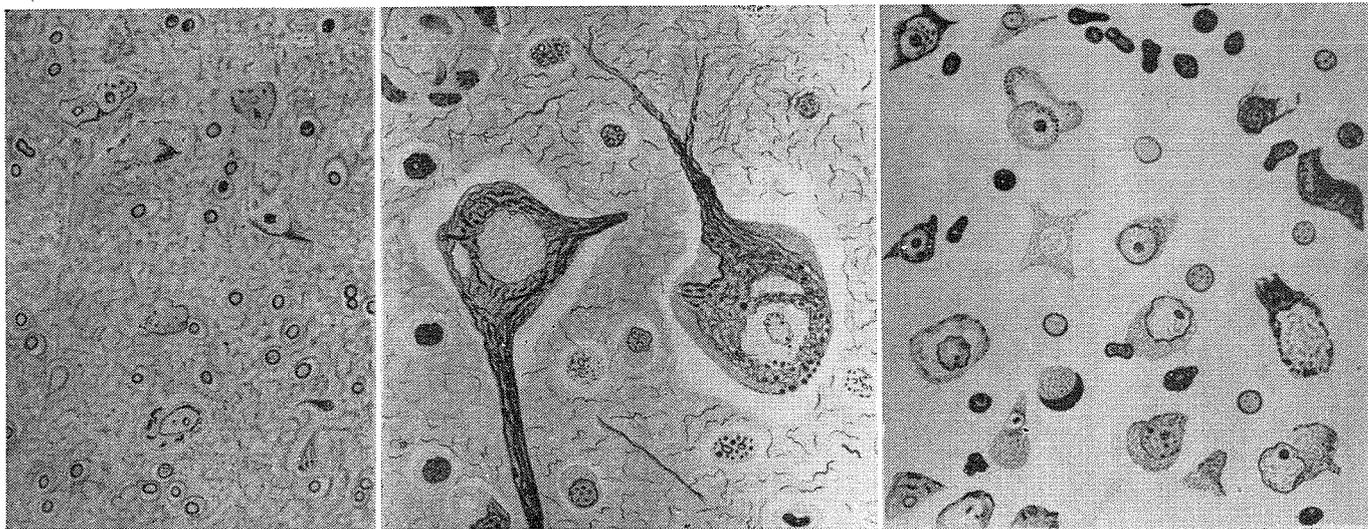


Fig. 79 — Alterações no sistema nervoso central produzidas por brucelas, em coelhos. A direita e no meio: inoculação de cultura viva de *Br. melitensis*, morte após 4 meses, com alterações das células piramidais pequenas e médias, tumefação do núcleo, citoplasma com aspecto espumoso, cariorrexis, retículo pouco alterado. À esquerda: inoculação de cultura morta de *Br. abortus*. Segundo NUNNO.

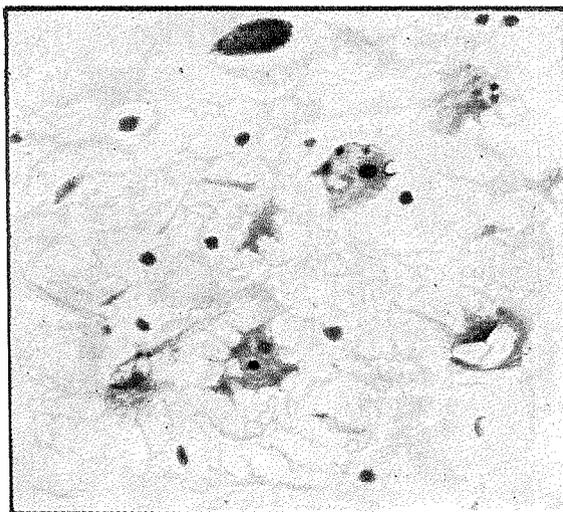


Fig. 80 — Lesões do sistema nervoso central em camundongos inoculados com toxinas de brucelas; corte de encéfalo; coloração cresil-violeta. Explicação na Fig. 81. Segundo PACHECO & Cols. Original.

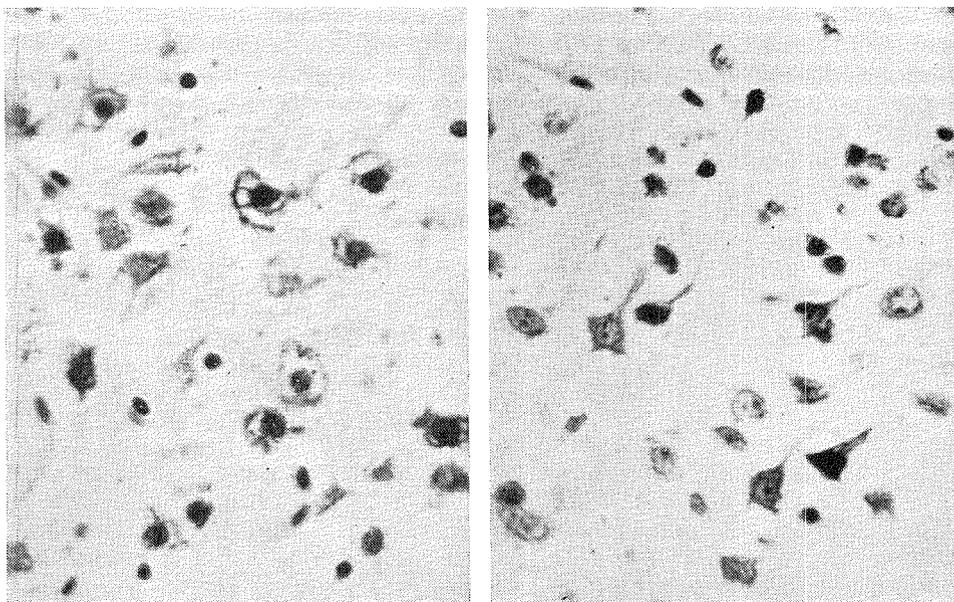


Fig. 81 — Lesões do sistema nervoso central em camundongos inoculados com toxinas de brucelas. Coloração cresil-violeta. A esquerda: corte de encéfalo mostrando células nervosas alteradas, núcleos picnóticos, alguns excêntricos, outros já em cariólise; protoplasma com dissolução da substância cromófila (granulações de Nissl); vacuolizações e alguns elementos em fase final de desagregação; elementos em hiperchromatose; sombras celulares (doença celular grave); núcleos de macroglia hiperchromáticos; microglia sem alteração. A direita: alguns núcleos normais, outros hiperchromáticos; fusão das granulações de Nissl; encarquilhamento. Segundo PACHECO & Cols. Original.

nos vasos e nas células nervosas. Nos vasos encontram-se alterações constantes de hiperemia, degeneração vascular, infiltração leucocitária com "plasmazellen" da camada adventícia. No interior dos vasos há leucopenia e formação de trombos. Glia intacta. As principais alterações do sistema nervoso central são redução do número de células e alterações nas restantes; ausência de mitocôndrias; cromatólise, cariólise e picnose; destruição das neurofibrilas e do retículo; infiltração leucocitária. Todas estas alterações foram vistas no cerebelo e no bulbo, menos acentuadas na medula, ausentes no cérebro e nos nervos periféricos. A injeção intravenosa do dôbro da quantidade de germes inoculados por via subdural, mostrou as mesmas alterações, acrescidas de outras na medula e no bulbo, bem como nos nervos periféricos. Não foi possível verificar se as lesões dos nervos periféricos eram conseqüências de lesão medular ou do cilindro eixo. 2) Pela injeção subdural de culturas mortas, portanto de endotoxina, as lesões foram análogas às das culturas vivas, com a diferença que nos arredores dos pontos injetados as alterações eram mais intensas que as dos pontos mais distantes. Ainda aqui o cérebro não era alterado. NUNNO julga que as lesões encontradas não foram de causa traumática, pela introdução dos germes, sobretudo porque a via venosa produziu alterações análogas (Fig. 79). As amostras utilizadas eram pouco virulentas e os coelhos apresentaram forma de brucelose crônica.

Muito recentemente, PACHECO & Cols. realizaram experiências com toxinas de *Br. abortus*, obtidas por filtração de culturas ou pelo rompimento das brucelas (congelamento e descongelamento), verificando lesões no encéfalo (Figs. 80, 81). Os camundongos inoculados intravenosamente com filtrados, mostraram alterações regressivas, como vacuolização do citoplasma, necrobiose e necrose nas células dos centros nervosos, de mistura com células aparentemente normais; a microglia das áreas afetadas apresentava alterações correspondentes ao início da mobilização; dilatação aguda dos oligodendrócitos, sem dilatação amebóide dos astrócitos; vasos sanguíneos e meninges normais. Os camundongos inoculados por via peritoneal apresentaram reações tóxicas ou primárias das células nervosas e ligeira proliferação da microglia; oligodendrócitos normais. Os animais inoculados intravenosamente com extratos de germes rompidos mecânicamente, mostraram infiltração linfocítica da leptomeninge, hiperemia, infiltração perivascular por mononucleares, tumefação aguda das células de Purkinge e dos oligodendrócitos, bem como edema; microglia e astrócitos normais. Nos camundongos injetados com esse material, por via peritoneal, notavam-se as mesmas alterações, além de clasmátodendrose de astrócitos e meninges normais.

Num caso de meningo-encefalite brucelosa humana, DOGLIANI descreveu, em 1954, a sintomatologia e as lesões no sistema nervoso, além doutros órgãos. As principais alterações foram as seguintes: flogose intensa ao nível das leptomeninges cerebrais e medulares; capilares sanguíneos hiperplásicos no endotélio, freqüentemente rodeados por manguitos de elementos celulares da flogose; plexos coróides muito congestionados. No parênquima nervoso fibrilas com graus variáveis de alterações; edemas e degeneração turva. Nesse caso de DOGLIANI, como se vê, as lesões principais foram encontradas na meninge.

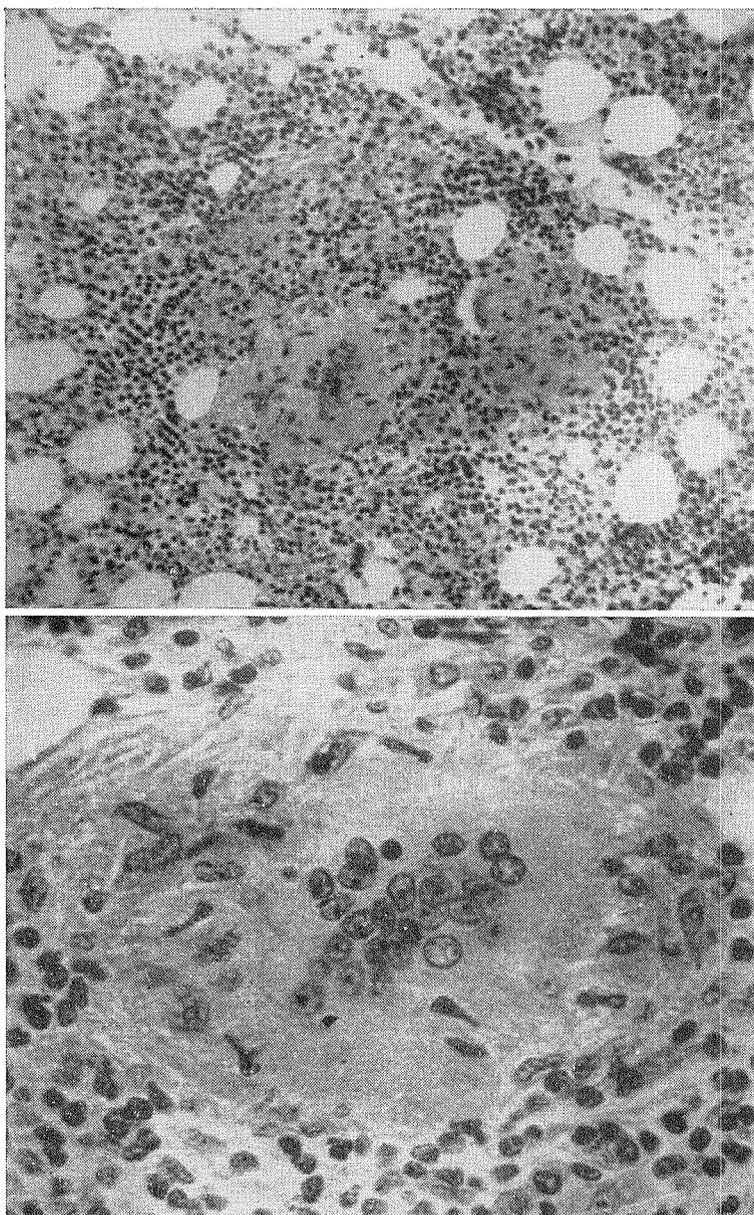


Fig. 22 — Nódulos com células epitelióides e gigantes rodeadas por linfócitos e células mono-nucleares; medula óssea do esterno. Segundo SUNDBERG & SPINK.

*Glândulas* — A literatura refere, ainda, lesões necróticas da suprarrenal (CHASSET) e pancreatite intersticial (ROTHENBERG), segundo ARIAS-STELLA. Orqui-epididimite com alterações espermáticas e hormonais fo-

ram assinaladas por DE LA BALZE & Cols., podendo ser causa de esterilidade masculina.

*Medula óssea* — O estudo da medula óssea foi feito com os detalhes necessários por SUNDBERG & SPINK; os granulomas também são obser-

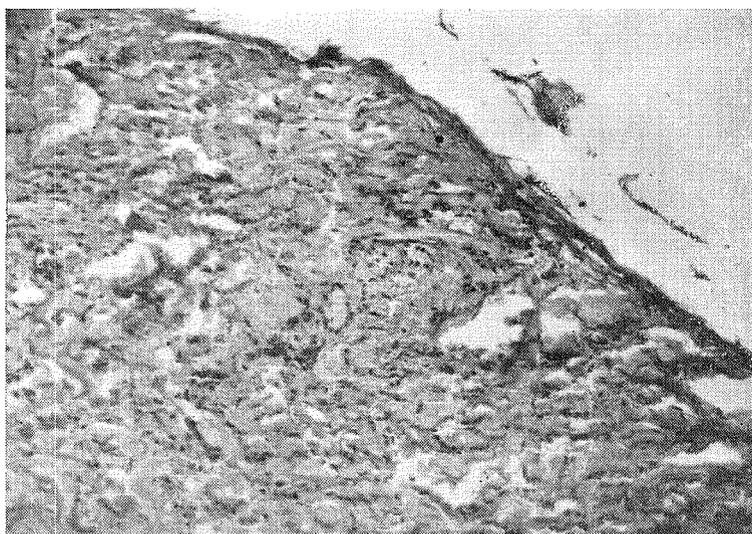
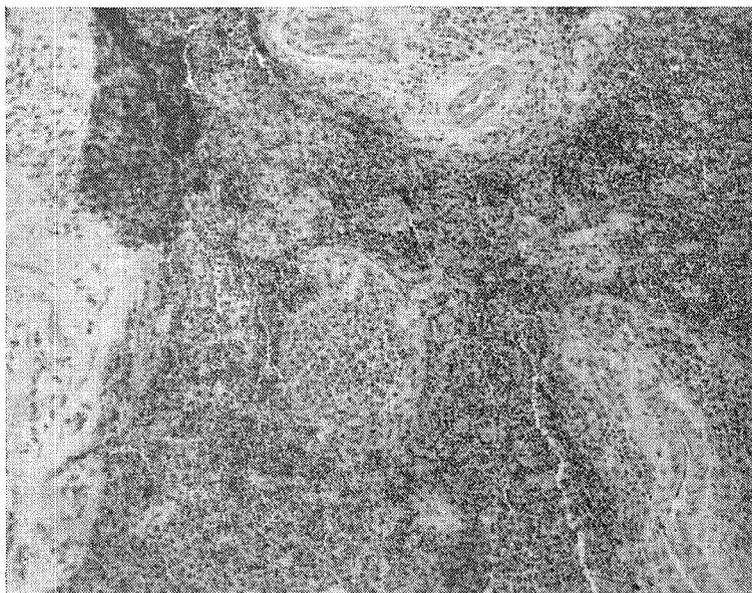


Fig. 83 — Escrófula brucelosa. Em cima: nódulos subcutâneos; em baixo: lesões destrutivas da pele. Segundo Pacheco.

vados: nódulos com células epitelióides e gigantes, rodeados por linfócitos e células mononucleares (Fig. 82).

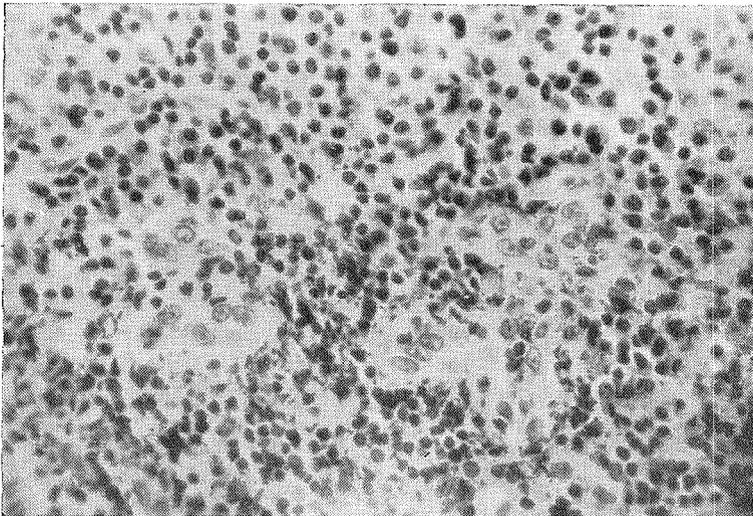
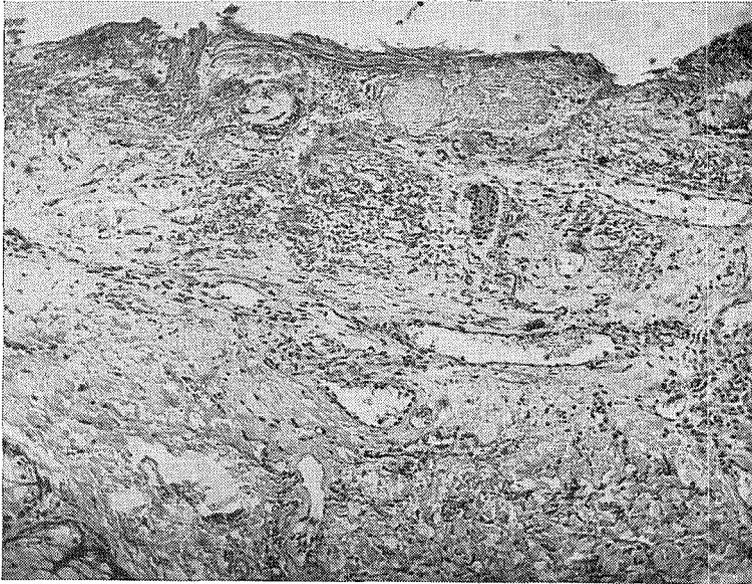


Fig. 84 — Dermatobrucelose. Em cima, corte na zona lesada; em baixo, nódulo com granuloma e células linfóides. Original.

Trabalho muito importante é o de HAMILTON, que examinou a medula óssea obtida por aspiração da crista ilíaca de 30 egípcios infectados por *Br. melitensis*; não considera os granulomas observados, carac-

terísticos ou distintivos da brucelose, somente com o exame histopatológico.

*Pele* — As lesões cutâneas da brucelose têm sido estudadas em várias oportunidades. Observaram-se nódulos, lesões destrutivas, granulomas e células linfóides (Figs. 83, 84).

Em resumo, na distribuição e localização das brucelas, estas seguem preferencialmente o sistema retículo-endotelial e determinam processos infiltrativos e proliferativos acompanhados de reações exsudativas. Neste conjunto se encontra explicação para a totalidade dos múltiplos sintomas observados nas formas clínicas da brucelose. Fenômenos inflamatórios, perturbações funcionais e destruição parcial dos parênquimas orgânicos esclarecem os sinais clínicos observados na doença. Acentua ARIAS-STELLA o polimorfismo anátomo-patológico que, no entanto, permite individualização anatômica da brucelose.

#### BIBLIOGRAFIA

- ABERNATHY, R.  
1951. J. Clin. Invest., 30:626.
- ABERNATHY, R. & SPINK, W. W.  
1952. J. Clin. Invest., 31(11):947-957.
- AJELLO, L.  
1951. Boll. Ist. Sier. Mil., 30(1-2):1-17.
- ARIAS-STELLA, J.  
1949-51. Rev. Med. Exper., 8:215-225.  
1951. An. Fac. Med., Lima, Peru, 34:429-517.
- BALZE, F. A. DE LA & COLS.  
1951. Rev. Asoc. Méd. Arg., 65(713-714):616-627.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 54.
- BRAUDE, A. I.  
1951. J. Inf. Dis., 89(1):76-86; 87-94.
- BRAUDE, A. I. & ANDERSON, D.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 50-61.
- BRAUDE, A. I. & SPINK, W. W.  
1951. J. Inf. Dis., 89:272-276.
- BUDDINGH, G. J. & WOMACK, F. C., JR.  
1941. J. Exp. Med., 72:213-222.
- BUENO, P.  
1942. Arq. Inst. Biol., 13:291-298.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1947. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 64(3): 298-302.  
1949. Gac. Med. Mexicana, 79:7-12.

- CINTI, G.  
1950. Arch. De Vecchi An. Pat. Med. Clin., 14(3):759-799.
- DICKEY, J. W., JR. & FORBUS, W. D.  
1945. Amer. J. Path., 21(2):195-202.
- DOGLIANI, P.  
1954. Riv. Patol. Nerv. Mentale, 75:1-18.
- EYRE, J. W. H.  
1908. The Lancet, 1:1677-1682.
- FABYAN, M.  
1912. J. Med. Res., 26(132):441-487.
- FORBUS, W. D. & COLS.  
1942. Amer. J. Path., 18:745-748.
- GOODPASTURE, E. W. & ANDERSON, K.  
1937. Amer. J. Path., 13:149-174.
- HAMILTON, P. K.  
1954. Amer. J. Clin. Path., 24(5):580-587.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant fever). 2nd. ed., rev., New York: 671 págs.
- HANSMANN, G. H. & SCHENKEN, J. R.  
1932. Amer. J. Path., 8(4):435-444.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. Ed., New York: 379 págs.
- HUTCHINGS, L. M. & COLS.  
1944. Amer. J. Vet. Res., 5:195-208.
- JAFFÉ, R. H.  
1922. Virch. Arch. Path. Anat., 238(1):119-134.
- JORDAN, C. F.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 98-115.
- KLIMMER, M. & HAUPT, H.  
1923. Virch. Arch. 242:350-354.
- LEVISON, P. & CHRITOFFERSEN, N. R.  
1936. Rev. Neur., 65(3):646-651.
- LÖFFLER, W. & ALBERTINI, A. VON  
1930. Krankheits forschung, 8:1-16.
- LOWBEER, L.  
1946. Proc. Staff Meet. Hillcrest Mem. Hosp., 3:7-28.  
1949. Proc. Staff Meet. Hillcrest Mem. Hosp., 6:1-36.
- MARSTON, J. A.  
1861. Em Huddleson.
- MAZZA, S. & JÖRG, M. E.  
1948. Publicação n.º 19, M. E. P. R. A.: 63 págs.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, Set.: 667-674.
- MCCULLOUGH, N. B. & EISELE, C. W.  
1951. A. M. A. Arch. Int. Med., 88:793-802.

- MEYER, K. F. & Cols.  
1922. J. Inf. Dis., 31:159-197.
- NUNNO, R.  
1914. Deut. Arch. Klin. Med., 116:275-294.
- NYKA, W.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 675-690.
- PACHECO, G.  
1950. Rev. Bras. Med., 7(10): 651-655.
- PACHECO, G. & Cols.  
1955. WHO/Bruc. Inform. Series, March, n.º 109.
- PAMIR, Z. H. & BERKOL, B.  
1950. Rev. Turque Hyg. Biol. Expér., 10(1):22-33.
- PARSON, P. B. & POSTON, M. A.  
1939. South Med. Journal, 32:7-13.
- RÖSSLE, R.  
1933. Münch. Med. Woch., 80(1):5-6.
- SCHROEDER, E. C. & COTON, W. E.  
1913. Em Jordan.
- SHARP, W. B.  
1934. Arch. Path., 18(1):72-108.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SMITH, T.  
1919. J. Exp. Med., 29(5):451-456.
- SMITH, T. & FABYAN, M.  
1912. Z. Bakt., 61(7):549-555.
- SPINK, W. W.  
1948. Ann. Int. Med., 29(2):238-258.  
1952. Amer. J. Clin. Path., 22(3):201-210.  
1952. N. Engl. J. Med., 247:603-610.
- SPINK, W. W. & Cols.  
1949. J. Lab. Clin. Med., 34(1):40-58.
- SPINK, W. W. & HALL, W. H.  
1952. J. Clin. Invest., 31(11):958-968.
- SUNDBERG, D. & SPINK, W. W.  
1947. Blood, J. Hemat., Suppl. I:7-32.
- URTEAGA B., O. & Cols.  
1954. Arch. Peruanos Patol. Clin., 8:437-460.
- VALENTÍ, P. F.  
1943. Neurobrucelosis. Barcelona: 116 págs.
- WELLMANN, Ct.  
1952. Z. Bakt., I Orig., 158:513-518.
- WOHLWILL, F.  
1932. Virchow Arch. Path. Anat., 286(1):141-156.
-

## CAPÍTULO VII

---

### Clínica

Define-se a brucelose como a infecção por brucelas. Na sua simplicidade a definição afasta a característica primitiva de doença febril com mais outros sintomas, os quais nem sempre estão presentes, inclusive a febre, anteriormente considerado o mais conspícuo deles, e que trouxe à doença, tantas denominações sem qualquer vantagem de ordem prática.

Como toda doença infectuosa, a brucelose representa um ciclo em que há penetração do germe, sua disseminação, manifestações de sintomas conseqüentes a desordens promovidas pela sua implantação no organismo, evolução decorrente do parasitismo, declínio. No entanto, nem todas as infecções seguem à risca esse padrão de patologia, sendo a brucelose uma delas, por apresentar peculiaridades que lhe concedem foros de originalidade.

Dentre essas características merece ressaltar aquela que decorre da patogenia das brucelas, particularmente das do boi e do porco, que, com frequência, provocam infecções toleradas, ou mesmo inaparentes, isto é, não fazem aparecer sintomas ruidosos; por vêzes, nenhum sintoma. Esta particularidade dificultou o acerto do período incubatório da doença, mormente nas infecções de origem bovina e porcina. As brucelas destes animais provocam infecções pouco ruidosas com muito maior frequência que a da cabra. Nos animais, que podem ser considerados os depositários naturais do germe, a penetração das brucelas não é tão universal, como no homem que se infecta com todas. Contudo, a brucela do boi já tem sido encontrada no cavalo, a do porco no boi e a da cabra, no boi e no porco. Vê-se, então, que a brucela da cabra, além de ser a mais virulenta no sentido de provocar no homem infecções mais graves, é capaz de infectar os outros animais domésticos indistinta e mais freqüentemente.

---

#### A — PERÍODO DE INCUBAÇÃO

Para a brucelose originária da cabra fixou BRUCE, em soldados que chegavam à base inglesa da ilha de Malta e que adoeciam em seguida, ser o período incubatório de 14 a 17 dias. Mas SIMPSON observou incubação em menor período, de 5 dias, podendo prolongar-se até 3 semanas. HUDDLESON & MUNGER estabeleceram-na entre 10 dias a 2 semanas.

Bastante precisas são as datas determinadas por MORALES-OTERO, em provas experimentais humanas, em voluntários, tendo encontrado um tempo de incubação entre 11 a 35 dias.

CANTALOUBE fixou-o entre 2 a 3 dias, no mínimo, e em 9, no máximo.

SIGNORELLI refere a existência de observações exatas que demonstram a possibilidade de poucos dias para a incubação.

Nesta fase, como sempre acontece nas doenças infectuosas, a infecção é silenciosa e o aparecimento dos primeiros sintomas denota a disseminação do germe no organismo ou a localização em determinado órgão ou aparelho, com posteriores sinais decorrentes disto.

Concorrem, na facilidade de infecção, e portanto no tempo de incubação, a virulência do germe, o seu número e os demais fatores conhecidos das doenças infectuosas.

---

## B — IMPLANTAÇÃO DO GERME NO ORGANISMO

A penetração das brucelas se faz por várias vias. Neste particular elas se apresentam como os germes menos exigentes, isto é, aqueles capazes de ingressar por qualquer via, pele ou mucosa, e de se disseminar no organismo. Tudo depende das condições favorecentes dessa penetração, como foi visto na Epidemiologia.

Um vez introduzido nos tecidos, duas eventualidades podem suceder. O germe se localiza no próprio tecido ou órgão da penetração, útero e anexos, amígdalas, por exemplo, ou, o que é mais comum, difunde-se para este ou aquele órgão, ou para todo o organismo.

Nesta segunda hipótese, são as vias linfáticas o caminho preferencial para a penetração mais profunda e a disseminação. Apesar da facilidade com que as brucelas transpõem os tecidos, sua progressão é em geral lenta. Conseguiu-se verificar sua presença no baço e na medula óssea em poucos dias, ou mesmo horas, porém em condições experimentais. Para que atinjam elas os órgãos e se multipliquem suficientemente a provocar sintomas, decorre um prazo de 1 a 2 semanas. Nesta fase é que aparecem as reações demonstrativas de sua presença e se dá a impregnação do organismo. Alguns tecidos e órgãos merecem certa preferência: órgãos linfóides, medula óssea, vísceras abdominais (fígado e baço), articulações, ossos, órgãos genitais, o que tem uma grande significação clínica e higiênica.

O êxito da infecção, a gravidade do caso, a evolução da doença, dependem, como sempre, de uma série de fatores nêles interferentes, os quais podem variar ao infinito.

A virulência do germe diverge com a espécie e com amostras da mesma espécie. A brucela da cabra é muito mais virulenta que as do boi e do porco, determinando, por isso, infecções muito mais graves e ruidosas, com sintomatologia bastante mais evidente. Todavia, entre os germes de origem bovina e suína, deparam-se amostras de grande atividade patogênica, sendo um dos fatores condicionantes desta, a transformação rugosa, vista na Etiologia. Isto é mais comum nas amostras conservadas em laboratório, mas pode ser também observado naquelas isoladas de animais. Com esta modificação a virulência reduz-se consideravelmente.

O grau de infecciosidade condiciona a maior ou menor facilidade de contaminação. É assim que o germe da cabra pode mais facilmente infectar o boi que o germe bovino contaminar a cabra. Todavia esta última possibilidade também ocorre.

Não é difícil contaminar-se o homem com qualquer delas, embora mais facilmente com a da cabra, seguindo-se-lhe a do porco, e, por fim, a do boi. Onde esta espécie é mais abundante e os contactos são multiplicados, criam-se maiores possibilidades de contágio.

Somando tudo, ficam igualmente freqüentes as contaminações humanas com as brucelas da cabra, do porco e do boi, porque, como animais domésticos, as possibilidades de contágio se repetem amiúde e indefinidamente, condição essencial para que se propaguem as doenças infectuosas, qualquer que seja a via transmissora. É esta a razão porque moléstias relativamente pouco disseminantes como a tuberculose, por exemplo, acabam se espalhando mais que a maioria das outras doenças. Os contactos tornam-se repetidos pela permanência da doença nos infetados contagiantes.

Depende o êxito da infecção brucelosa do próprio organismo, cujo grau de resistência pode promover a morte do germe logo após a penetração, circunscrevê-lo no local, ou permitir que se dissemine. As experiências em animais e as de MORALES-OTERO em voluntários, demonstram a inviabilidade do germe em muitas circunstâncias, após sua penetração no organismo. Uma condição refratária pode resultar de um estado de resistência natural, de uma infecção preexistente ou de uma latente. Contudo, uma sólida imunização no sentido daquela conferida por numerosas outras infecções como a febre tifóide, as doenças eruptivas, por exemplo, não foi ainda demonstrada na brucelose. Antes pelo contrário, tudo leva a crer que nesta doença se crie uma defesa do tipo da que SERGENT denominou imprópriamente de "premunicação", isto é, um estado de defesa orgânica só enquanto dura a infecção, como se observa na tuberculose, na sífilis, no carbúnculo e em outras mais.

A particularidade de um organotropismo pelo sistema retículo-endotelial ou pelos órgãos ricos dêle (sistema linfático, medula óssea, fígado, baço) para sua localização provisória ou definitiva, classifica a brucelose essencialmente como uma retículo-endoteliose. Isto facilita a disseminação das brucelas por todo organismo, ao mesmo tempo que favorece o prolongamento da infecção pela resistência peculiar oposta por êsse sistema de defesa orgânica.

---

### C — SINAIS PRODRÔMICOS

Em muitos casos, mormente nas infecções pelo germe da cabra, a brucelose inicia-se pela febre e outros sintomas comuns às doenças infectuosas. De outras vêzes, isso não acontece, e as manifestações clínicas, então, tornam-se variáveis em forma e número, assumindo, amiúde aspectos esdrúxulos.

Ao instalar-se a infecção, e antes do aparecimento de sintomas bem caracterizados, o paciente experimenta os sinais pertinentes às infec-

ções em geral: moleza, indisposição para o trabalho e para o esforço, cansaço fácil, sensação de calafrios, inapetência, dores pelo corpo, suores sem causa visível. Como freqüentemente ocorre, tais sintomas verificam-se na parte da tarde. Esse estado pode durar alguns dias para, então, seguir-se dos sintomas da doença pròpriamente.

Outras vèzes, inicia-se bruscamente, sem estágio prodrômico.

Cataloga IBARRA uma série de tipos iniciais da doença:

1) *Início com acesso febril brusco*, observado em 254 de 800 doentes estudados por êle, com elevações térmicas vesperais, de 40 a 41°C, durando de 6 a 8 horas, ou mais baixas, de 38 a 39°C, contínuas ou irregulares, entre 38 a 40°C, acompanhadas tôdas de sudorese profunda, às vèzes, epistaxe, algias, cefaléia e outros sintomas.

2) *Início com dores articulares*, mais freqüentes nos quadris, joelhos e cotovelos, outras vèzes, nos punhos e na articulação tíbio-társica, em 97 doentes.

3) *Início com sintomas progressivamente agravados*, quadro térmico intermitente, diário ou interrompido por fases de acalmia, não durando menos de 2 meses, visto em 75 dos doentes.

4) *Início com sintomas digestivos*, gastrite, dispepsia, enterite ou colite, em 68 pacientes.

5) *Início com sintomas respiratórios*, apresentando síndromes respiratórias, tosse, bronquite, condensação pulmonar, às vèzes, epistaxe ou febre, durante 1 a 2 semanas, em 5 doentes.

6) *Início com astenia predominando*, surgindo a febre posteriormente, em 45 casos.

Observou, também, casos em que predominavam, de início, ora epistaxe, ora cefaléia, anorexia, vômitos, obstipação, algias testiculares, orquite, mastite, disartria, hipoacúsia, contraturas musculares do pescoço.

#### D — FORMAS CLÍNICAS GERAIS

Do ponto de vista clínico, a brucelose exhibe duas formas principais: aguda e crônica.

SIGNORELLI, entretanto, distingue 3 formas clínicas:

- forma febril, pura, sem localização definida;
- forma aguda, de início brusco e com caráter septicêmico;
- forma apirética desde o comêço.

Acentua HARRIS as dificuldades para a distinção de formas clínicas da brucelose, diante da sua variabilidade, mas admite também as duas formas, aguda e crônica, uma vez que não se podem abarcar por designações tôdas as formas clínicas, tantas são as manifestações da doença.

Assinala HARRIS, que HUGHES já distinguia os seguintes tipos:

malígnos de início brusco, febre alta, evolução grave, terminação fatal;  
ondulatórios, os mais comuns, de evolução prolongada;  
intermitentes, insidiosos e benignos;  
irregulares e mistos.

SIMPSON, acrescenta HARRIS, descreve 5 tipos:

intermitente;  
ambulatório;  
ondulatório;  
maligno;  
subclínico.

CASTAÑEDA admite as seguintes formas:

maligna;  
subaguda;  
ondulante;  
intermitente;  
crônica.

Em verdade, a expressão aguda pode ser admitida com relutância. O conceito de agudo (do lat. *acutus*, cortante) em clínica, é de doença infectuosa de evolução rápida e com manifestações intensas ou graves, opondo-se a crônico (do lat. *chronicus*, de longa duração), portanto, durável, permanente. Ora, o primeiro caso pode ser considerado pouco frequente na brucelose. Os casos chamados agudos não duram menos de 3 a 4 semanas e este tempo é excessivo para uma doença aguda. Ninguém diz tuberculose, micose, sífilis ou boubá aguda pois que estas infecções excepcionalmente evoluem com esse caráter. Mais corretamente se lhes chamaria subagudas e crônicas.

Para certas afecções a nomenclatura pelo grau de evolução não tem significado e nesse grupo entra a brucelose. Realmente, o conceito de forma clínica nas doenças infectuosas, com referência à evolução do processo mórbido ou à localização do agente etiológico e suas conseqüências é, às vezes, difícil de estabelecer, mormente na brucelose.

Em algumas doenças a distinção em aguda e crônica tem cabimento; em outras, como difteria, gangrena gasosa, cólera, botulismo, só existe a forma aguda. Mas na brucelose essa diferença encontra dificuldades pelo caráter proteiforme e irregular da doença. As chamadas formas agudas se prolongam no tempo, apagando-se pouco a pouco a intensidade dos sintomas, até completamente, para reaparecerem depois, em períodos certos ou irregulares.

Admitem SPINK & MAGOFFIN um prazo mais dilatado para a forma aguda, até 3 meses, denominando subaguda à que se prolonga até 1 ano e crônica à que dura mais de ano. Esta tolerância nos prazos é inad-

missível, pelo que foi dito acima. Recentemente, SPINK insiste em considerar brucelose crônica apenas os casos prolongados.

Realmente, a duração da doença é, em geral, longa, e decorre do mecanismo infeccioso. Há referências de GRIGGS, de casos com 10 a 30 anos, segundo VILLAFANE-LASTRA, e de 20 anos, por êste.

PONS & VALENTI chamam a brucelose de doença subaguda crônica.

Como quer que seja, a noção de doença crônica ou prolongada é o aspecto normal, e por que não dizer, característico da brucelose. Quem a contrair deve contar com moléstia para bastante tempo, ao menos nas infecções pelo germe do boi ou do porco. Isto enquanto não aparecer um medicamento que realmente cure de uma vez e certamente, a doença, modificando-lhe esta sua fisionomia fundamental.

Considerando o aspecto clínico podem-se, todavia, catalogar as formas de brucelose, aceitando o estabelecido pelos estudiosos da mesma:

a) *aguda*, de evolução rápida

benigna  
maligna

b) *subaguda ou crônica*

febre irregular  
apirética

Considerando-a quanto aos sintomas, puramente, poder-se-iam admitir, nas formas crônicas:

- a) monossintomáticas
- b) multissintomáticas
- c) assintomáticas (infecções toleradas ou inaparentes)

### 1 — *Brucelose aguda*

A forma aguda é caracterizada pela intensidade dos sintomas e pela ameaça à sobrevivência do doente. Ela pode aparecer no curso de uma forma crônica, isto é, ter havido um surto subagudo desde o início.

Principia de forma insidiosa, com sinais clínicos nada característicos: anorexia, indisposição, adinamia, elevação térmica discreta ou temperatura subfebril. Êstes pequenos sinais duram horas e dias, apresentando os doentes indisposição ou quebrantamento em determinadas horas, mais vêzes, à tarde, quando já se pode apreciar uma pequena elevação da temperatura. Aos poucos ou em pouco, êsses sinais se agravam, e se lhes acrescentam outros: cefaléia, dores nas cadeiras e pelo corpo, mal-estar; outras vêzes, fenômenos de rinofaringite que levam a pensar em gripe ou resfriado. Irritabilidade, insônia e inapetência se juntam à perda de pêso.

Uma saburra cobre as vias digestivas desde a língua; comparecem vômitos; diarréia mucosa, podendo apresentar estrias sanguinolentas,

quando não se instala obstipação rebelde que para muitos faz parte da sintomatologia clássica da brucelose aguda.

Notam-se ainda, dores ou sensação dolorosa à pressão no epigástrico, e dores articulares. Outras vezes, sinais de reação meningéica, de que a cefaléia é um dos sintomas. A sudação é freqüente.

Com o tempo êsses sinais se acentuam. A temperatura sobe até 38°C ou 39°C, ou mesmo acima, precedida de calafrios, sem se acompanhar de prostração, entretanto. Com ela exacerbam-se as dores e os suores, fazendo confundir-se a doença com reumatismo ou gripe.

Raramente a brucelose tem início brusco, computando BASERIA em 7%, segundo SIGNORELLI, a proporção de casos, numa estatística de mais de 100 pacientes com infecção provocada pelo germe da cabra.

Freqüentemente há uma redução da libido e, na mulher, sobre-vém amenorréia.

Em certos casos agudos, o enfêrmo apresenta fácies vultoso, olhar brilhante, febril, em pouco substituído por uma expressão desolada, deprimida, desconsolada.

Apesar de serem mais regulares na forma aguda, mesmo aí essas manifestações podem variar. TOMASELLI assinala, a respeito da irregularidade dos sintomas, que se se quisesse fixar o característico da brucelose "seria dominante êste de não ter nenhum", no sentido de poder ter todos.

Distinguem PONS & VALENTI vários períodos nesta fase inicial:

- prodrômico*, em que os sintomas são indefinidos e pouco acentuados;
- invasivo*, em que os sintomas se acentuam;
- de estádio*, quando os sintomas apresentam o máximo de aparência.

Assinala SPINK que mais vezes as formas agudas decorrem com aspecto de febre tifóide ou de gripe; discretas alterações respiratórias, evoluindo em 1 a 2 semanas, passando freqüentemente à forma crônica, apresentando períodos de melhoras, mas sempre com acentuada adinamia. Associam-se suores, dores difusas ou localizadas, cefaléia, anorexia, nervosismo, depressão mental, insônia. Por vezes, febre do tipo intermitente.

## 2 — Brucelose crônica

A forma crônica é a predominante na brucelose. Resulta êsse caráter crônico do mecanismo patogênico do germe. Desde as primeiras verificações de ZAMMIT e de NICOLLE sôbre cabras, natural e artificialmente infetadas, e do que se sabia do abôrto contagioso bovino, os animais infetados poucas ocasiões aparentavam doentes e progrediam regularmente. O próprio abôrto das vacas aparecia uma ou algumas vezes, e desaparecia por completo, ou reaparecia mais tarde, sem maiores conseqüências para as condições aparentes de vida do animal infetado, embora permanecesse contaminado perenemente. Essa particularidade re-

sulta da pequena virulência relativa do germe, da sua atividade reduzida em provocar lesões, e da evolução demorada das alterações por êle produzidas.

A capacidade patogênica nos animais natural ou experimentalmente infectados, é tão reduzida que Moussu chegou a negar qualquer atividade para determinar doença, na brucela do boi. Acentuou NICOLLE, nos primeiros tempos dos seus estudos sôbre a brucelose, que a aparência normal de cobaias infectadas levou-o a pensar que o germe não as infectava (desprezava-se a fase final da verificação); os animais não eram sacrificados nem praticados exames necroscópicos complementares como êle o fêz depois. Não obstante, a infecção provocava alterações patológicas, mas em virtude das peculiaridades acima, a tendência dos males era para evolução demorada e de poucas conseqüências aparentes para a saúde do animal.

Muito elucidativas para o conhecimento do mecanismo e da evolução da doença foram as provas de infecção experimental humana em voluntários levadas a efeito por MORALES-OTERO. Em 40 indivíduos que ingeriram ou suportaram germes depositados sôbre a pele, 10 se infetaram, apresentando alguns febre ondulante e culturas do sangue positivas. As experiências de MORALES-OTERO foram um complemento das verificações anteriores na Ilha de Malta, resultantes da ingestão de leite de cabra pelos soldados inglêses que ali aportavam. No entanto, avançaram mais sôbre tais observações porque êsse pesquisador conseguiu obter infecções por via cutânea, mediante deposição do germe sôbre a pele depilada como havia sido conseguido, anteriormente, em animais. Foram mais completas porque as observações em Malta fizeram-se com brucelas da cabra, provocadoras de infecções muito mais graves e ruidosas que as do porco e do boi, com que trabalhou MORALES-OTERO. Realmente, a brucela da cabra se revelou ainda, como sempre, mais infetante que as duas outras .

O parasitismo crônico das brucelas, tolerado por isso mesmo, realiza uma condição que deve ser a normal nessa forma de viver de certos parasitos, qual a de se manterem às custas do hospedeiro, sem sacrificá-lo, entretanto. Se estivesse nas suas finalidades destruir o hospedeiro, como às vêzes o fazem os parasitos, isto representaria um verdadeiro suicídio, o que não seria nem razoável nem lógico, pelo menos na aparência. Neste particular, a brucela é um parasito como devem ser os parasitos: vive numa aparente situação de equilíbrio no organismo do hospedeiro, sem prejudicá-lo, muitas vêzes, ou o fazendo em escala reduzida. Disto resultam infecções inaparentes, infecções toleradas, que são extremamente freqüentes na patologia da brucelose. Concorre de modo decisivo para essa situação de equilíbrio tolerante ou prolongado de parasitismo, a penetração do germe nas células, aí se mantendo protegido por estas, enquanto vivem, realizando uma condição de vida intracelular.

Promovendo alterações pouco ativas, ou permacendo dormintes nos órgãos ou sistemas onde se localizam, as brucelas condicionam com isto um dos característicos da doença que é a longa duração. Esta decorre, ainda, da adaptação do germe ao parasitismo citozóico.

De outro lado, o citotropismo da bactéria é universal, não poupando órgão ou tecido e, de tal forma, sendo capaz de provocar as mais diversas lesões e sintomas.

Esta distribuição é bastante significativa por ser atinente a aspectos marcantes da doença.

Infecções inaparentes são, assim, muito comuns na brucelose, mormente na promovida pelas brucelas do boi ou do porco, sobretudo a primeira. Decorrem de peculiaridades assinaladas acima, tal como na sífilis, tuberculose e outras infecções, com as quais se confunde muitas vezes, e condicionadas por um mecanismo idêntico de patogenia.

### E — SINTOMATOLOGIA

Num conjunto de 416 doentes encontraram PACHECO & VEIGA sintomas variados sendo interessante notar que em 89% dos casos não se observara febre. Como pode ser visto no gráfico, predominavam as manifestações nervosas e digestivas (Fig. 85).

Resumem DARLEY & GORDON, num quadro, os dados de vários observadores, demonstrativos da variabilidade sintomática na brucelose. Os próprios autores enumeram todos aquêles sintomas e acentuam, particularmente, as alterações neuropsíquicas: irritabilidade, instabilidade emocional, ansiedade, estados depressivos, insônia, enxaqueca, além de outros com elas correlacionados, nos casos por êles estudados, vistos no quadro abaixo, em porcentagens:

Sintomas	HARDY <i>et al.</i> 300 casos	CALDER 550 casos	MANCHESTER 38 casos	66 contrôles, não bru- celosos	DARLEY & GORDON 74 casos	ANGLE & 562 casos	ALGIE 100 contrôles, não bru- celosos
Fadiga, fraqueza. . . . .	100	89	45	50	80		
Dôres osteomusculares			53	17	65	34	6
Dôres nas costas. . . . .	47	63			32		
Dor no pescoço. . . . .	28	57			7		
Dôres articulares. . . . .	33	49			26		
Dôres generalizadas. . . . .	43	66			22		
Alterações neuropsí- quicas. . . . .	50	87			57	44	26
Insônia. . . . .	35	54			23		
Dor de cabeça. . . . .	63	69	25	4	43	37	15
Obstipação. . . . .	55	57	20	25	19	15	2
Indigestão, dispepsia. . . . .			37	30	30		
Febre. . . . .	100	85	25	2	34	5	1
Tonteados. . . . .		18			24		
Suores. . . . .	83	49	17	1	23		
Calafrios. . . . .	78	51			13		
Dor abdominal. . . . .	33	48			12		
Alterações menstruais		60			28		
Dor à menstruação. . . . .		42			19		
Fluxo menstrual exces- sivo. . . . .		30			9		

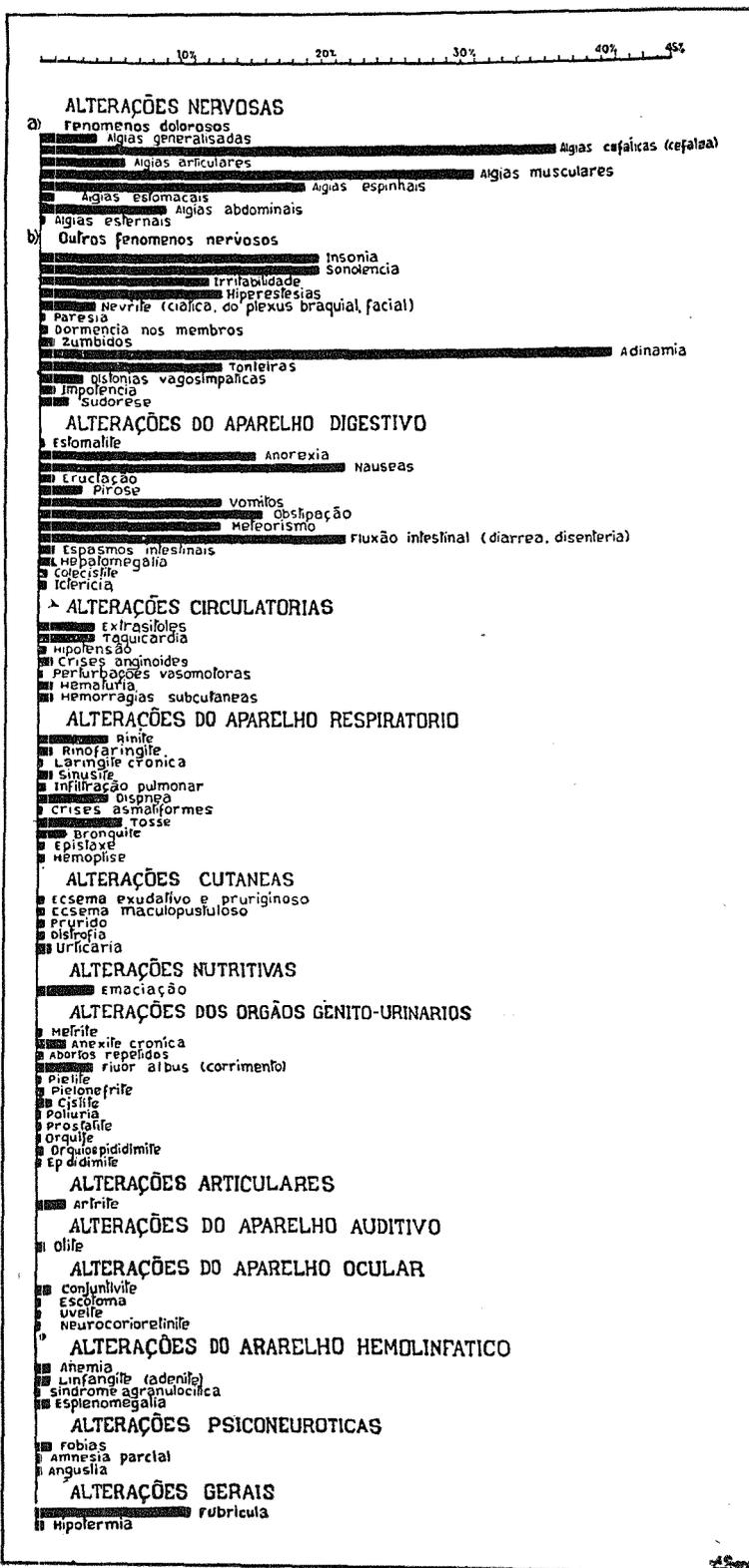


Fig. 85 — Distribuição dos sintomas observados em 416 casos de brucelose. Segundo PACHECO & VEIGA.

Juntamos a sintomatologia observada por IBARRA em 880 casos:

<i>Aparelho digestivo</i>	
Obstipação .....	72
Anorexia .....	38
Diarréia .....	32
Vômitos .....	18
Gastralgia .....	12
Faringite .....	11
Colite .....	6
Espasmos do esôfago .....	2
<i>Aparelho respiratório</i>	
Tosse .....	44
Bronquite .....	11
Congestão pulmonar .....	4
Coriza .....	3
Laringite .....	2
Sinusite .....	1
<i>Aparelho cardiovascular</i>	
Hipotensão .....	27
Algias precordiais .....	7
Extrassístoles .....	6
Bradycardia .....	5
Dispneia .....	4
Endocardite .....	2
Taquicardia .....	2
<i>Aparelho urinário</i>	
Nictúria .....	6
Disúria .....	6
Cistite .....	4
Oligúria .....	3
Poliúria .....	1
Uretrite .....	1
<i>Sistema nervoso</i>	
Cefaléia .....	56
Insônia .....	20
Polinevrite .....	20
Ciática .....	19
Delírio .....	12
Hipoacúsia .....	5
Paresia .....	3
Psicose .....	3
Estrabismo .....	2
Meningismo .....	1
Cegueira temporária .....	1
Outras manifestações nervosas .....	38

AVERY refere as seguintes freqüências de sintomas:

	%
Fraqueza (adinamia) .....	100
Suores .....	85
Calafrios .....	78
Dores (cefaléia, dor nas costas, no pescoço, nas articulações, cólicas) .....	30 a 50, cada uma
Anorexia .....	60
Insônia .....	35
Nervosismo .....	50
Febre .....	100
Emaciação .....	90
Abdôme doloroso .....	20
Leucopenia .....	60

Observou, ainda, palpitações, dispnéia, extrassístoles, hipotensão, flebite, endocardite e outras alterações.

Enumera SIGNORELLI os seguintes sintomas comparecendo na brucelose, em 318 casos observados por TAYLOR & Cols. na França:

	N.º	%
Astenia .....	121	38,1
Dores (articulares, musculares e outras) ..	54	17
Astenia com cefaléia e outras dores .....	30	9,4
Cefaléia .....	29	9,1
Astenia com calafrios ou febre .....	25	7,9
Dores com calafrios ou febre .....	24	7,5
Febre .....	15	4,7
Calafrios .....	7	2,2
Angina .....	6	1,9
Bronquite e outras alterações pulmonares	5	1,6
Orquite .....	2	0,6
	318	100

Êstes casos tiveram os diagnósticos de febre ondulante (38,4%), gripe (30,6%), bronquite, pneumonia, tuberculose, salmonelose (febres tifóide e paratifóide), reumatismo articular, malária, angina, febre criptogênica, ciática, congestão renal, meningite, orquite, difteria, nevralgia intercostal, distúrbio de menopausa, neurastenia e cálculos biliares.

PANZERI, lidando com a brucelose numa região altamente infectada, notou como sintomas predominantes a febre ou febrícula, de vários tipos; suores, principalmente nos casos agudos; alopecia; astenia quase constante; neurastenia; algias ósseas, musculares ou articulares, estas com ou sem exsudação, únicas ou múltiplas; cefaléia, extremamente freqüente; esplenomegalia; sintomas gastro-intestinais, principalmente vômitos, diarréia; anemia, linfocitose e monocitose; tendência hemorrágica; amenorréia; abortos; orqui-epididimites; hemoptises, pneumonias, pleu-

risias e asma brônquica; hipotensão, alterações de ritmo cardíaco; nevrites, paraplegias e até demência, desaparecida com a cura.

Assinala VILLAFANE-LASTRA que freqüentes vêzes o paciente se queixa de esgotamento, irritabilidade, alteração do humor, depressão, enfim, estados neurastênicos ou, mesmo, demenciais.

Numa epidemia de origem bovina observada por GIANI, registrou êste os seguintes sintomas: cefaléia, 8 vêzes; dores musculares, 4 vêzes; dores articulares, 6; febre, 10; suores, 7; obstipação, 5; diarréia, 1; raqui-algia, 2; esplenomegalia, 8; hepatomegalia, 5; inapetência, 1; mal-estar, 2; astenia, 6; nevralgias, 3; anemia, 1.

Citando MACGIN & CAMBRELL, MOSS assinala 150 manifestações diferentes da brucelose crônica.

A multiplicidade de sintomas, vista acima, é uma das peculiaridades da brucelose, e tem sido observada por todos os que lidaram ou lidam com a doença. Esse aspecto assume importância particular na forma crônica, na qual se encontra amiúde um, alguns ou muitos sofrimentos no mesmo doente.

MORONES assinala: desequilíbrio psíquico com melancolia e irritabilidade, manifestações purpúricas decorrentes da endoteliose, acromia e discromia cutâneas progredindo até melanodermia, prostração que denomina "adissonismo bruceloso".

Comparecem os sintomas, por sua vez, em tempos diversos, podendo desaparecer para sempre um ou outro dêles, ou se renovarem mais tarde, em períodos regulares, todos dependentes da mesma causa. Isto porque alguns representam localização e desenvolvimento de brucelas neste ou naquele ponto do organismo; outros, senão a maioria, decorrem de manifestações alérgicas ou de sensibilização, sujeitos, portanto, às regras dessa classe de fenômenos.

Neste dédalo de manifestações, ou em presença de um ou outro sintoma esdrúxulo atribuível a muitas causas, terá de se debater o raciocínio clínico para lobrigar a infecção brucelosa como causa determinante. Daí a dificuldade do diagnóstico puramente clínico; é o que será visto no capítulo conveniente.

Certo número de sintomas, entretanto, são mais contraditórios ou predominantes nas formas crônicas da brucelose e, por que não dizer, também nas agudas. São aquêles decorrentes de alterações nervosas: astenia, febre, dores, cefaléia, nervosismo, perda do humor, seguindo-se outras perturbações a elas correlacionadas, como inapetência, obstipação, dispnéia, hiper ou hipotensão, suores.

Parece que a toxina brucelosa tem um neurotropismo acentuado, promovendo uma sensibilização particular no sistema nervoso, condicionante da preponderância dos sintomas neuropsíquicos. Quase se pode afirmar que não havendo mais de um sintoma no doente, o que existe é daquela origem.

São corriqueiros os casos em que os pacientes apenas apresentam neurastenia, cefaléia, dores nas cadeiras, num só membro ou numa articulação, obstipação ou febrícula, sem mais nada. Contudo, não podem

livrar-se delas, por mais que procurem fazê-lo com os mais variados meios e tentativas terapêuticas.

*Febre* — A primitiva noção era de febre como sintoma constante na brucelose. Como outros sinais, ela permanece no tempo. Juntamente com a indisposição e demais sintomas, dela acompanhantes, que dão a sensação de doença, forçaram a denominação primitiva de *febre*, quase sempre associada a outro nome qualquer, para a brucelose: febre de Malta, febre gástrica, febre mediterrânea, etc. SIGNORELLI a caracteriza, ainda, como doença de evolução mais ou menos prolongada, com sintoma dominante fundamental que é a febre, pelo menos no início. Essa noção hoje é insubsistente. Quando muito, pode-se tolerá-la para grande número de infecções pela brucela da cabra.

Atualmente não se pode mais atribuir à febre o valor que lhe era concedido na sintomatologia. Reconheceu-se não ser ela sempre constante na brucelose, sobretudo na forma crônica que é absolutamente predominante nas manifestações clínicas da doença. Mesmo na fase inicial (febricitante), está longe de se apresentar a febre no quadro sintomatológico como freqüente. Antes, pelo contrário, grande número de casos começam e evoluem absolutamente sem febre em qualquer tempo da enfermidade. Essa noção é essencial para o clínico, sem a qual dificilmente pensará êle em brucelose, arraigado como se acha o antigo conceito da “febre melitense” ou “febre ondulante”, no seu espírito. É uma idéia antiga que se torna indispensável afastar. Todavia, a elevação térmica, sobretudo quando persistente, é um sintoma a ser levado em conta na pesquisa da doença, máxime quando assume o aspecto ondulatório, com caráter permanente ou recidivante.

No início das formas agudas a febre comparece sempre, diz SIGNORELLI, que distingue vários tipos:

- 1) contínua, de 1 a 2 semanas, e acompanhando sinais de extrema gravidade;
- 2) contínua remitente, com temperatura elevada de comêço, passando a intermitente ou ondulante;
- 3) intermitente, com elevação, logo seguida de normalização intercalada;
- 4) ondulante, com elevações durante 1 ou 2 semanas com descidas durante alguns dias, seguindo-se nova onda;
- 5) febrícula, com temperatura subfebril.

HARDY encontrou os tipos maligno, ondulatório, intermitente em 14%, e hiperpirético em 2%.

Acentua SIGNORELLI, a respeito da febre na brucelose, que o seu característico mais importante é o da atipia e BELGRANO afirma até que a “febre ondulante” é a que menos se vê na Espanha, onde, entretanto, domina a brucelose da cabra.

Nota-se, com referência à hipertermia, desde o tipo maligno, de temperatura elevada, precedida de calafrios, com delírio, suores e outros sintomas de infecção grave, até febrícula “manhosa”, comportando aparência orgânica satisfatória ou pouco alterada.

O tipo ondulatório é mais comum na brucelose de origem caprina. A temperatura se eleva durante 1 semana ou mais, precedida de calafrios ou não, acompanhada de suores, adinamia, cefaléia, anorexia, insônia, mialgias, seguindo-se um período de acalmia em que a temperatura se normaliza e os outros sintomas regridem, para reascenderem-se, passados alguns dias ou semanas, e assim seguir nesse ritmo por longo tempo.

SIMPSON encontrou febre do tipo ondulante somente em 11 casos e alguns dêles foram febricitantes durante anos. Muitas vêzes observou disparidade entre pulso e temperatura.

Mesmo em se tratando de casos agudos, como nas observações de CANTALOUBE, a ondulação não é a regra, antes a variabilidade (febre louca de SCHOULL). Cada doente apresenta, a bem dizer, seu quadro térmico próprio, com variações freqüentes se tomada a temperatura de hora em hora. Resulta que se esta é tomada 1 a 2 vêzes por dia, em certos momentos pode nem dar indicação da existência de febre, bem como poderia modificar o termograma.

Nas infecções de origem bovina e suína, o aspecto ondulatório da febre não se observa com tanta freqüência. Ora apagam-se as ondulações e a febre se mantém oscilante, ora desaparece de todo, apresentando marcha subcontínua, do tipo intermitente. Nesta fase ela se acompanha de fenômenos menos ruidosos e mais persistentes, sintomas reumáticos ou reumatóides, adinamia, cefaléia, anorexia, e ainda outros.

Fraca porém renitente, quando verificada, é a febrícula, que permanece obstinada por meses e anos, acompanhando poucos sintomas e, mesmo, sem nenhum outro, criando situações desconcertantes para a clínica.

A curva febril não apresenta nenhum caráter de regularidade a não ser nos casos de forma ondulatória típica, e, mesmo nestes, as ondulações não são sempre regulares.

Pode começar bruscamente, elevando-se logo, como nas infecções graves, mas também pode iniciar-se com baixo grau, para ascender aos poucos. Igualmente irregular é a sua evolução, tal vimos acima.

O estudo da curva térmica tem grande importância, pela possibilidade de confusão da brucelose com a febre tifóide, febre reumática, febre de supuração, malária, tuberculose e outros males. Sua duração é muito variável. Nos casos agudos e subagudos dura algumas semanas, com as ondulações que caracterizam a doença; estas, como vimos, nem sempre são presentes; são mais comuns nos casos típicos produzidos por *Br. melitensis*, como tem sido observado desde BRUCE (Fig. 86). Contudo, mesmo em casos de infecção por *Br. abortus* e *Br. suis* elas podem ser vistas, de mistura com termograma irregular, conforme foi observado

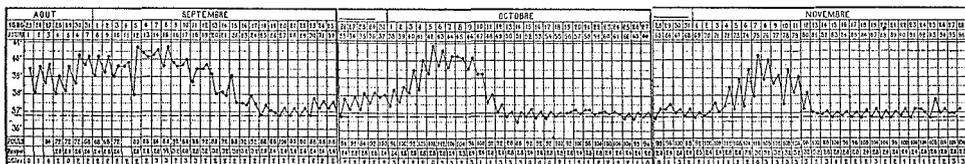


Fig. 86 — Diagrama de febre ondulante típica, em paciente de Bruce. Segundo BRUCE.

em nosso meio por WEDERHAKE, PACHECO, BARROS & Cols. e PEREIRA FILHO (Figs. 87, 88); êsses casos são raros, todavia.

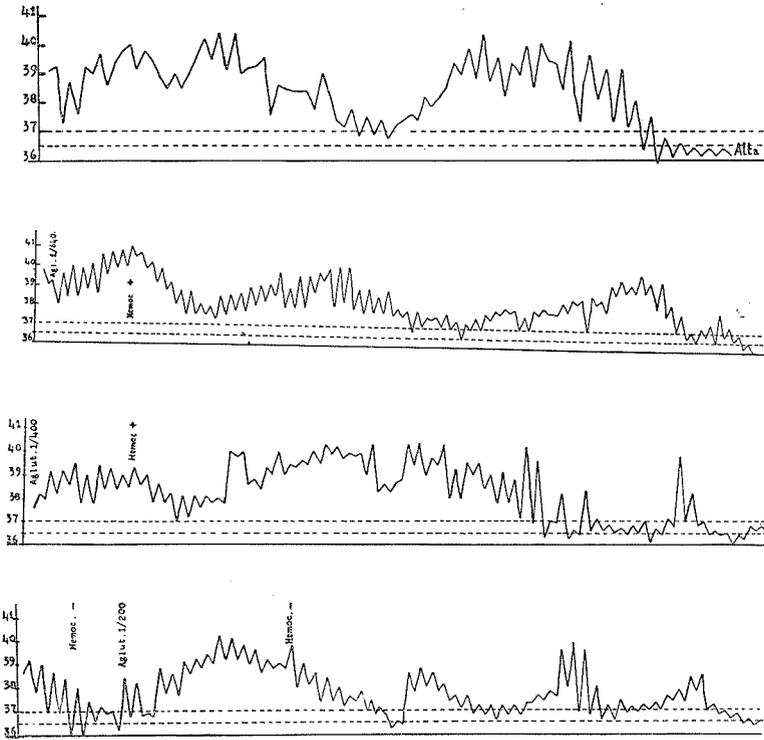


Fig. 87 — Curvas térmicas em pacientes de Wederhake. Segundo PACHECO & THIAGO DE MELLO.

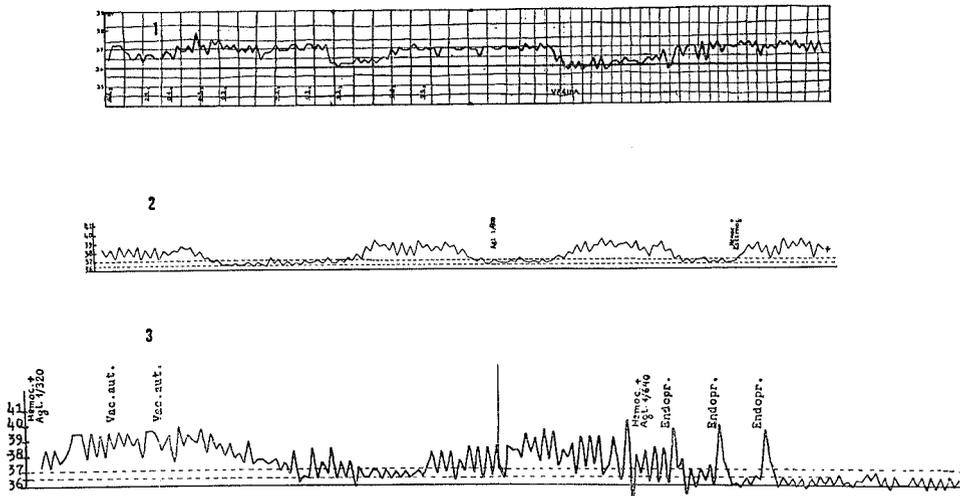


Fig. 88 — Curvas febris em casos de brucelose humana, observados no Brasil. 1 — *Br. abortus*, segundo PACHECO; 2 — *Br. suis*, segundo BARROS & Cols.; 3 — *Br. abortus*, segundo PEREIRA FILHO.

Quando os pacientes têm febre, esta é mais uma febrícula, de 37°2-37°5C, sobrevinda sempre à tarde e durante 1 a 2 horas, assim permanecendo meses a fio. Tão pequena é a febre, e tão tolerados são os sofrimentos, que os enfermos raramente interrompem suas ocupações.

A maioria dos casos de brucelose por *Br. abortus*, porém, não apresenta febre nem a apresentou em qualquer tempo da doença. Em 416 casos catalogados por PACHECO & VEIGA, apenas 11% tinham ou tiveram elevação térmica; em 220 casos, SIMPSON não observou febre em 90% deles. Outras vezes, não é percebida porque ocorre pela manhã, assinala SIMPSON.

A idéia de hipertermia está tão prêsa à sintomatologia da brucelose que se tornou útil criar uma forma clínica sem febre ou apirética. Demonstrada ser a forma apirética dominante, a noção de febre fica relegada a segundo plano, como na tuberculose, em que há hipertermia quase exclusivamente na localização pulmonar.

Há formas hiperpiréticas, em que a temperatura se mantém elevada permanentemente. Outras vezes simula acessos palustres. Ao ataque febril segue-se um período de repouso térmico, para recomeçar algum tempo depois, quando surge o tipo ondulatório — a febre ondulante — designação anterior da brucelose. Mas aí a doença deixa de ser aguda. Este conceito de curva ondulatória da febre não se justifica mais, senão para certo número de casos, longe de constituir a maioria. A própria forma aguda pode apresentar 2 ou mais acessos febris por dia, o 1.º, logo pela manhã, ou em horas irregulares (“febre louca” de SCHOULL), quando as ondas febris podem ser encurtadas ou prolongadas.

Em geral mantém-se elevada a temperatura, acompanhando-se de suores profusos.

Quando calafrios precedem a hipertermia e os suores, o diagnóstico clínico de malária quase se impõe.

Conseqüente à sudorese intensa sobrevém sudâmina, ou surgem eflorescências cutâneas, sob a forma de roséolas ou petéquias, acompanhadas de outros sinais de púrpura hemorrágica, tais como gengivorragias, epistaxe.

Na forma crônica a febre pode perdurar anos a fio, com intermitências, ou em caráter permanente, mas nestes casos a temperatura é sempre pouco elevada. Algumas vezes assume a aparência de febre reumática, como num caso de BASSET-SMITH que apresentou elevação térmica durante 3 anos e cujo sangue apresentava sôro-aglutinação para brucelas apenas a 1/40 mas com o germe presente.

*Suores* — Constituinto uma perturbação de origem nervosa, surgem com a crise febril, na forma aguda, e são de regra muito abundantes. A sudação é tão profusa que chega a molhar os lençóis, como se êstes tivessem sido imersos nágua. Este aspecto resultou na criação do nome de “febre sudoral” ou “febris sudoralis” por TOMASELLI, para a brucelose. Alguns observadores atribuem cheiro adocicado ao suor. Após a sudorese o paciente fica exausto. Com certa freqüência os suores parecem com crises de espirros, segundo AVERY. Nas observações de

SIMPSON a sudorese era mais abundante quando a temperatura caía em crise, e em certos casos chegava a ser o sintoma culminante da doença.

A frequência dos suores na fase aguda é muito elevada. CANTALOUBE encontrou-os em 74 dos doentes da epidemia por êle observada, sendo mais comuns nas mulheres, numa taxa de 80%. HARDY observou-os, também, em 83%; SIMPSON, em 53%; CALDER em 49% de seus doentes.

De ordinário a crise sudoral segue um ataque febril, afirma BIERING. CANTALOUBE encontrou-a mais vêzes à noite, pela madrugada, seguindo o acesso de febre. Durante o dia também é observada.

Nem sempre a sudação é em todo o corpo, limitando-se a determinados setores, ou até a uma reduzida porção da superfície cutânea: mãos, braços, tórax ou pés.

Nas formas crônicas febris, o suor comparece em menor escala e com menos intensidade. Nas formas apiréticas é pouco visto e, por vêzes, limitado apenas a certa propensão à sudorese. Por isso, PACHECO & VEIGA o encontraram apenas em 2% dos seus casos.

*Estado geral* — Mais que outras doenças infectuosas, a brucelose altera o bem-estar sob múltiplas aparências. No período prodrômico das formas agudas, as sensações são idênticas às das invasões microbianas: de mal-estar, corpo mole, dores difusas nos ossos e nos músculos, cefaléia, pouca disposição para o trabalho, desejo de permanecer deitado, inapetência. Em curto tempo, ou mais prolongado, conforme o caso, êsses sintomas se acentuam ou desaparecem para dar lugar a outros mais peculiares à doença. Nas formas agudas, de início febril, êles são análogos. Nas demais, que são a grande maioria, as sensações são tão variadas como os sintomas, e dão à brucelose aquêle caráter de variabilidade que TOMASELLI assinalou dizendo ser ela “uma doença cuja característica é a de não ter nenhuma”. Nós fazemos uma ressalva a esta expressão, pois, pelo que se sabe da brucelose, trata-se de uma doença que se caracteriza pela cronicidade e pela relativa benignidade; esta é de tal ordem que muitos doentes não interrompem suas atividades, mesmo com febre.

Agitação e insônia são freqüentes na fase inicial da brucelose, permanecendo a segunda, muitas vêzes, por longo tempo ou durante tôda a evolução da doença.

*Dôres* — Representam um sintoma extremamente freqüente na brucelose. Alguns observadores as encontraram em mais de 80% dos enfermos, como CANTALOUBE, em casos agudos de epidemia. Aparecem em qualquer fase da doença e em tôdas as formas clínicas. Nas manifestações agudas são dores disseminadas ou localizadas no trajeto dos nervos, nos ossos e articulações, mais vêzes transitórias, ou erráticas, em diversos pontos do corpo. Nas formas crônicas essas e outras manifestações dolorosas se apresentam permanentes, ou se renovam amiúde, podendo acompanhar-se de outros sintomas, por ocasião das crises ou nas recidivas.

Seja como fôr, são muito comuns e podem assumir extrema violência, assinalam PONS & VALENTI.

Em certos casos as dores decorrem de fenômenos inflamatórios nos órgãos ou locais onde sediam as brucelas; é o que acontece nas espondilites, espôndilo-artrites, artrites, osteíte, osteomielites, retites, retocolites, descritas nos capítulos das localizações especiais. Em outros, são elas dependentes de fenômenos tóxicos porque não se lhes reconhecem alterações anatômicas e, nestes casos, desaparecem, não deixando traços e seqüelas.

Dentre os fenômenos dolorosos salientam-se as dores lombares e a ciática que são das manifestações mais comuns na brucelose; todavia, dores articulares nos membros são encontradiças.

Representam as algias tóxicas papel importante na sintomatologia, sobretudo pelos incômodos que trazem ao doente, junto com outros sintomas, referidos a seguir, neste apanhado geral da doença.

Nas observações de PACHECO & VEIGA elas foram muito freqüentes, alcançando mais de 30% dos casos. SIGNORELLI encontrou-as em 17%, HARDY em 43% e CALDER em 66%.

*Adinamia* — Sinal tão constante quanto as dores, acarreta grande perturbação aos doentes e dificulta-lhes consideravelmente certos movimentos. Vai desde a sensação de fraqueza ou baixa da disposição para as atividades normais até a impotência muscular, quase absoluta. O enfermo sente-se arrazado, como um bloco de osso e carne, sem qualquer capacidade motora. Exprime êle êsse sintoma, que às vêzes é o único a afligir-lhe, ou o mais proeminente dêles, como uma fadiga ou cansaço inexplicável porque não o sentira jamais. HARDY observou em todos os seus doentes e PACHECO & VEIGA em mais de 40% duma série de 416 casos. É comum ser a adinamia acompanhada de magreza que chega à emaciação (Fig. 89).

*Vísceras* — O aumento de vísceras abdominais, particularmente baço e fígado, está condicionado à intensidade do ataque a êstes órgãos ou à gravidade e prolongamento da doença (Fig. 90). Seja como fôr, o aumento visceral é moderado, na maioria das vêzes.

CROSNIER & COLS. descreveram casos de endotelite hepática, esplênica e renal, que se aproximam dos de poliviscerite, de LISBONNE, JANBON e outros. Consideram êles vários graus: hepatismo simples, hepatite verdadeira, síndromes associadas (bilíares, hidropigênicas, hemorrágicas, etc.). Podem observar-se todos os tipos de hepatite, de parenquimatosa e intersticial até cirrose com tipo de Banti, em que a lesão esplênica precede a hepática; a cirrose de Hanot, em que ambos os órgãos são lesados simultaneamente, ou a cirrose nodular, em que o fígado é lesado antes do baço.

*Gânglios* — No dizer de JANBON, mais constante é a adenomegalia, única ou múltipla, que aumenta a cada ataque febril, pelo menos em 50% dos casos por êle observados. Acrescenta que o aumento ganglial pode depender da piroxia ou existir mesmo em pacientes afebris. Os gânglios engorgitados não se revelam doloridos, ou, quando muito, o

são levemente. Admitindo uma invasão por etapas do sistema retículo-histiocitário, JANBON e JANBON & BERTRAND procuram explicar, por ela, a superveniência ondulatória da brucelose.



Fig. 89 — Brucelose crônica; emaciação e acentuada adinamia. Original.

*Outros sintomas* — Além desses, outros sintomas apresentam os doentes, sobretudo na forma aguda, que auxiliam a caracterização da doença. Alteração muito freqüente na fase aguda e também encontrada nas formas crônicas, é a obstipação, que SIMPSON assinalou em 2/3 dos seus casos.

Saburra lingual, inapetência, dores abdominais, são vistas. Os sofrimentos abdominais chegam a simular, quando não representam alterações reais dos órgãos pelas brucelas, apendicites, colecistites, colites, conforme se vê no capítulo das localizações no aparelho digestivo.

Pulso, com tendência a bradicardia, embora nem sempre. PONS & VALENTI acham mais comum a taquicardia.

Faringites congestivas, com expulsão de catarro com laivos de sangue, epistaxe, bronquites, mucorréia ou catarro mucoso, são comuns sobretudo na forma crônica.

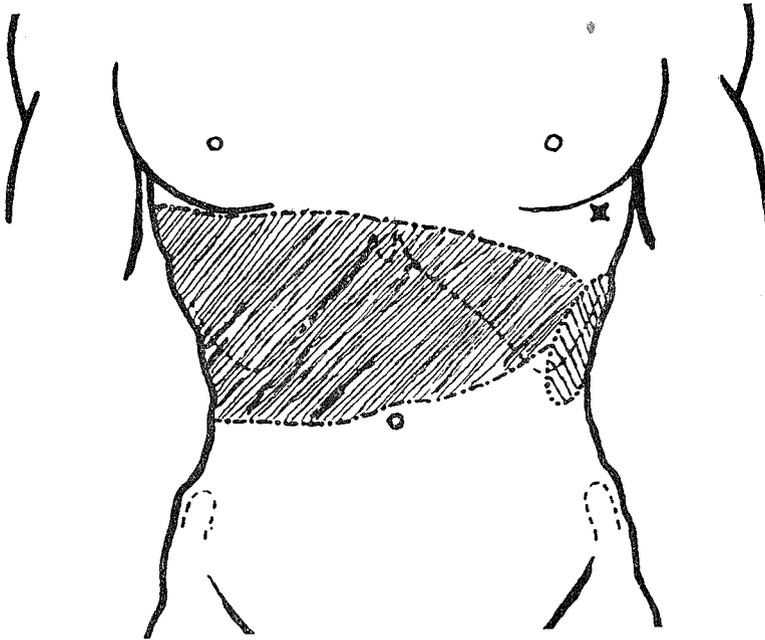


Fig. 90 — Hepatomegalia e esplenomegalia em caso fatal de brucelose. Segundo BARROS & COLS.

Irritabilidade é uma alteração muito vista em qualquer das formas clínicas da brucelose. A perda do humor fica, às vezes, o único sintoma apresentado pelo paciente.

Muitos outros sintomas podem ocorrer e ocorrem, seja na brucelose aguda seja na crônica, compreensíveis pelos motivos esclarecidos no capítulo da Patogenia. Dependentes do ataque a êste ou àquele órgão, formam no cortejo dos sinais, únicos ou múltiplos dessa doença tantas vezes incaracterística na sintomatologia.

De qualquer modo numerosos são os sinais da brucelose em tôdas as suas formas. Nos gráficos e quadros acima foram assinalados os sintomas observados por vários patologistas, confirmativos da variedade e do grande número de alterações encontradas na brucelose.

Com referência, ainda, à sintomatologia, algumas diferenças apresentam as bruceloses conforme a espécie de brucela. Foi assinalado, anteriormente, que a brucela da cabra é mais virulenta que a do boi e do

porco e determina infecções mais graves e mortais. LEDOUX estabelece um quadro clínico diferencial para as bruceloses melitense e abórtica:

<i>Sintomas</i>	<i>melitense</i>	<i>abórtica</i>
Febre	ondulante	diária, contínua, ou sub-contínua com remissões
Duração	curta	longa, de 4 a 6 meses
Sudorese	pouco abundante	profusa
Calafrios	não	pre-febris
Hepato e esplenomegalia	irregular	presente quase sempre
Complicações	raras	frequentes (artrites, orquites, pleurites, bronco-pneumonias, miocardites)
Mortalidade	fraca	elevada

Os caracteres diferenciais de LEDOUX não seriam todos aceitos hoje, como a mortalidade, que é justamente o oposto do admitido por êle. Mas a maioria, pode servir à diferenciação clínica das duas infecções. A brucelose de origem porcina se colocaria numa posição intermediária entre as duas citadas.

SIGNORELLI é de opinião que os sintomas da brucelose são os mesmos, qualquer que seja a espécie infectante. Diz êle que um exame sereno dos doentes e da literatura mostra a inconsistência dos esquemas propostos para tentar a distinção, com base no comportamento dos vários sintomas, da infecção por *Br. abortus* e *Br. suis* daquela por *Br. melitensis*.

De qualquer modo a brucelose tende a se tornar uma doença visceral antes que septicêmica, assinala VILLAFANE-LASTRA, adotando afirmativas de MARSTON, de JANBON e de LISBONNE.

## F — EVOLUÇÃO E PROGNÓSTICO

Do ponto de vista da *evolução*, o conceito mais certo sôbre a brucelose é o de doença essencialmente aguda que passa a crônica, na qual distinguem PONS & VALENTI um período evolutivo primário, decorrendo mais ou menos rápido, seguido de uma fase evolutiva duradoura. O primeiro se estende desde a fase invasiva ou de difusão do germe até a primeira onda térmica, seguindo-se-lhe a segunda, com as manifestações decorrentes das diversas localizações da bactéria no organismo. A infecção segue com esta aparência que se poderia chamar normal. Bom número de casos, acentuam PONS & VALENTI, sofrem localizações monorgânicas concomitantes aos sinais de invasão aguda, com freqüentes reativas. Por isso denominaram êles a brucelose "doença subaguda crônica".

Uma característica domina a sintomatologia da brucelose, é a cronicidade. Quase excepcionalmente a doença aguda dura algumas semanas, quando evolui sem intervenção terapêutica ou quando o doente não reage a essa intervenção. De outro lado, a cura, em grande número

de casos, é uma incógnita como o é também nas doenças que apresentam analogias com ela: sífilis, tuberculose, lepra e estreptococia.

Enquanto a forma chamada aguda evolui em semanas, a crônica arrasta-se por meses e anos, com intermitências de crises seguidas de melhoria, de estacionamento ou de silêncio. Muito contribui para prolongamento da infecção a peculiaridade quase única da pequena agressividade das brucelas, criando uma situação de equilíbrio, ou, pelo menos, de adaptação do organismo a sua presença nos tecidos onde se localizam.

Deve-se ter em conta a existência de anos de duração sobretudo em certos tipos clínicos, como as formas mono-sintomáticas ou de localização restrita: nevrites, espondilites, oforites, etc. Um dos primeiros casos desse tipo de que tivemos notícia foi o da senhora de um açougueiro, residente nos fundos do açougue, e que sofria de uma cefaléia rebelde e diária havia mais de 15 anos; submetera-se a toda sorte de tratamentos, sem ter apurada a causa daquele incômodo.

Não são raras as observações em que processos localizados prolongaram-se por muitos anos: 19 anos com periostite, numa observação de JANBON; 5 anos com osteíte na anca, numa de LOWBEER.

A localização óssea ou osteo-articular parece mais apropriada a uma situação de cronicidade por anos seguidos.

Há possibilidade, ainda, de fixar-se o germe num ou em mais pontos do organismo, onde pode permanecer por longo tempo dorminte ou atuando como espinha irritante, e infecção focal. Esta possibilidade é mais do que viável, porque como naquelas infecções apontadas antes (e talvez mais do que nelas) as brucelas se adaptam a um parasitismo tolerado, como foi acentuado na patogenia.

A evolução está subordinada, portanto, a fatores dependentes do tipo do germe, cuja atividade varia com a proveniência animal, com as condições do indivíduo, com o grau de infecção e os demais fatores determinantes da gravidade das infecções em geral, todos bem conhecidos: influências de raça e sazonal, estado de nutrição, etc.

Nos casos chamados agudos, que evoluem em 2 a 4 semanas e que constituem minoria em relação às formas crônicas, que são a regra na brucelose, a evolução segue os trâmites usuais na maioria das infecções: aparecimento dos sintomas, febre, quebrantamento, suores, seguidos ou não de complicações orgânicas e apagamento vagaroso dos sintomas. Os casos ruidosos são excepcionais nessa doença que, como dissemos, normalmente não mata mas maltrata, não fere mas magoa, não anula mas perturba o paciente. Esta regra não se aplica sempre à brucelose de origem caprina que não existe ou é rara no Brasil; sua evolução se faz com maiores perturbações para a vida do paciente e as complicações são mais graves, em geral. A dominância da brucelose de origem bovina e suína entre nós, determina evolução mais prolongada, embora com maior tolerância pelo doente.

Depende em grande parte desta situação o *prognóstico* da doença que com ela fica favorável no sentido de poupar a vida do paciente. Realmente, não se pode, a vista disso, considerar a brucelose uma doen-

ça mortal. Em certas condições, entretanto, quando ocorre sob forma epidêmica, em que a amostra de germe está com sua virulência aumentada, nos casos provocados pela brucela da cabra e nos indivíduos com defesas orgânicas deficitárias, a mortalidade pode ser considerável. É o caso do surto epidêmico observado por SHORPS, segundo HARRIS, que verificou a mortalidade de 40 dos 160 pacientes atacados; de CANTALOUBE que viu morrerem 13 de seus 200 doentes e diz: "A Febre de Malta tortura e anemia suas vítimas; ela não é muito mortífera". Mas são casos a bem dizer excepcionais. Mesmo nas regiões onde domina o germe da cabra, o mais patogênico dêles e por isso o mais mortífero, a mortalidade não é elevada (3%-5%, antes do aparecimento dos antibióticos atuais).

Com o levantamento do índice de contaminação das populações humana e animal verificou-se aquilo que havia sido observado com outras doenças apresentando analogias com a brucelose: um grande número de infectados sem doença aparente ou com pequenos sinais em formas apagadas, pouco ruidosos e por isso mesmo de diagnóstico difícil pela carência de suspeita clínica. Resultou desse conhecimento considerável modificação no prognóstico e, até, na evolução. Ficou sendo a brucelose quase uma doença benigna, como as pneumococias, a boubá e outras mais. Isto não impede que tenha enorme significação social e clínica. No primeiro caso, pelas perturbações que ocasiona na vida do doente, com pequenos males que alteram o seu equilíbrio psicossomático e pelas conseqüências sociais dela decorrentes. Para a clínica, devido às dificuldades diagnósticas que já foram assinaladas. A evolução e o prognóstico são completamente modificados quando sobrevêm certas complicações resultantes da implantação das brucelas em órgãos de importância vital. É o que acontece nas localizações cardíacas, com a produção de endocardite vegetante, nas localizações nervosas (encefálica e na medula espinhal), nas meninges e no ataque a vísceras importantes, como o fígado e o baço. Excluídas essas, as localizações únicas e múltiplas nos outros órgãos não oferecem perigo de vida ao paciente fazendo, apenas, prolongar a doença e aumentar os sofrimentos. Algumas são significativas neste particular. As formas de irritabilidade e desequilíbrio nervoso ou neurastênicas, as manifestações ósteo-articulares, as nevrites e as alterações linfáticas são mais rebeldes que as outras referidas no capítulo da Patologia.

---

#### BIBLIOGRAFIA

- AVERY, H.  
1942. J. Trop. Med. Hyg., 45(19):145-153.
- BARROS, O. & Cols.  
1941. Arq. Cir. Clín. Exp., 5:299-310.
- BASSETT-SMITH, P. W.  
1903. Brit. Med. J., 2:1589.

- BELGRANO, C. R.  
1948. *Semana Médica*, 55(2822):245-255.  
1948. *Rev. Med. Ciencias Afines*, 10(5):210-219.
- BIERRING, W. L.  
1929. *J. Amer. Med. Assoc.*, 93(12):897-903.
- BRUCE, D.  
1887. *Practitioner*, 39:161-170.  
1893. *Ann. Inst. Pasteur*, 7:289-304.
- CALDER, R. M.  
1939. *South. Med. J.*, 32:451-460.
- CANTALOUBE, P.  
1911. *La fièvre de Malte en France*. Paris: 225 págs.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. *Brucelosis, México*: 253 págs.
- CROSNIER, R. & Cols.  
1950. *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 66:800-812.
- DARLEY, W. & GORDON, R. W.  
1947. *Ann. Int. Med.*, 26(4):528-541.
- GIANI, C.  
1939. *Ann. d'Igiene*, 49:597-608.
- GRIGGS, J. F.  
1942. *Northwest. Med.*, 41(11):389.  
1948. *J. Amer. Med. Assoc.*, 136:911-915.  
1949. *Ann. Allergy*, 7(3):350-358.
- HARDY, A. V.  
1929. *J. Amer. Med. Assoc.*, 93(12):891-897.
- HARDY, A. V. & Cols.  
1936. *J. Amer. Med. Assoc.*, 107(8):559-564.
- HARRIS, H. J.  
1950. *Brucellosis (Undulant Fever)*. 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HUDDLESON, I. F. & MUNGER, M.  
1940. *Amer. J. Publ. Health*, 30(8):944-954.
- HUGHES, M. L.  
1897. *Mediterranean, Malta or undulant fever*. London.
- IBARRA, G. G.  
1948. *Prim. Reunion Interamer. Bruc.*, México, 1946: 485-491.
- JANBON, M.  
1950. *WHO/Bruc. Inform. Series*, Oct., n.º 14.
- JANBON, M. & BERTRAND, L.  
1948. *Presse Méd.*, 56(74):1082-1083.  
1953. 4.º *Congr. Intern. Hig. Med. Medit.*, Barcelona: 143-171.  
1955. *Revue du Praticien*, 5(3):233-238; 241-244.
- LEDOUX, E.  
1928. *Rév. Méd.*, 45:1189-1202.

- LOWBEER, L.  
1946. Proc. Staff Meet. Hillcrest Mem. Hosp., 3:7-28.  
1949. Proc. Staff Meet. Hillcrest Mem. Hosp., 6:1-36.
- MANCHESTER, R. C.  
1942. Ann. Int. Med., 16:950-965.
- MARSTON, J. A.  
1861. Em Huddleson.
- MORALES-OTERO, P.  
1929. Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 5(1):144-157.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 173 págs.
- MORONES, S.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 563-568.
- MOSS, M. J.  
1946. J. Indiana Med. Assoc., 39:481.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 639-648.
- MOUSSU, R.  
1928. Rec. Méd. Vét., 104:328-335.  
1931. Rec. Méd. Vét., 107:336-342.
- PACHECO, G.  
1949. An. 3.º Congr. Méd. Estado Rio de Janeiro, Petrópolis, Set.: 307-313.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. Mem. Inst. Osw. Cruz, 48(1-2):393-436.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P.  
1947. Brasil-Médico, 61(5-7):35-40.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 63-68.
- PANZERI, A.  
1950. Semana Médica, 57:1153-1155.
- PEREIRA FILHO, M. J.  
1933. Rev. Radiol. Clin., 2:755-772.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- SCHOULL  
Em Castañeda.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.ª ed. Napoli: 437 págs.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med., 4:238-259.
- SPINK, W. W.  
1947. Trans. Assoc. Amer. Phys., 60:126-137.  
1948. Cincin. J. Med., 29:1-14.  
1948. Ann. Int. Med., 29(2):238-258.  
1951. Ann. Int. Med., 35(2):358-374.
- SPINK, W. W. & MAGOFFIN, R. L.  
1950. Third Interamer. Congr. Bruc., Washington: 94-103.
- TOMASELLI, S.  
1902. Febbre Mediterranea. Catania.

VILLAFANE-LASTRA, T.

1948. Rev. Méd. Cordoba, 36:477-516.

VILLAFANE-LASTRA, T. & BAI, A.

1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 617-630.

WEDERHAKE, C. J.

1934. Contribuição para o estudo das febres ondulantes. Tese. Fac. Med. de Pôrto Alegre: 57 págs.

ZAMMITT, T.

1905. Rep. Comm. Medit. Fever, Part III:83.

1906. Rep. Comm. Medit. Fever, Part IV:96



## CAPÍTULO VIII

---

### Formas clínicas com localizações especiais

A peculiaridade de as brucelas poderem invadir quaisquer tecidos ou órgãos permite que numerosas formas clínicas com localizações especiais possam ser observadas.

Tais formas são vistas detalhadamente nos livros de **SIGNORELLI** e de **HARRIS**. Para algumas delas, chegaram a ser publicadas monografias. Por isso mesmo, não pretendemos, no presente capítulo, fornecer mais do que simples referências. Os interessados poderão obter maiores detalhes nos trabalhos citados em cada um dos tópicos.

---

#### A — APARELHO DIGESTIVO

No capítulo da patologia foi visto que a penetração das brucelas pode dar-se por via cutânea ou aérea, porém domina sobre ambas a digestiva, tornando-se a via normal da contaminação ou da penetração dos germes no organismo, ou pelo menos, a mais freqüente.

De outro lado, o aparelho digestivo é um meio universal de eliminação de germes, e a bile e as glândulas secretoras intestinais constituem elementos de contaminação importantes.

Independente desta possibilidade de localização primária ou inicial em qualquer ponto das vias digestivas, as brucelas aí vão ter, graças à universalidade de seu organotropismo, e influem ainda, secundariamente, pelas alterações promovidas no seu funcionamento, ou em órgãos correlacionados ao aparelho digestivo.

Em qualquer caso, as conseqüências da localização intestinal sobre a saúde são muito significativas, responsáveis que são as vias digestivas pela nutrição e provocadoras de uma série de reflexos à distância, graças à sua rica inervação, sobretudo pelo sistema neuro-vegetativo.

A literatura não é muito abundante em observações sobre a freqüência de manifestações digestivas na brucelose, mas tudo leva a crer que se apresentarão, de futuro, muito mais assinaladas.

**D'ANTONI**, em 1.432 enfermos em Louisiana, nos Estados Unidos, observou 259 doentes apresentando sofrimentos intestinais, diarréia crônica e colite. Êsses indivíduos tinham passado bruceloso ou possibilidade de contágio na profissão. Foi assim que 26 dêles revelaram brucelose intestinal.

**Moss** encontrou sofrimentos intestinais em 34 de 74 doentes (45,9%).

As alterações digestivas são um tanto diversas nas formas aguda e crônica da brucelose. Na primeira, dominam as perturbações comuns nas doenças infectuosas: anorexia ou hiporexia, saburra lingual ou língua sêca, língua avermelhada, hálito febril, gôsto amargo. Nos acessos febris podem notar-se náuseas, vômitos e flatulência. Tais fenômenos são passageiros na fase aguda ou durante o surto febril. Nada têm a ver com as verdadeiras localizações digestivas da brucelose significando antes reflexos secundários.

Além dessas, há alterações estáveis, que podem ser consideradas conseqüência de ação própria das brucelas. Elas são mais encontradas na brucelose crônica.

Na bôca, foi observada *estomatite ulcerativa*, sob aspecto de ulcerações, de forma circular, de fundo irregular, pouco dolorosas, sem base endurecida, localizadas na língua, e acompanhadas de reação ganglial. GROCES, segundo TRAMBUSTI, encontrou uma forma de estomatite eritematosa, de tipo difteróide, acompanhada de ulcerações estomacais.

PACHECO & VEIGA descreveram um caso de estomatite ulcerativa. Tratava-se duma senhora que após o primeiro parto apresentou febrícula, astenia, epigastralgia e pequenas aftas disseminadas pela língua, véu do paladar e bochechas, de vários tamanhos, irregulares, razas, cobertas de um exsudato brancacento e provocando abundante salivação. Persistiram as dores epigástricas e as aftas, que dificultavam enormemente a alimentação. Como conseqüência, houve acentuada emaciação e anemia secundária. Este estado durou cêrca de 3 meses. As provas alérgicas e a sôro-aglutinação, entretanto, foram negativas, porém, a hemocultura foi positiva, isolando-se do sangue *Br. suis*. As aftas desapareceram definitivamente, em conseqüência da prova cutânea e uma série vacinante foi empregada com sucesso.

PONS & VALENTI referem observações de FRUGONI, de *faringo-tonsilite* necrosante. Esta localização provoca disfgia e dificuldade de mastigação durante dias, até semanas. Contam um caso em que a inflamação bucofaringea provocou disfgia e demorou uma semana, desaparecendo com a febre inicial, reaparecendo com novo surto febril, acompanhada ainda de ulcerações no véu do paladar e nas gengivas.

SIGNORELLI refere uma série de observações de KRISTENSEN, STEINER, GAUTIER & BLAU, e vários outros, de *anginas, faringites, estomatites ulcerosas* e *tonsilite necrótica*, de origem brucelosa.

TOVAR MANCERA cita um caso de febre com *parotidite* tão intensa que chegou a provocar trismo.

Mais freqüentes são as *alterações estomacais*. Estas são predominantemente de natureza funcional: distúrbios dispépticos, náuseas, sensação de plenitude gástrica *post prandial*, epigastralgia, eructações e outras. Tais sintomas correm mais à conta das alterações nervosas, que são dominantes na brucelose e que se refletem no funcionamento estomacal, muito dependente do equilíbrio nervoso. Sabe-se que grande número de dispepsias, são de origem brucelosa. E o estômago terá de sofrer as conseqüências dessa influência.

Independente das náuseas e vômitos, nota-se epigastralgia, espontânea ou provocada pela pressão, encontrada em 40% dos doentes por CANTALOUBE.

HARRIS observou em 11 pacientes dores epigástricas, passadas 1 a 2 horas das refeições e aliviadas com a ingestão de alimentos. A radiografia do estômago mostrava sombras aparentando úlceras, mas a terapêutica neste sentido foi ineficaz. Curaram-se, entretanto, com a vacinoterapia específica. A maioria desses casos experimentava, além das dores, mal-estar, fadiga fácil, dores nos músculos, nas juntas e emaciação.

Em 3.500 pacientes da Clínica Mayo, CARRYER & PRICKMAN encontraram 82 com sôro-aglutinação positiva para brucelas, e deles 9 (11%) tinham *úlcera duodenal*, enquanto em outro grupo de 221, com reações negativas, apenas 9 (4%) eram ulcerosos. A diferença do porcentual indica a possibilidade dessa etiologia para certos casos de úlceras, ou pelo menos a eventualidade da penetração de brucelas nas úlceras estomacais, dizem eles.

Destaca HARRIS um caso, dentre suas 11 observações, cuja radiografia era típica de úlcera duodenal. No correr da doença, persistindo as dores cruciantes, a despeito da dieta, a paciente apareceu prostrada, com cefaléia, febre, sensibilidade exagerada na região epigástrica, pulso fraco, fazendo suspeitar perfuração, à vista dos sinais clínicos e radiológicos anteriores. A temperatura elevou-se mais no dia seguinte, e o caso evoluiu como uma brucelose grave, durante 8 semanas. Passada a fase aguda, a síndrome duodenal retornou ao aspecto anterior, cedendo completamente com a vacinoterapia.

Sintoma que HARRIS cita é a *distensão abdominal*. Conta o caso de uma senhora em que esse fenômeno era tão acentuado que se chegou a pensar em gravidez ou em tumor abdominal. A vacinoterapia fêz desaparecer essa alteração de maneira rápida e definitiva.

CANTALOUBE observou *gargarejos nos cólons* 5 vezes, e soluços rebeldes, em alguns dos seus cento e poucos doentes, na epidemia por ele estudada.

D'ANTONI, em 31 pacientes com sofrimentos intestinais e com provas sorológica e alérgica positivas, verificou que o tratamento vacinante específico deu os seguintes resultados: 4 curados espetacularmente, 15 excelentes, 8 considerados bons, 3 regulares e 1 pobre. Curioso é que em alguns casos observa-se, com o tratamento vacinoterápico, aparecimento de novos sintomas, além dos intestinais, tais como: cefaléia, fadiga, câibras, febre, transtornos menstruais, psiconeuroses, nervosismo, dores articulares, depressão mental, e até acesso de asma, admitidos como reativação do processo infeccioso ou fruto de manifestações alérgicas.

Dor no hipocôndrio e sensibilidade localizada trouxeram a HARRIS dificuldades diagnósticas em 13 casos com história clínica análoga: febre, algias difusas, mais acentuadas no quadrante abdominal direito, reação de defesa moderada, alguns dos pacientes apresentando vômitos, leucocitose de 7 a 14 mil por mm<sup>3</sup>. Todos deram provas aglutinantes ou

intradérmicas positivas com brucelas. A hipótese de crise apendicular comum foi por êle afastada à vista da ausência de leucocitose progressiva e da rigidez pouco acentuada da parede abdominal. A vacinoterapia fazia desaparecer os sintomas ou então os exacerbava nitidamente. Três dêstes casos chegaram a ser operados, tal a aparência de apendicite, mas o apêndice era completamente normal e dois dêles continuaram a sofrer das mesmas dores abdominais após a intervenção.

Moss relata um caso interessante. Um rancheiro começou a sentir fadiga, impossibilidade de trabalhar continuamente; sentia ardência e dores no epigástrio, sem qualquer relação com a ingestão de alimentos. Sôro-aglutinação negativa; recusou-se a fazer a prova alérgica, mas esta, levada a efeito mais tarde, revelou-se fortemente positiva, acompanhada de reação ganglial axilar, provocando, também, aumento dos sofrimentos gastro-intestinais. A vacinoterapia forneceu francas melhoras após 6 semanas de aplicação e acabou curando-o. Apresenta ainda outro caso em que as perturbações intestinais estiveram presentes na sintomatologia e que se curou também com a vacinoterapia.

*Dispepsias, gastrites, enterites e colites* foram referidas por IBARRA. Em 191 doentes, observou êle obstipação em 72, anorexia em 38, diarréia em 32, vômitos em 18, gastralgia em 12, faringite em 11, síndrome de colite em 6, espasmos do esôfago em 1.

SIMPSON encontrou predominância de *dores abdominais* em 18 de seus doentes de brucelose, 5 dos quais apresentavam dores no quadrante direito do abdome, tendo sido apendicotomizados 4 dêles, mas os apêndices eram normais, exceto em um.

Muito freqüente é a *obstipação*, particularmente na forma aguda, referem HUDDLESON, HARRIS, HUGHES, CANTALOUBE e HARDY & COLS.

Outras vêzes há *diarréia e enterite*, encontradas em qualquer das formas, aguda ou crônica. Eliminam os doentes fezes mucosas ou mucosanguinolentas, simulando disenteria bacilar, mas êste estado se prolonga ou se repete, o que não se dá com essa infecção, que é uma doença de curta duração, relativamente.

*Enterorragias* foram assinaladas por HARRIS.

BRUCE e HUGHES, segundo HARRIS, encontraram *ulcerações* nos cólons. Num caso de HARRIS, a *Br. abortus* foi isolada de uma úlcera no cólon ascendente.

RUCHELLI reúne as alterações intestinais observadas em 42 brucelosos. Dor à pressão abdominal 21 (58%), corda cólica palpável 16 (44%), anorexia 19 (48%), obstipação 31 (83%), diarréia 4 (10%).

*Retocolite ulcerativa*, simulando doença de Nicolas Favre, *retocolite hemopurulenta, retites e colites crônicas*, tôdas resistentes ao tratamento habitual e curando-se com vacinoterapia, foram referidas por SODRÉ.

Numa relação de 416 casos, a quase totalidade de formas crônicas, encontraram PACHECO & VEIGA, anorexia em 97, náuseas em 90, fluxão intestinal (diarréia, disenterias) em 90, vômitos em 66, meteorismo em 56, espasmos intestinais em 3, hepatomegalia em 2, colecistite em 2, icterícia em 2, estomatite em 1. A anorexia foi o mais contraditório dos sintomas, seguindo-se-lhe de perto náuseas e perturbações com fluxão

intestinal, depois vômitos e meteorismo; a seguir, os demais sintomas. As dores abdominais difusas ou limitadas a um quadrante do abdome, de ordinário não se acompanhavam de alterações funcionais; eram simples algias. Estas ocorriam com diarreia pura de fezes líquidas, ou de fezes mucosas ou muco-sanguinolentas, sobrevindo em crises demoradas, permanecendo por vêzes dias a fio. A ausência de febre e puxos, a repetição das crises intestinais, a sua renovação, com freqüência cíclica, distinguem a disenteria brucelosa da bacilar. A maioria desses doentes aproveitaram bastante com a vacinoterapia ou curaram seus males com esta terapêutica, em alguns casos espetacularmente.

As alterações hepáticas são muito freqüentes na brucelose mas quase sempre passam despercebidas. Como foi visto na parte da patologia, a lesão essencial na brucelose é o granuloma e este se forma principalmente no fígado. Pois apesar disso, as manifestações clínicas de tal localização nem sempre são referidas. É inegável a existência duma hepatopatia. PALLARDO & Cols., numa revisão recente, sobre hepatopatias latentes, situam a brucelose entre as causas para a enfermidade. De 47 histórias clínicas que lhes foram relatadas, 9 eram de brucelosos (19,2%), enquanto 38 (80,8%) não apresentavam a infecção brucelosa. Nenhum dos pacientes, entretanto, acusava um quadro nítido de hepatite (icterícia, hepatomegalia, etc.).

Contudo, as referências à hepatomegalia e, mesmo, icterícia, não são raras na literatura. MONTE & GARCIA descreveram um caso de brucelose com icterícia; a remoção dos gânglios contíguos aos condutos biliares e conseqüente exame histopatológico revelaram lesões que, pela semelhança com as de brucelose, fizeram com que se procedessem, no paciente, a provas diagnósticas para esta infecção, as quais se revelaram positivas.

MCCULLOUGH & EISELE fazem considerações sobre a hepatite brucelosa e a cirrose do fígado, tomando por base a literatura anterior e a observação dum caso em o qual ficou demonstrada claramente a gênese da cirrose do fígado a partir duma hepatite brucelosa necrosante. JANBON & BERTRAND consideram freqüente a cirrose hepática de origem brucelosa, citando vários casos na literatura.

Outro aspecto interessante da clínica da brucelose, e que tem passado sem maiores referências por parte dos autores, é o do *diabetes*, revisto há pouco por HARRIS. Diversos pesquisadores referem que certo número de pessoas com brucelose crônica apresentam hiperglicemia e glicosúria concomitantes, que desaparecem após o tratamento da infecção brucelosa. Em geral, pensava-se apenas em coincidência. LEON & AGUIRRE, entretanto, relatam que de 150 brucelosos, 67,7% apresentavam diabetes, enquanto que de 36 doentes com outras afecções, apenas 13,8% mostravam tal manifestação. HARRIS procurou, então, verificar, em sua casuística, até onde ia a coincidência; descreve um caso em que as provas diagnósticas foram tão nítidas para brucelose que resolveu não instituir o tratamento dietético nem a insulino-terapia e sim a dessensibilização com vacinas mortas, anti-*Br. abortus*; a glicemia diminuiu e a glicosúria desapareceu.

Num período de 21 anos, em cerca de 900 pacientes com brucelose crônica, HARRIS verificou 23 casos de hiperglicemia, cuja gravidade atinja graus diversos, mas acredita que a frequência poderia ter sido bem maior do que a dêsses 2,5%, se pesquisas mais cuidadosas, com relação à hiperglicemia, tivessem sido feitas.

## B — APARELHO RESPIRATÓRIO

As *vias aéreas* não são poupadas pelas brucelas. Nas formas agudas ou crônicas da brucelose, elas foram encontradas atingidas. Observaram-se congestões e úlceras nas vias aéreas superiores: na garganta e na laringe, até com estenose laríngea como seqüela, referem PONS & VALENTI. Acrescentam êles, ainda, formas úlcero-necróticas e, em casos excepcionais, condro-pericondrites com edema considerável, provocando dispnéia mecânica, chegando a obrigar a fazer traqueotomia para respiração artificial.

As brucelas podem ser responsáveis por processos de amigdalites. Pelo menos MOHLER & TRAUM, segundo HUDDLESON, isolaram brucelas de amígdala extirpada de criança que consumia leite cru.

Fenômenos catarrais mucosos foram referidos por ERMIRO DE LIMA, em pacientes com reações sorológicas positivas para brucelas.

Numa catalogação de sintomas observados em 416 doentes de forma crônica, PACHECO & VEIRA encontraram 24 com rinite, 6 com rinofaringite, 1 com laringite crônica, 6 com sinusite, 2 com sinais radiológicos de infiltração pulmonar, 19 com dispnéia, 1 com crises asmátiformes, 24 com tosse, 9 com bronquite, 2 com epistaxe e 2 com hemoptises. A rinite e a rinofaringite manifestavam-se sob forma de corrimento nasal de catarro mucoso, ou como verdadeira mucorréia. A dispnéia era notada como um sintoma cujo mecanismo não pôde ser apurado.

Dos órgãos respiratórios, entretanto, participantes da infecção por brucelas, o mais importante é o *pulmão*, cujas alterações vão desde a bronquite catarral até às infiltrações e cavernas, simulando tuberculose pulmonar.

VILLAFANE-LASTRA assinala, mesmo, que numerosos de seus doentes apresentavam lesões pulmonares e tiveram anteriormente diagnóstico de tuberculose, não obstante exames de laboratório negativos para bacilos de Koch. Alguns haviam sido internados em sanatórios.

No período febril ou na fase aguda, os fenômenos congestivos das mucosas se manifestam nos brônquios, provocando secreção mucosa, expressa em estertores úmidos.

Neste substrato congestivo mucoso, diz SIGNORELLI, desenvolvem-se tôdas as manifestações clínicas pulmonares, edema, bronquite, asma, broncopneumonia. Na forma crônica, podiam-se acrescentar os processos infiltrativos e condensativos cuja importância adiante se verá.

CANTALOUBE encontrou 10 vezes em seus doentes de forma aguda broncopneumonia pura, com focos único ou múltiplos, mais frequentes

na base direita, acompanhada de dispnéia, tosse e expectoração hemomucopurulenta. Evolui lentamente a lesão pulmonar, com fases de recrudescimento antes de curar.

JOHNSON conta 3 casos de pneumonia, um deles começado com sintomas comuns de brucelose, em que o paciente acometido, passados 2 meses, teve dores lancinantes no lado esquerdo do tórax, dificuldade respiratória, tosse com expectoração mucosa. Em pouco instalou-se uma pneumonia. O exame hematológico revelou 6.000 leucócitos com 70% de neutrófilos. Sôro-aglutinação com *Br. abortus* positiva a 1/160. Desaparecimento lento das alterações pulmonares. Outro caso era de um fazendeiro que, após 2 meses de brucelose aguda, sentiu forte dor no lado direito do tórax, acompanhada de tosse, expectoração sôro-mucosa, e por fim sanguinolenta. A contagem revelou 6.000 leucócitos com neutropenia de 46%. O exame radiológico mostrou a existência de bronquite vascular difusa na parte do pulmão, lembrando uma pneumonia em resolução. O terceiro caso era de um tratador de animais infectados com brucelas. Depois de 1 mês de sintomas de brucelose aguda, apresentou tosse e expectoração mucosa, mais freqüente pela manhã e à tarde. Passado outro mês, sentiu fortes dores no ápice pulmonar direito e dores de cadeiras. O exame radiológico feito 30 dias depois mostrou opacidade do pulmão do lado dolorido, com lesão predominante central. O processo pulmonar continuou até que as sombras foram esvanecendo-se lentamente.

Não é observada com muita freqüência a pneumonia vera nas localizações pulmonares. Congestões e espessamento manifestam-se por submacicez pulmonar, mais comum nas bases, com apagamento do murmúrio vesicular, respiração soprosa, sem sopro pneumônico, estertôres úmidos e assim mesmo nos casos agudos ou nos surtos febris.

Um detalhe a ser considerado de referência a êsses estados congestivos ou de espessamento pulmonares é a sua confusão com a psitacose, doença que evolui sob forma de pneumonia com hepato e esplenomegalia discretas, isto é, aparentando pneumonia e febre tifóide simultaneamente, na sintomatologia, tal qual a brucelose.

As alterações pulmonares podem resultar de um outro mecanismo, e não por efeito da localização das brucelas. Sendo a brucelose uma doença anergisante, cria com isto uma condição de miopragia pulmonar, senão do organismo inteiro, facilitando a proliferação de outros germes, inclusive do bacilo da tuberculose. Nas vias aéreas são abundantes, nesta condição, estreptococos, pneumococos, e outros germes piogênicos que ali vivem e podem provocar secundariamente estados inflamatórios, num terreno tornado apropriado para isso.

Ao lado dêsses característicos clínicos, carece ter em mente na localização pulmonar a produção rápida das alterações, a leucocitose pouco elevada, ou mesmo abaixo do normal, para a temperatura elevada que se verifica nos casos agudos. Êsses caracteres, aliados às provas diagnósticas e à prova medicamentosa da vacinoterapia, à qual a doença responde favoravelmente, fazendo ceder os sintomas às vezes de modo espetacular, firmam o diagnóstico sem sombra de dúvida, mesmo quando

o germe não foi isolado do escarro ou do sangue, sobretudo dêste (tratando-se de forma aguda que dá com freqüência bacilemia).

Mais complicadas são as lesões pulmonares da forma crônica, porque nelas a confusão é muito maior com a *tuberculose*, mormente porque nem sempre as provas de laboratório são francamente positivas, como na circunstância acima. Dominantes na brucelose crônica, na sua forma pulmonar, são a permanência do processo no tempo, a aparência pouco ruidosa e a pequena gravidade. Não fôssem os outros sintomas, promotores de alterações patológicas e conhecidas da brucelose, passaria a lesão pulmonar despercebida.

Nesta forma, interessando particularmente por ser a mais comum, a localização pulmonar oferece aspectos prestantes a confusão com várias doenças, como a tuberculose, psitacose, micose, e, eventualmente, a sífilis, nas formas pulmonares dessas infecções; até mesmo confusão com neoplasias, segundo observaram WEED & Cols. (Fig. 91).

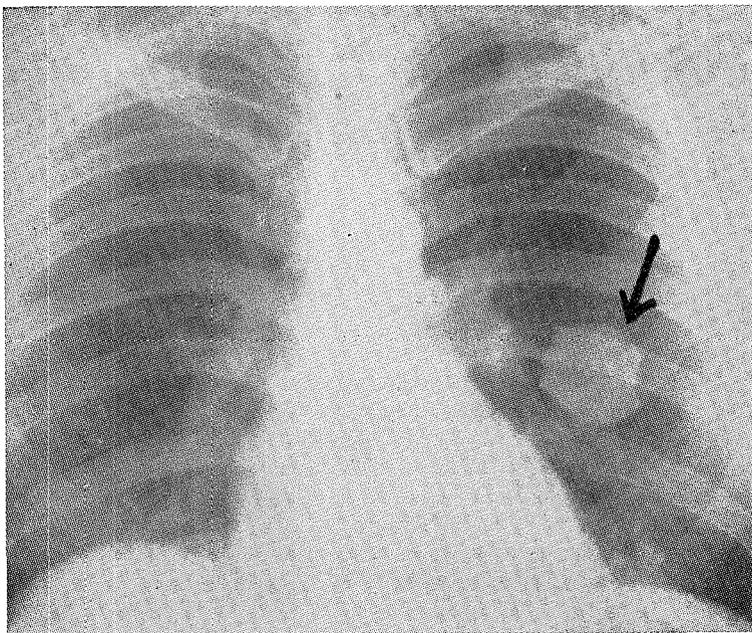


Fig. 91 — Brucelose pulmonar. Massa circunscrita no pulmão esquerdo, parecendo carcinoma broncogênico. Segundo WEED & Cols.

Infiltrações aparecem na zona peri-hilar, derramando-se na massa pulmonar para o centro e para a base, permanentes ou oscilantes acompanhadas de sintomas que poderíamos chamar esquivos ou pouco nítidos. Tosse escassa, sobrevinda em crises, expectoração exígua ou nula, alterações físicas discretas ou inexistentes. Reação geral limitada à queda ponderal, adinamia, febrícula, sinais pertinentes à brucelose e a outros males.

Revela a imagem radiológica um campo pulmonar com focos aden-sados em tórno do hilo, uni ou bilateral (Figs. 92, 93), e uma rêde dis-persa de tramite, irradiando-se para o centro e para as bases, polvilhando de branco o campo escuro do radiograma do parênquima (Fig. 92). Algumas vêzes, encontram-se de permeio nódulos mais ou menos volumosos e abundantes (Figs. 93, 94, 95). RUIZ-SANCHEZ observou um

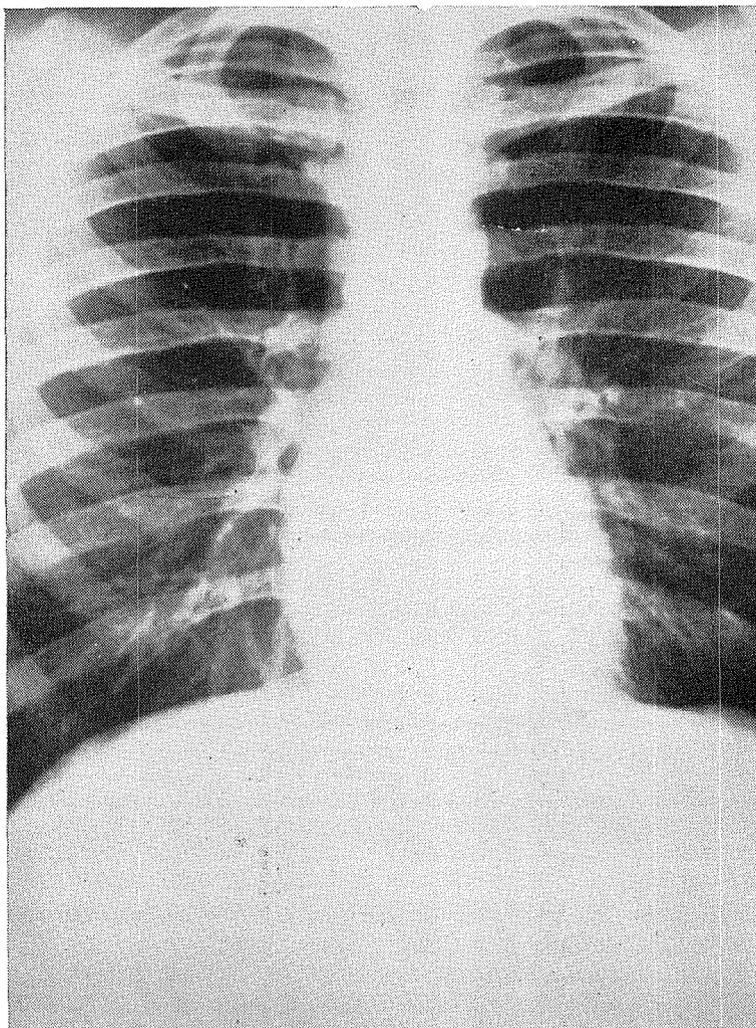


Fig. 92 — Tramite brucelosa. Original.

caso de brucelose pulmonar, em menina de 13 anos, com imagem radio-lógica mostrando grande sombra na região para-hilar esquerda; culturas de escarro, lavado gástrico e lavado pulmonar negativas para bacilo da

tuberculose e positivas para *Br. melitensis* (lavado brônquico); tratamento bem sucedido com duas séries de terramicina (Fig. 94).

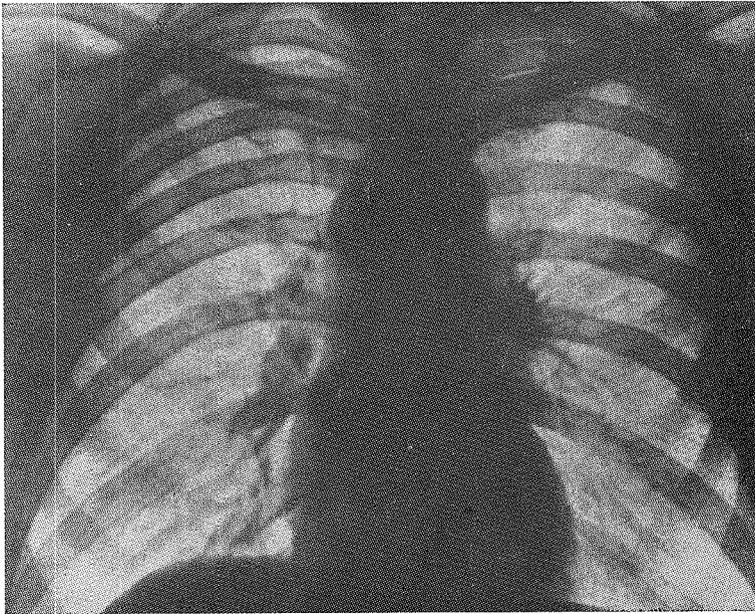


Fig. 93 — Brucelose pulmonar. Adenopatia mediastínica brucelosa; infartamento do gânglio paratraqueal direito. Segundo PONS & VALENTI.

Em nosso meio, os trabalhos de REGINALDO FERNANDES e FERNANDES & Cols. mostraram a necessidade de serem melhor verificados certos casos rotulados apenas clínica e radiologicamente como tuberculose (Figs. 95, 96, 97, 98, 99, 100). Até lesões cavitárias podem ser encontradas (Figs. 99, 100).

PACHECO observou dois casos bem ilustrativos:

I) I. M., sexo feminino, jovem de 22 anos, de boa aparência física, tomava leite de uma fazenda de sua propriedade. Dois irmãos apresentavam reações positivas no sangue e na pele para a brucela do boi, e um deles, sofrendo de dor rebelde na coluna cervical, curou-se completamente com vacinoterapia antibrucelosa. A paciente sofreu um traumatismo no tórax ocasionado por queda, cerca de um ano antes de mostrar-se doente. Passada uma semana, começou a sentir dor no local do traumatismo e apresentar tosse, com escassa expectoração. Alguns dias depois lhe apareceu febre, sendo feita uma radiografia dos pulmões. Encontrou-se um foco limitado no pulmão direito e procedeu-se ao exame de escarro. Êste deu como resultado a presença de bastonetes ácido-resistentes. Com tais exames, decidiu ser submetida à colapsoterapia e mais à medicação usual para tuberculose: cálcio, vitaminas A e D, repouso. Persistiu nesse tratamento durante 5 meses, repetido o pneumotórax cada 8 dias. Renovado o exame de escarro, que foi ainda positivo,

continuou-se com o pneumotórax por mais alguns meses, sem resultados satisfatórios.

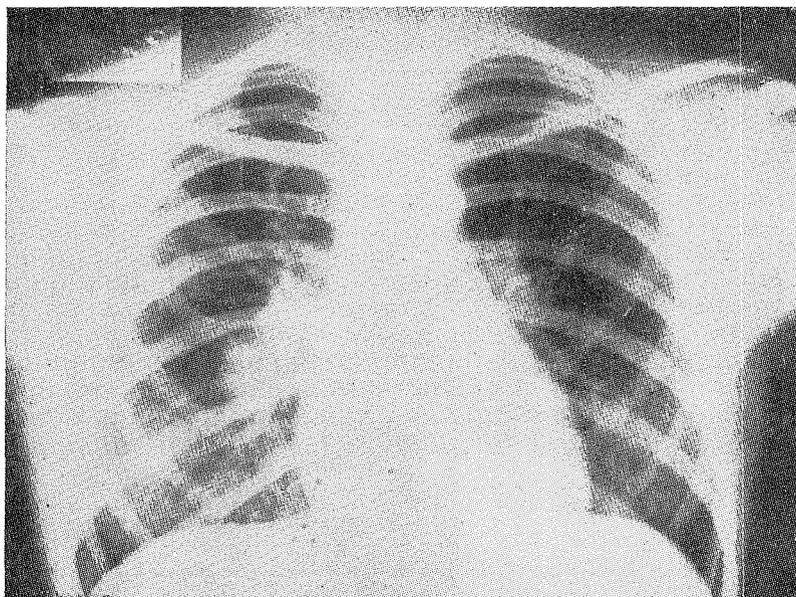
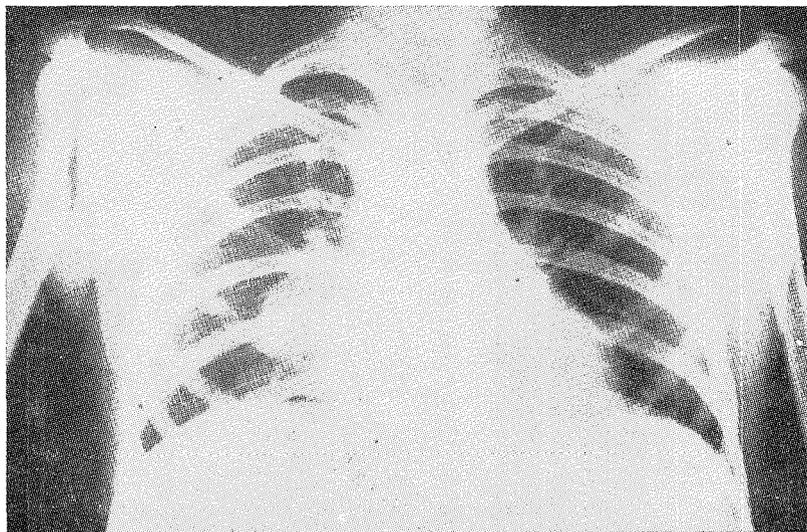


Fig. 94 — Radiografias de pulmões duma criança de 13 anos de idade com bruceiose pulmonar. Em cima: sombra para-hilar direita de aspecto piriforme, de 5 cm de largura por 7 de altura, estendendo-se ao diafragma. Em baixo: depois de duas séries de tratamento com terramicina, notando-se melhora da lesão. Segundo RUIZ-SANCHEZ.

Foi vista por PACHECO depois de internamento em 2 sanatórios. O exame físico revelava boa compleição, pêso 58 kg. Não foi notada alteração pulmonar aparente e a radiografia revelava ainda persistência das lesões pulmonares anteriores, isto é, um processo infiltrativo difuso justa-hilar, e um foco na parte média do pulmão direito, tomado por uma caverna (Fig. 101). Nesta época, fizemos-lhe um exame de escarro para pesquisa de bacilos de Koch, com provas de inoculação e cultura do lavado gástrico, porque a doente tossia pouco e não escarrava. A pesquisa microscópica foi negativa, bem como a prova de inoculação em duas cobaias, mas nos tubos de cultura com meio de Löwenstein, em que se substituíra o vermelho congo por verde brilhante, cresceram, em poucos dias, colônias de um germe ácido-resistente do gênero *Mycobacterium*, mas não tuberculígeno e com os caracteres microscópicos do bacilo de Koch.

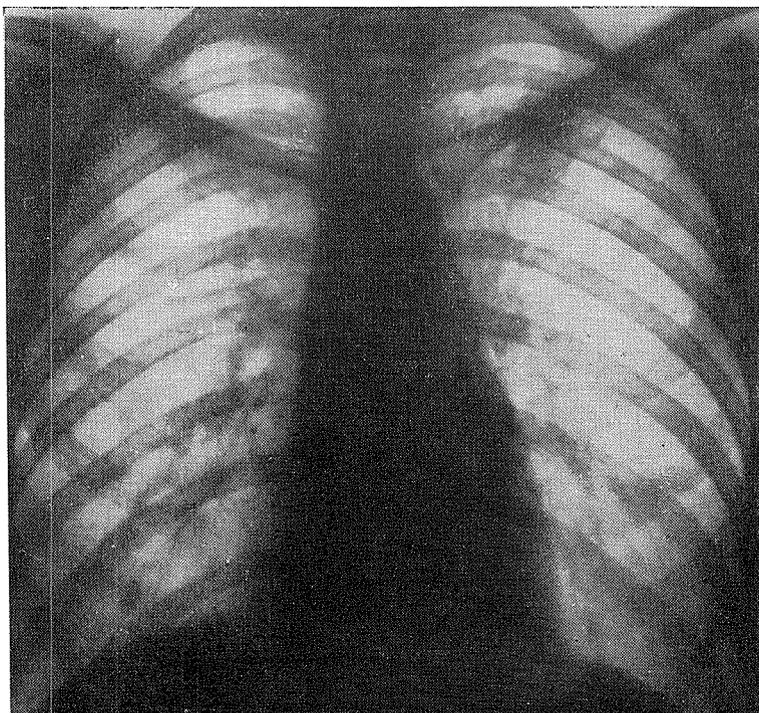


Fig. 95 — Brucelose pulmonar. Lesões nodulares nos terços superiores dos pulmões. Segundo REGINALDO FERNANDES.

Num segundo exame, igualmente negativo para bacilo de Koch nas três provas (exame direto, cultura e inoculação), houve um engano no título da solução de hidróxido de sódio, usando-se soda N/10 em vez de N/1 para o tratamento do escarro. Resultou, desta vez, o crescimento no meio de cultura acima, ao cabo de 12 dias aproximadamente, de colônias pequenas, escuras, as quais examinadas revelaram caracteres

bacterioscópicas de brucelas e posteriormente foram identificadas à *Br. abortus*. Não cresceram mais bacilos ácido-resistentes.

O achado tornou o caso realmente interessante por vários motivos: primeiro, porque julgando-se muito razoavelmente que diante do quadro radiológico a suspeita clínica se confirmara com o exame bacterioscópico do escarro, o diagnóstico de tuberculose aberta ficava plenamente justificado; segundo, pela verificação da presença de um germe do grupo da tuberculose, trazendo a possibilidade de um erro diagnóstico ba-

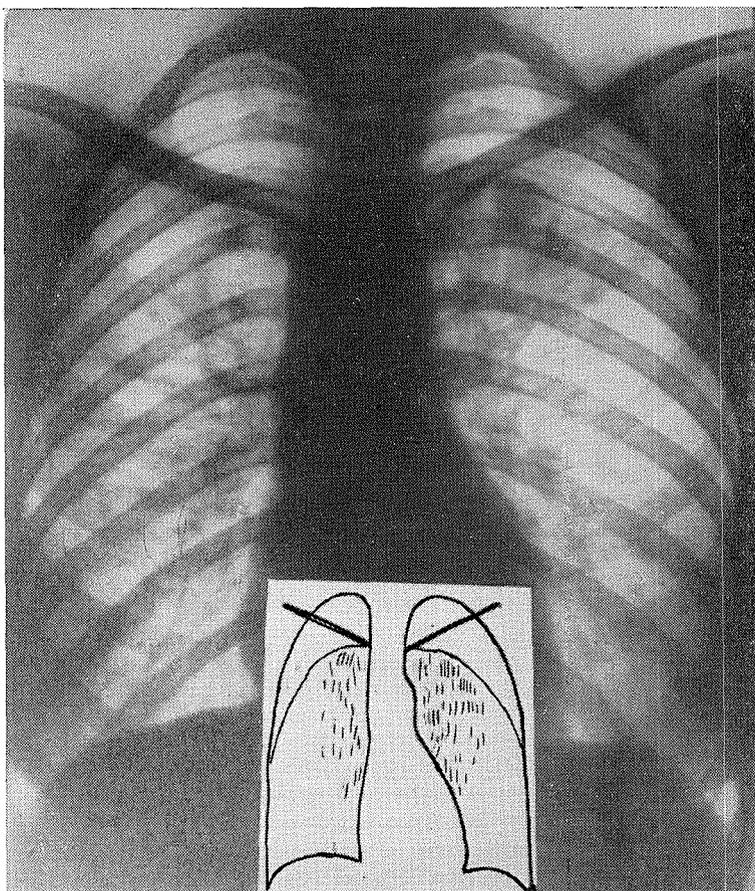


Fig. 96 — Brucelose pulmonar. Pneumotorax e persistência de lesões nodulares. Segundo REGINALDO FERNANDES.

seado em provas de laboratório, uma vez que não se fizera a prova complementar de inoculação; finalmente, o encontro de brucelas levou a mudar completamente o diagnóstico e o tratamento desse caso, ao mesmo tempo que explicava o pouco aproveitamento da colapsoterapia e da terapêutica complementar de sanatórios, onde a doente fôra recolhida, pois que apenas ganhara pêsos mas persistiram os sinais radiológicos

pulmonares e a febrícula, que voltava de quando em quando com caráter ondulatório, como se vê no quadro térmico (Fig. 88). A paciente curou-se completamente com a vacinoterapia.

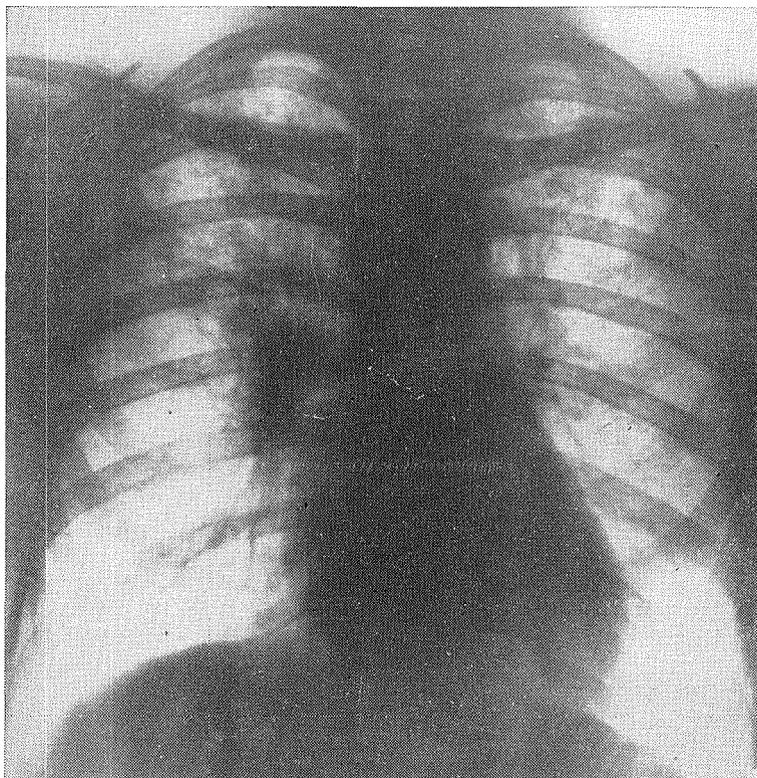


Fig. 97 — Brucelose pulmonar. Lesões reativadas após o abandono do pneumotórax. Segundo REGINALDO FERNANDES.

II) O segundo caso é de uma senhora de 30 anos de idade, casada, brasileira, adoecida em julho de 1947. Antecedentes sem importância. Quinze dias antes sentiu-se indisposta e teve tosse, com escarros hemoptóicos, ligeira febre (não se recordava do grau da temperatura). Começou daí por diante a emagrecer, sendo por isso submetida a exame radiológico. Foi encontrada uma lesão suspeita de tuberculose no pulmão direito (Fig. 102). Continuou a sentir que perdia progressivamente peso e apresentava uma febrícula vespertal de  $37^{\circ},5$  a  $37^{\circ},8$  C, todos os dias. O exame numa clínica, nessa data, mostrou uma paciente emagrecida, pálida, queixando-se de astenia, quase inapetente e com suores noturnos. Nenhuma alteração foi notada no exame físico, além da emaciação. Wassermann negativo e urina normal.

Repetidos exames de escarro, obtido com dificuldade, e do lavado gástrico, não revelaram a existência de bacilos de Koch pelo exame direto e pela inoculação. Acusava dores no peito mas sem expectoração;

apresentava uma tosse seca, pouco persistente, entretanto. Hemo-sedimentação 21 mm com uma hora, e 42 mm com 2 horas. À vista das alterações notadas no exame radiológico, lhe foi feito o diagnóstico de tuberculose ulcerativa no pulmão direito. Tratamento com cálcio e vitaminas durante mais de um mês. Não tendo havido modificação do estado pulmonar, persistindo a febre diária, e continuando negativa a pesquisa de bacilos de Koch, na escassa expectoração, foram-lhe propostas as provas diagnósticas de brucelose. A soro-aglutinação foi positiva a 1/640 com *Br. abortus* e a prova intradérmica deu uma zona de hiperemia de 3 cm de diâmetro com o antígeno bruceloso. O tratamento específico lhe permitiu recuperar o peso e fez desaparecer completamente a tosse, que de resto pouco lhe incomodava.

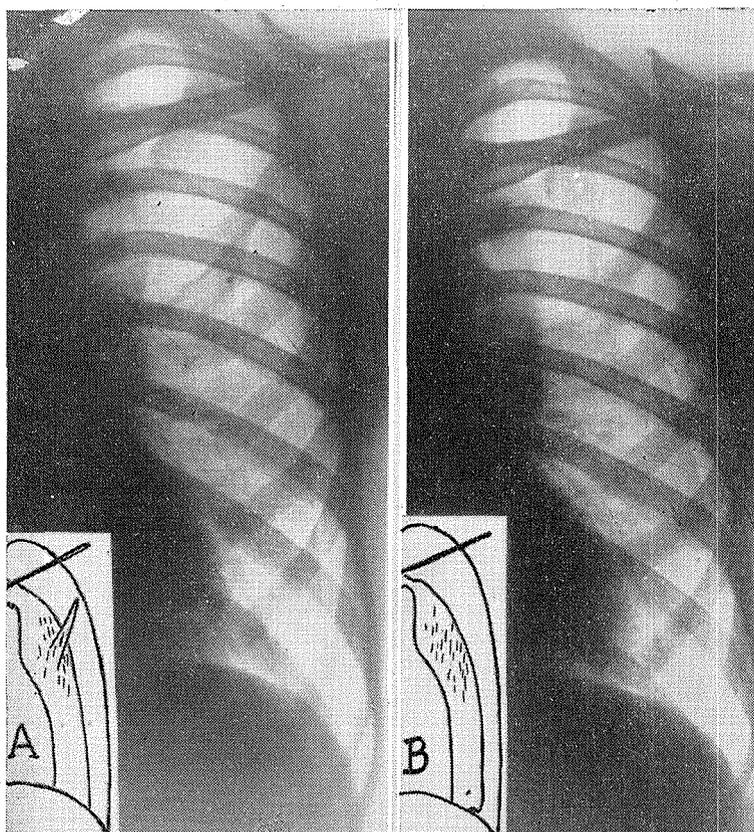


Fig. 93 — Brucelose pulmonar. Pneumotórax com aderência pleural (A) e após a correção cirúrgica (B). Segundo REGINALDO FERNANDES.

Refere SIGNORELLI que PISANI define a brucelose pulmonar como forma “pseudotuberculosa” da brucelose, aparentando completamente processos de tuberculose pulmonar ou a forma de alveolite catarral simples.

Eis uma observação de TUMINELLO, dentre outras citadas por SIGNORELLI. Rapaz de 21 anos começou a sentir um ano antes dores na espá-

dua, astenia, anorexia, febre vesperal, suores noturnos, tosse com escassa expectoração. Passados 3 meses desse estado, sobreveio expectoração sanguinolenta, que se repetiu por duas vezes mais. Suspeito de tuberculose, fez um tratamento higiênico-dietético. Cessou a febre, melhorou o estado geral, mas continuou com resistência precária e com reduzida capacidade de trabalho, tendo febrículas de quando em vez. Ao cabo de um ano, volta a febre, e após meses o estado persistindo, inter-no-se num sanatório. Apresentava então, profunda astenia, dores nas costas, às vèzes nas articulações, febre, sudorese pela manhã, tosse escassa, mas com abundante expectoração matinal, escarros sanguinolentos, emaciação acentuada. Ao exame físico notavam-se, entre outros dados pouco significativos, redução da sonoridade à direita e do espaço interescapulovertebral à esquerda, respiração rude. O exame radioló-

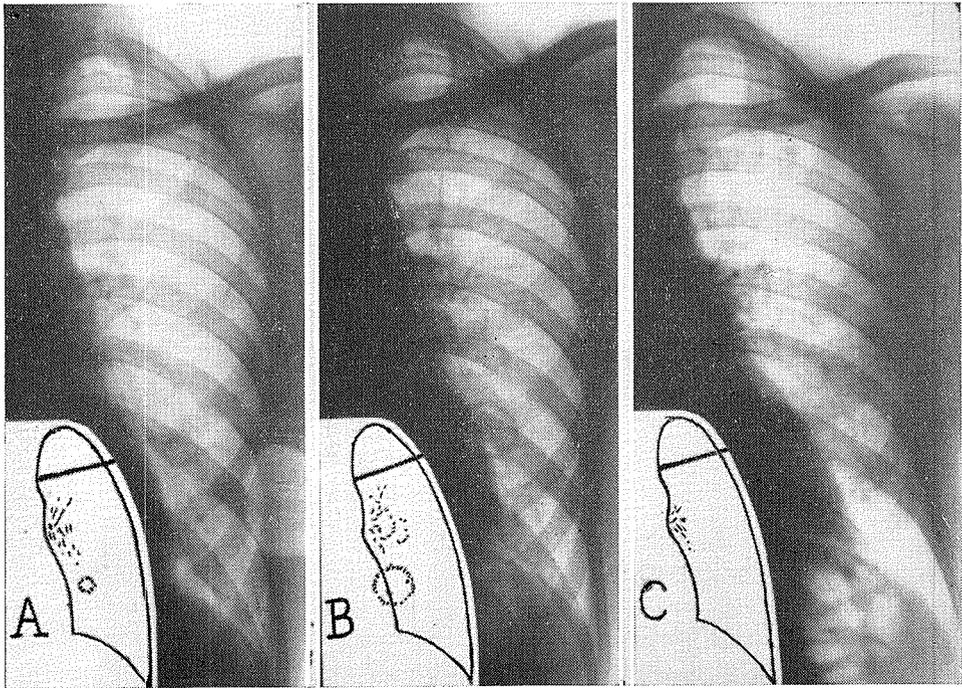


Fig. 99 — Brucelose pulmonar. Lesão escavada de base (A), aumentada com abandono do tratamento colapsoterápico (B) e curada com vacinoterapia (C). Segundo REGINALDO FERNANDES & Cols.

gico mostrou densa sombra hilar à esquerda, de contornos apagados, com estrias reticulares opacas e focos nodulares de espessamento na região peri-hilar, mais acentuados na extremidade do hilo. Redução da mobilidade diafragmática à direita. O resto do campo pulmonar normal, inclusive os ápices. Expectoração muco-salivar. Pesquisa de bacilo de Koch negativa. Anemia discreta e 5.600 leucócitos pelo exame hematológico. Wassermann no sangue negativo. Reação à tuberculina positiva. Sôro-aglutinações com bacilos tífico, paratíficos e com brucelas

negativas. Hemocultura negativa. Apesar da aparência de um caso de tuberculose exsudativa, foi tentada a vacina antibrucelosa e em pouco não teve mais febre, o pêso retornou (ganhou 4,5 kg num mês) e o espessamento hilar desapareceu completamente.

Insiste VILLAFANE-LASTRA nessa infiltração de origem hilar ou em focos esparsos pelo pulmão, sob forma de nódulos mais ou menos volumosos. Vejamos algumas de suas observações:

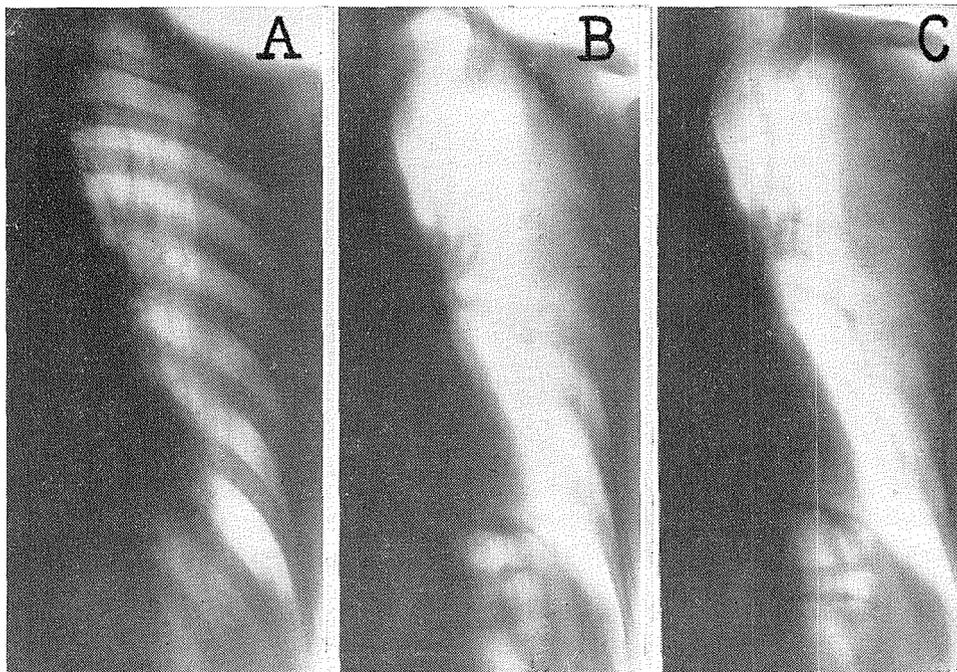


Fig. 100 — Brucelose pulmonar. Cortes tomográficos posteriores, mediano e anterior, comprovando o desaparecimento de lesão escavada num caso de brucelose pulmonar. Segundo REGINALDO FERNANDES & Cols.

I) Senhora de 30 anos adoeceu em 1933, tendo gozado perfeita saúde até então. Nessa época, sentiu cefaléia contínua, mal-estar, calafrios, sem febre entretanto, dores nas costas, à esquerda, e no baço. No inverno, começou a resfriar-se com freqüência e a expectorar abundantemente, sobretudo à noite. Essa situação perdurou por três anos. Então, o abdome se entumeceu e doía, principalmente do lado direito. O exame físico do pulmão nada revelou de importante mas a radiografia mostrou nas bases, mormente à direita, aparência de bronquiectasia, não confirmada pela broncografia lipiodal. Não apresentando melhoras, foi praticada a apendicectomia, sem resultado favorável para os seus padecimentos. Aumentou o catarro pulmonar. Eliminou então focos dentários e amígdalas, também sem proveito. A pesquisa do bacilo de Koch fôra negativa, bem como a sôro-aglutinação para brucelas, mas a prova intradérmica foi fortemente positiva com êstes germes. A vacinoterapia

libertou-a da cefaléia que durava 9 anos, fêz desaparecer a pneumatose intestinal e as dores nas costas, e o catarro reduziu-se consideravelmente.

II) Senhora de 42 anos, casada, teve dois irmãos mortos de tuberculose. Há 14 anos apareceu-lhe asma nasal, melhorada mas não curada com auto-hemoterapia, e mais cefaléia frontal e occipital, nevralgia facial, dores reumáticas nos braços e pernas. Tratava-se de paciente tão adinâmica que sentia necessidade de recostar-se amiúde. Acentuou-se a adinamia com o aparecimento de febre, tosse sêca e expectoração, estado que se prolongou por 5 meses a fio. Examinada por VILLAFÑE-

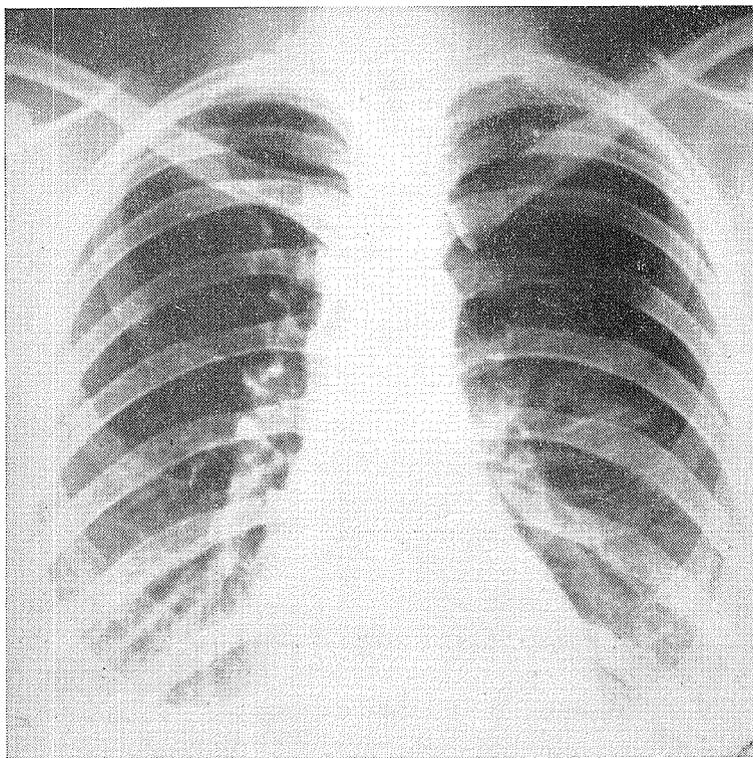


Fig. 101 — Brucelose pulmonar. Processo infiltrativo difuso justa hilar e foco na parte média do pulmão direito (caverna). Segundo PACHECO.

LASTRA, nesta ocasião encontrou êle diminuição do murmúrio vesicular na base do pulmão direito, com alguns estertôres subcrepitantes. Roncos disseminados pelos dois pulmões. O exame radiológico revelou a existência de infiltrado nodular, com nódulos de tamanho médio ou volumosos no pulmão direito, mais abundantes para a base. Seios costodiafragmáticos apagados e cisurite no meio do campo pulmonar. Nódulos discretos disseminados no pulmão esquerdo. Pesquisa de bacilos de Koch negativa. Anemia discreta, 10.000 glóbulos brancos, com 24% de eosinófilos, 106 mm de hemo-sedimentação com duas horas. Prova de Huddleson positiva a 1/25; índice opsonocitofágico, média 12; prova

intradérmica fracamente positiva, com reativação espontânea, passados 5 a 8 dias. Repetidas a prova de Huddleson 9 dias após, e a prova alérgica, a primeira foi positiva a 1/1000. O tratamento vacinoterápico provocou exacerbação moderada do processo pulmonar, que em seguida começou a regredir até que foi a paciente considerada curada, passados 8 meses do início da vacinoterapia.

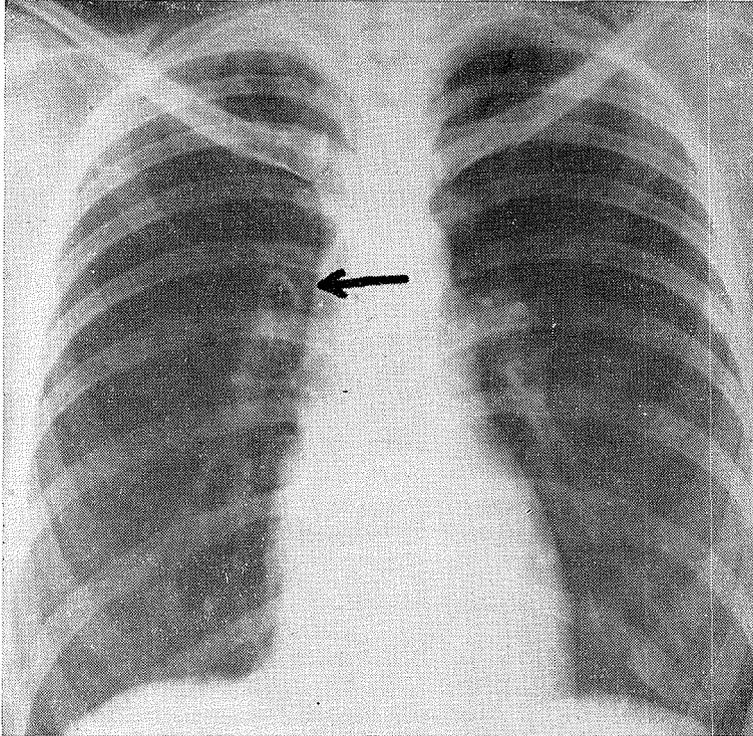


Fig. 102 — Brucelose pulmonar. Lesão ulcerativa no pulmão direito. Segundo PACHECO.

BERNARD compara as aparências da tuberculose e da brucelose pulmonar e lembra que esta pode assumir vários aspectos:

- 1) Simulação da síndrome da impregnação tuberculosa: astenia, palidez, emaciação, sudorese mais ou menos abundante, estado subfebril;
- 2) formas pulmonares da brucelose: tosse, expectoração, sinais esteto-acústicos discretos (estertôres sibilantes no ápice pulmonar), hemoptises, porém a localização pulmonar se faz em focos, conforme observaram numerosos clínicos;
- 3) caquexia ou tísica melitocócica, de Cantaloube e de Greggo: magreza, astenia, palidez, suores profusos, febre remitente ou contínua, apesar dos sinais pulmonares discretos;
- 4) formas de brucelose pulmonar aguda, confundidas com a tuberculose miliar ou galopante.

BETHOUX chama a atenção para a particularidade de as lesões pulmonares na brucelose não apresentarem gravidade, serem pouco extensas, embora possam, com outros sintomas, simular tuberculose. Assinala que as formas pulmonares estão tornando-se mais freqüentes no norte da França, País que vem sendo invadido pela brucelose da cabra, como vimos no capítulo da Distribuição geográfica. Encontrou êle, numa família, três casos de localização pulmonar com fisionomia diversa:

1) Moço de 28 anos, apascentador de animais, começou a sentir dificuldade em levantar-se quando sentado. Pouco depois, lhe apareceu um catarro rinofaríngeo, cefaléia e tosse. Passado um mês, a tosse era acompanhada de catarro muco-purulento. Continuava a emagrecer e a enfraquecer, e o exame clínico mostrou submacicez no pulmão esquerdo, respiração soprosa, mais acentuada no ápice esquerdo, língua saburrosa, hepato e esplenomegalia, pulso 80. Um mês depois, a macicez pulmonar se estendera a todo hemitórax, havia atrofia dos músculos supra-espinhosos. Sôro-aglutinação positiva com *Br. melitensis* a 1/1000. Diagnóstico: *córticopleurite brucelosa*.

2) Mãe do doente acima, esgotada com o tratamento do filho adoeceu com adinamia, tosse sêca, quintosa, em acessos freqüentes. O exame físico apenas mostrou estertôres sibilantes na base do pulmão, com obscuridade respiratória; pulso 105, temperatura 38-39°C. Nem dores pelo corpo nem suores. Após um mês dêsse estado, persistia a tosse sêca, quintosa, a temperatura tornara-se ondulante. Sôro-aglutinação com *Br. melitensis* positiva a 1/500. A tosse manteve-se por mais de um mês, agora com vômitos e escarros muco-purulentos, forte astenia, sem alterações físicas do pulmão. Por fim, volta o apetite, embora permanecesse a temperatura diária entre 37° a 38°C. Convalescença em 6 meses de doença. Diagnóstico: *tosse coqueluchóide brucelosa*.

3) Outro membro da mesma família teve tosse, submacicez pulmonar generalizada, respiração soprosa nos dois pulmões, mas sob forma de resíduos audíveis, a não ser estertôres sibilantes na fossa subclavicular direita. Temperatura de 38-39°C, do tipo ondulante. Com 3 meses de doença, havia emaciação, astenia, regredindo entretanto os sintomas pulmonares. Diagnóstico: *congestão pulmonar, com bronquite*. Houve ainda um 4.º caso na mesma família, numa criança de 10 anos.

Não obstante, a concomitância das duas doenças tem sido observada, e FUNDARÓ refere que SOLAN encontrou tuberculose em 12 de 64 brucelosos, e que 4% de 64 casos de brucelose estudados no Centro de Estudos de Brucelose em Montpellier eram tuberculosos. Os casos são inúmeros na literatura, acrescenta êle. Ajunta interessante observação sua, dessa associação: uma jovem de 17 anos apresentou astenia, anorexia, incapacidade para o trabalho, e com poucos dias de doença apareceu febrícula e esplenomegalia. A sôro-aglutinação com *Br. melitensis* foi positiva a 1/300. Tratada com vacina melhorou. A febre tornou-se irregular, apareceram tosse e estertôres catarrais no pulmão, atribuídos a complicação pulmonar da brucelose. Progredindo a tosse, foi feita radiografia pulmonar que revelou processo infiltrativo no pulmão esquerdo. Exame de escarro positivo para bacilo de Koch. Repetida a sôro-aglutinação, foi positiva a 1/100 e a hemocultura deu crescimento de *Br. melitensis*.

A seguir, apresentamos um quadro diferencial da tuberculose e da brucelose pulmonar, pelo qual pode ser visto que um grande número de caracteres é comum às duas infecções:

Caráter Diferencial	Tuberculose	Brucelose
<i>Início</i> .....	Emaciação, astenia, febrícula contínua, suores.	Febre elevada ou febrícula do tipo ondulatório.
<i>Sintomas pulmonares</i> .....	Infiltração de ápice, progressiva, sem sinais esteto-acústicos do catarro, no início; com êstes, mais tarde.	Infiltração na base, ou em focos hilares, ou dispersos por todo ou em certos pontos do pulmão; ausência de sinais esteto-acústicos.
<i>Hematologia</i> .....	Anemia hipocrômica discreta, hiperleucocitose com linfocitose, sôro-aglutinação negativa e prova alérgica negativa com brucelas.	Anemia hipocrômica, leucopenia, algumas vezes leucocitose. Sôro-aglutinação e prova alérgica francamente positivas com brucelas.
<i>Evolução</i> .....	Processo pulmonar progressivo, até formação de cavernas ou de espessamentos cicatriciais permanentes. Evolução longa, por meses e anos.	Tendência à regressão lenta, após formação mais ou menos rápida. Evolução longa, por meses e anos.
<i>Patologia</i> .....	Adenopatia, lesões viscerais de forma em geral grave, quando atingem o pulmão; pouco lesa o sistema nervoso; o germe circula no sangue eventualmente.	Adenopatia, formas viscerais sem preferência; alterações frequentes do sistema nervoso; o germe circula no sangue frequentemente, no estado febril.
<i>Patologia experimental</i> ....	Formação de focos necróticos e nódulos de vários tamanhos nos órgãos. Evolução que em geral acaba matando o animal.	Formação de focos necróticos pequenos nos órgãos. Evolução lenta e bem tolerada, permitindo sobrevida indefinida.
<i>Sensibilização alérgica</i> ...	Presente à tuberculina.	Presente a alérgenos brucelosos.
<i>Epidemiologia</i> .....	Contágio de homem a homem e grande disseminação no homem e nos animais.	Contágio difícil de homem a homem e grande disseminação no homem e nos animais.
<i>Eliminação</i> .....	Leite, excreções e ulcerações abertas.	Leite, excreções e ulcerações abertas.
<i>Possibilidade de transmissão congênita</i> .....	Só em casos de lesão placentária.	Doença congênita.

Certo interêsse haveria em saber a influência devida à intercorrência das duas infecções: tuberculose e brucelose. O assunto foi examinado por SANTIS MONALDI, na infecção brucelosa experimental da coiba, com os dois gêrmes, tendo observado aumento de rapidez na evo-

lução da tuberculose dêsse animal e mais freqüente a bacilemia. Ademais, a disseminação da tuberculose se fez em maior escala em relação às testemunhas.

Quanto às outras infecções, anteriormente citadas, e capazes de confusão com a brucelose pulmonar, a diferenciação é relativamente mais fácil com os recursos laboratoriais e, mesmo, clínicos.

A *psitacose* não foi entre nós procurada suficientemente e no aspecto radiológico se pode confundir com a brucelose, mas de ordinário se apresenta como pneumonia confluyente, embora pobre de expectoração e tosse. Leucopeniante como a brucelose, os sintomas pulmonares são também de evolução demorada. O vírus é encontrado no esputo, inoculável em camundongos e as provas de fixação de complemento permitem o diagnóstico, na falha da pesquisa do vírus.

A *febre Q* e as *pneumonias a virus* prestam-se à mesma confusão. Com a primeira pode haver concomitância. Ainda está pouco estudada no Brasil. Assinalaram-se, até agora, um foco bem determinado, por THIAGO DE MELLO & Cols., no Rio de Janeiro (THIAGO DE MELLO; TRAVASSOS & Cols.) outro por VALLE & Cols., em São Paulo e, mais recentemente, um em Minas Gerais, por MAGALHÃES.

Da *sífilis*, o diagnóstico sorológico e a terapêutica específica permitem separação fácil.

Afastam-se as *micoses* pela microscopia e pela cultura do escarro.

Outros aspectos da brucelose com localização respiratória podem ser vistos nos trabalhos de IBARRA, THOMPSON e HARVEY.

---

## C — APARELHO CIRCULATORIO. ÓRGÃOS HEMOPOIÉTICOS

Possuem as brucelas nítida preferência pelos órgãos ricos de sistema reticulo-endotelial, valendo-lhe esta particularidade a inclusão da brucelose nas reticulo-endotelioses. Em consequência dessa localização, aparecem alterações diversas que são examinadas no capítulo da Patologia.

*Sangue* — Decorre dessas alterações ou do efeito da toxina das brucelas sobre os órgãos hemopoiéticos a existência duma anemia nos brucelosos, de ordinário pouco intensa. Reduz-se o número de hemátias a 3 milhões por mm<sup>3</sup>, baixando até 500 mil, em casos excepcionais. Não obstante, não são observadas alterações morfológicas nas hemátias, ou são estas muito discretas. As anemias graves são raras, segundo GIRAUD & Cols.; quando existem, devem-se a uma mesenquimite (por sideração do tecido hemopoiético, devida à hiperplasia reticular).

Uma vez por outra, aparecem no sangue circulante formas jovens de glóbulos vermelhos e brancos, mielócitos, metamielócitos, eritroblastos; aumentam às formas em bastão dos neutrófilos e as células de irritação de Türk.

Anemia do tipo macrocítico, hiperocrômico, viram CALDER & Cols., dependente de vícios de maturação de hemátias, relacionada a alterações hepáticas, na sua opinião. A taxa de hemoglobina diminui até 40%, acompanhada por anidremia e edemas das pernas.

Nas formas agudas e crônicas, observa-se uma redução do número total dos leucócitos, cuja taxa fica de regra abaixo da normal, chegando a 2 a 3 mil por  $\text{mm}^3$ . Há, portanto, leucopenia. Pode-se admitir, com SIGNORELLI, que os germes ou suas toxinas exercem sobre a medula óssea vermelha uma atividade aplástica, impedindo ou reduzindo sua atividade hemopoética. Talvez não seja o baço indiferente a essa redução hematoplástica, imagina SIGNORELLI, sobretudo pela observação, por êle referida, de PEPINO & BARBERO, de um bruceloso com síndrome hemorragípara grave que curou em seguida à esplenectomia.

A contagem específica mostra redução dos neutrófilos contra o aumento proporcional dos linfócitos e dos mononucleares. Entretanto, curvas leucocitárias normais não são raras no decorrer da doença. CALDER & Cols. encontraram linfocitose e número global normal de leucócitos em metade de seus casos. Observações análogas assinalou MUNGER em 32 casos que acompanhou.

A leucopenia e a linfocitose ficam sendo, não obstante, as características do hemograma para a brucelose. As curvas normais, ou a hiperleucocitose com neutrofilia, por acaso encontradas, significam interferência de outros fatores, ou de complicações associadas à brucelose, tendo-se em conta a longa evolução da doença e seu caráter anergizante, que facilitam a superveniência de outras afecções ou infecções. Quando surgem modificações na curva leucocitária peculiar à brucelose, pode-se pensar em complicações, ou na tendência para a cura, se a curva se vai aproximando da normalidade.

A leucopenia tanto pode decorrer das alterações nos órgãos hemopoéticos diretamente pela proliferação das brucelas, quanto do efeito de toxinas destas. Neste particular, o hemograma representa um elemento importante no diagnóstico diferencial e na evolução da doença, expressando o aparecimento de complicações, bem assim no prognóstico, como sinal de uma tendência ao restabelecimento. A presença de linfócitos maduros é regularmente observada e em número maior que os imaturos.

CRISCUOLO, segundo VILLAFANE-LASTRA & Cols., em 100 brucelosos encontrou as seguintes taxas por  $\text{mm}^3$ :

menos de 3.000 leucócitos	.....	5%
entre 3-4.000	”	5%
de 4-5.000	”	25%
de 5-6.000	”	25%
de 6-8.000	”	25%
de 8-10.000	”	7%
mais de 10.000	”	7%

Esses dados significam um total aproximadamente de 60% com leucopenia, 24% apresentando curva normal e 12% neutrofilia.

Resultados análogos observaram CASTAÑEDA & GUERREIRO, em estatística de mais de 7.000 doentes.

Estudam ainda, CASTAÑEDA & Cols., 115 casos confirmados pela presença do germe, em que 50% apresentaram leucopenia, tendo os demais taxas normais; 97% dos casos eram de infecções por *Br. melitensis*, o que permite aproximar dos resultados de MUNGER. Em 800 pacientes com brucelose, a metade foi estudada nos primeiros 3 meses de infecção e por isso podiam ser considerados agudos, os demais tinham 3 a 12 meses e foram considerados crônicos. Em geral, houve aumento dos linfócitos. Leucopenia propriamente não foi observada, porque apenas se viu num terço dos casos. Todavia, em 462 outros, o número de leucócitos era normal, havendo linfocitose em 267.

Na brucelose há, pois, uma tendência à linfocitose.

Num estudo sobre 92 brucelosos com forma aguda, VILLAFANE-LASTRA & Cols. encontraram anemia, leucopenia e acentuada neutropenia; desses pacientes, morreram 2 de agranulocitose e 1 de pan-mieloptise.

De nossa parte, observamos um caso de síndrome agranulocítica que apresentava ataques repetidos cada 2 ou 3 meses, com febre alta, prolongada por vários dias, sem outras alterações aparentes senão um hemograma com 1% a 2% de granulócitos. As provas de soro-aglutinação e alergia cutânea foram positivas, embora a reação, na segunda, tivesse começado no 3.º dia e se mantido até o 7.º. O tratamento específico não removeu os ataques febris mas espaçaram-nos consideravelmente. A paciente curou-se com o tratamento usual da agranulocitose *vera*.

Experimentalmente provocou MUNGER uma leucopenia em cobaias, mediante inoculação de brucelas, obtendo redução de 70% dos leucócitos no sangue periférico. Este efeito foi atribuído a uma atividade citolítica sobre os neutrófilos, que verificou *in vitro*.

*Hemorragias e púrpura* — Outra influência importante das brucelas é a que exerce sobre a crase sanguínea. Além da anemia, assinalada acima, tem sido vista hipoaglutinabilidade, com demora da retração do coágulo e diminuição do número de plaquetas.

Seja por este motivo, seja promovendo fragilidade capilar, ou ainda em consequência de choques alérgicos, aparecem hemorragias que podem servir até de elemento diagnóstico, como a epistaxe. Portanto, em resumo, além das alterações na crase sanguínea, as paredes vasculares sofrem na sua integridade.

Observa-se a epistaxe tanto na forma aguda quanto na crônica, sendo manifestação única ou repetida com certa frequência.

A par das hemorragias nasais, referem-se hematúrias, enterorragias, espermatorréias, infartos hemorrágicos no baço e, finalmente, síndromes purpúricas. TOVAR encontrou 7,7% de complicações purpúricas em 650 brucelosos, no México.

A púrpura pode ser: aparente, púrpura secundária e, até, púrpura do tipo Verlhof, com sufusões sanguíneas na pele, nas gengivas, nas mucosas nasais, enterorragias e hematúria.

As hemoptises são outra conseqüência da fragilidade capilar. Ocorrem essas mais vêzes nos casos de localização pulmonar das brucelas e simulam completamente tuberculose pulmonar. (Ver tópico das lesões pulmonares).

Outras alterações hemorrágicas podem ser observadas, tais como enterorragias, gastrorragias, hematúrias, gengivorragias e hemorragias durante a ejaculação espermática.

Essas perdas sanguíneas, das quais a mais freqüente é a epistaxe, observam-se durante a evolução da brucelose e em qualquer de suas formas. Outras vêzes, elas parecem provocadas por um choque ou por ocasião de prova alérgica diagnóstica, e têm neste caso a significação de um choque alérgico local, num tecido ou órgão sensibilizado. Nesta circunstância, há sempre considerável redução das plaquetas, que chegam a desaparecer, nas formas purpúricas graves, com prolongamento do tempo de coagulação e da retração do coágulo sanguíneo, refere SIGNORELLI.

A púrpura secundária comparece juntamente com surtos febris, ou independe deles. Apresenta-se como sufusões cutâneas, de vários tamanhos e em número variável. Em tôdas elas a coagulabilidade sanguínea se prolonga até 20 minutos ou mais, e a prova do laço é positiva.

As hemorragias subcutâneas comparecem, por vêzes, mas não são sintomas predominantes na brucelose. Citam OLMER & Cols. uma série de casos da literatura, em que foram elas observadas; nalguns dos quais provocaram a morte dos pacientes. Esses pesquisadores chegam a classificá-las, segundo a gravidade, em benignas, médias e malignas. As primeiras pertencem as gengivorragias, epistaxe, enterorragias, hematúrias e hemoptises. Se repetidas, passam ao segundo tipo. As malignas são aquelas processadas em órgão ameaçando a vida, como nos centros nervosos e no fígado.

Nos casos crônicos, as alterações purpúricas podem surgir no fim da doença, significando conseqüência tardia de lesões orgânicas.

Manifestações purpúricas que podem decorrer da brucelose são as hemorragias subcutâneas das senhoras, as chamadas "manchas de tristeza". Algumas doentes, vistas por nós, as apresentavam. Uma delas foi particularmente interessante. Tratava-se de uma senhora casada, com 45 anos de idade, de boa compleição, apresentando, de quando em vez, certa depressão nervosa, logo seguida de hemorragias subcutâneas, aparecidas súbitamente e localizadas de preferências nos braços e coxas, com poucos a muitos centímetros de diâmetro, irregulares, dolorosas, sem febre ou qualquer outro sintoma. Últimamente se vinham produzindo mais amiúde, razão por que nos procurou. Sua mãe morrera de mal semelhante, com diagnóstico de púrpura de Verlhof. Residiu em fazenda, grande parte da sua vida, como sua mãe. O exame somático não mostrou alterações aparentes, exceto as hemorragias cutâneas. As reações de Kahn e Kline foram negativas. Taxas sanguíneas normais, exceto a coagulabilidade que se mostrou demorada, de 12 minutos, e o tempo de sangramento, de 4 minutos. A sôro-aglutinação e a prova intradérmica foram positivas com a brucela do boi. A vacinoterapia libertou-a das hemorragias. A princípio foram estas repetindo-se mais

espaçadamente, para desaparecerem por fim. A paciente pôde julgar-se curada do incômodo, inclusive da preocupação de crise purpúrica que lhe fizesse periclitara a vida. As depressões nervosas também não mais foram sentidas.

Nos casos determinados pela *Br. melitensis*, que deram motivos a maior número de observações de formas agudas, as hemorragias aparecem quase de repente e se disseminam, sem aumentarem, entretanto, a gravidade do caso. Constituem mais um sintoma, não obstante significarem possibilidade de complicações pela ruptura de vasos importantes. Esta ocorrência não se manifesta mais vezes porque a brucelose não é doença hipertensiva, antes, pelo contrário, observa-se nos doentes uma tendência hipotensiva. PUIG e OLMER & Cols. atribuem-nas a distúrbios hepáticos.

AJELLO encontrou lesões vasculares sob forma de peri-vascularite, particularmente nos vasos do testículo e do fígado, com espessamento hialino e dissociação das paredes dos pequenos vasos, caracterizados principalmente por lesões degenerativas necrobióticas nos tubos seminíferos, focos de amolecimento cerebral com hemorragias, pequenos extravasamentos nas vísceras, e hemorragias basilares no cérebro.

Não se tendo um bom diagnóstico, a síndrome purpúrica é capaz de simular a síndrome de Verlhof, com evolução até mortal, registra a literatura várias vezes: febre, hemorragias múltiplas e repetidas, pelo nariz, gengivas, bexiga e intestino e abundante formação de petéquias na pele do peito e dos braços. A síndrome purpúrica com êsse caráter grave é mais comum na brucelose provocada pela *Br. melitensis*; na brucelose de origem bovina e suína, ela é atenuada e de regra limita-se a manifestações isoladas e de pouca gravidade.

Muitas vezes, o paciente não aparenta sofrer com as perdas sanguíneas, ainda que repetidas. PONS & VALENTI assinalam a frequência de plaquetopenia nos casos de hemorragias e referem a observação de BAQUERO que acompanhou a curva plaquetométrica em 10 casos e verificou que o número de plaquetas decrescia com o aparecimento da febre, atingindo o máximo de redução com o acme febril. Admitem PONS & VALENTI que as hemorragias corram a conta de alterações sanguíneas, antes que de fragilidade capilar, porque a prova do laço é de regra negativa, enquanto a plaquetometria dá sempre número abaixo do mínimo normal.

*Medula óssea* — Uma particularidade curiosa das brucelas é a sua afinidade para tecidos relacionados com a reprodução, com os dos órgãos genitais, glândulas mamárias e, por analogia, com os órgãos regenerativos celulares, dentre os quais se coloca a medula vermelha dos ossos. Todavia, essa preferência não é peculiar às brucelas. A maioria dos germes dotados de organotropismo múltiplo, ou produtores de infecções crônicas (tuberculose, sífilis, cocos piogênicos, salmonelas), localizam-se frequentemente na medula óssea, de maneira transitória ou permanente, e ali promovem processos patológicos diversos. De referência às brucelas, a constância dessa localização foi verificada experimentalmente por BAUMANN & KUTSCHER que encontraram em cobaias infec-

tadas artificialmente congestão e infiltração da medula óssea, formação de focos supurativos e lesões de periostite, levando tôdas essas alterações à anquilose, como reação reconstrutiva cicatricial. Igualmente NICOLLE & CONSEIL encontraram, em cobaias inoculadas experimentalmente, lesões de osteoartrite, confirmadas ainda por BURNET, em 20% dos animais.

No porco, então, elas têm sido largamente observadas na infecção natural, nos ossos de medula vermelha, como nas costelas, podendo-se citar FELDMAN & OLSON, THOMSEN, PECEGO & COLS.

As lesões da medula óssea confundem-se com aquelas observadas no decurso de outras doenças infecciosas, resumindo-se em infiltrações ou inflamações, consubstanciadas numa tríade histopatológica: *hiperemia, reação histióide e hemorragia*, e dêsse jeito transparecendo radiologicamente.

De acôrdo com as verificações de SPINK, a reação histióide é característica, expressando-se num aspecto típico. Descreve êle lesões que considera específicas da brucelose, encontradas em esfregaços de medula esternal obtida por punção: granulomas de agregados celulares, com células epitelióides, envoltas por linfócitos ou outros mononucleares (dentre as células endoteliais) isoladas ou dispostas em sincício. Uma vez por outra, encontram-se células do tipo Langhans, com núcleo idêntico ao das epitelióides. Em conjunto, essas lesões aproximam-se ou identificam-se às outras anteriormente descritas nas vísceras, por vários pesquisadores. O estudo detalhado das lesões histopatológicas foi feito por SUNDBERG & SPINK.

**Coração** — Outra localização importante no sistema circulatório é a do endocárdio. Referem SMITH & CURTIS que HUGHES a observara 3 vêzes, e depois de suas observações muitas se lhes acresceram, inclusive as de REYNAUD & COLS.

A endocardite apresenta-se como vegetações trombo-ulcerativas, que chegam quase a obstruir o ducto cardíaco correspondente, com as conseqüências a esperar de tais modificações anatômicas, perturbando o trânsito sanguíneo e determinando alterações secundárias de estase nas vísceras (SPINK).

AMUCHASTEGUI chama a atenção para perturbações cardíacas observadas com certa freqüência nos brucelosos, influndo na excitabilidade, na conductibilidade e no estímulo cardíaco, bem como em distúrbios coronários, todos perturbando secundariamente o funcionamento hemodinâmico. Essas alterações foram vistas por êle mais freqüentes na brucelose do que nas outras infecções. Assim, encontrou modificações do eletrocardiograma em mais de 90% de 116 doentes, com alterações do eixo elétrico e distúrbios na condução e no estímulo das coronárias e miocárdio. Verificou lesões cardíacas em 55 crianças da 1.<sup>a</sup> e da 2.<sup>a</sup> infância e sugere a origem brucelosa para o aparecimento de vícios cardíacos tardios no adulto, tais como fibrilação, dilatações, miocardites e morte súbita em jovens, sem justificativa patológica aparente.

O exame das lesões assinaladas nas crianças por êle examinadas afasta a possibilidade de transtôrno cardíaco de outra origem, como acontece no adulto.

MALDONALDO ALLENDE refere que em 180 brucelosos encontrou 35 casos com afecções cárdiovasculares, cujo fator etiológico provável era a brucela, exceto em 3 que eram também sifilíticos. Entre as alterações, notavam-se hipertensão, perturbações electrocardíacas, taquicardia paroxística, etc.

MIYARA cataloga 8,5% de lesões cardíacas em 200 brucelosos, de ordinário acompanhadas de outros sintomas, mas todos com hemoculturas positivas para brucelas.

Também MAZZA & HERRERA descreveram 6 casos de formas cardíacas de brucelose, enquanto AMUCHASTEGUI & HERRERA o fazem minuciosamente dum caso de miocardite nessa doença, com a presença de formações granulomatosas no tecido cardíaco.

A casuística sôbre lesões cardíacas na brucelose é enorme e prova suficientemente que as lesões do órgão circulatório central são bastante freqüentes e importantes no prognóstico dessa doença.

*Brucelose em doadores de sangue* — Indivíduos normais ou aparentemente normais podem apresentar brucelas no sangue circulante. Assinalaram o fato PONS & VALENTI e PICKETT & NELSON em provas de hemocultura.

A verificação tem uma conseqüência muito importante, qual seja a da possibilidade de transmissão da doença por meio de transfusões sanguíneas, não sômente pelas condições sempre precárias de quem recebe o sangue como porque o volume transfundido é considerável, aumentando com isso a possibilidade de transmissão, ainda que o número de germes circulantes seja pequeno.

A hipótese de transmissão direta da brucelose de homem a homem por essa via foi aventada por BRITO MENA, que encontrou 1,31% de reações positivas em 2.899 doadores de sangue. Essas verificações foram confirmadas por SPINK & ANDERSON (4,3% a 1/80 ou mais, em 1627 doadores) e por PACHECO (5,2% a 1/80 ou mais, em 1218 doadores). Contaminando o sangue artificialmente e conservando-o em geladeira, tal como se faz nos bancos de sangue, observaram SPINK & ANDERSON uma sobrevivência de 6 meses para as brucelas.

LACAZ & Cols., em 839 sôros de doadores, encontraram os seguintes resultados: a) prova rápida de HUDDLESON: 1,07% a 1/100 ou mais; b) sôro-aglutinação lenta: 2,1% a 1/80 ou mais (24 horas a 37°C e 1 hora a 50°C); c) sôro-aglutinação lenta seguida de centrifugação: 7,9%, em 791 doadores, a 1/80 ou mais. Apesar dêsses resultados, os autores concluem que a transmissão da brucelose por transfusão de sangue não apresenta interêsse prático, em São Paulo.

Contribuição importante nesse sentido foi a de MORALES-OTERO. Êste pesquisador efetuou provas de sôro-aglutinação para brucelose em sangues de 1.855 doadores, procedentes de diversas municipalidades de Pôrto Rico, no Banco de Sangue da Escola de Medicina Tropical de Pôrto Rico, durante os meses de março a outubro de 1947. Um total de

89 soros (4,7%) apresentou provas positivas a 1/100 ou mais; muitos dos doadores revelavam passado clínico de brucelose.

Uma prova de que a transmissão de brucelas por meio de doadores não é apenas uma possibilidade foi fornecida recentemente por WOOD. Trabalhando num serviço de transfusão de sangue na Inglaterra, verificou que uma senhora que doava sangue regularmente, em certa ocasião não se sentiu bem; feito um exame para brucelose, a sôro-aglutinação foi positiva para *Br. abortus*, ao título de 1/1280. Constatou-se que quando sentira a indisposição, antes do diagnóstico, fornecera sangue a um indivíduo de 27 anos de idade, com anemia plástica. Este não apresentava outras alterações, até que, passadas 13 semanas após a transfusão, teve mal-estar, suores fracos, anorexia, diarréia ligeira, dores nas pernas, "rash" cutâneo nas mesmas, temperatura de 37°, 2C e baço e fígado palpáveis; sôro-aglutinação para *Br. abortus* a 1/2560. Eliminadas as outras hipóteses, restou a transfusão como a origem da infecção.

*Esplenite brucelosa* — Na parte referente à clínica foi visto que os pacientes com brucelose apresentam baço palpável. Da mesma forma, na infecção experimental é esse órgão o mais atacado.

Uma importante revisão sobre o assunto foi feita por OTERMÍN & ANTOLIN, em 1953. As estatísticas que apresentam sobre a esplenite brucelosa são impressionantes. Na sua casuística verificaram, em 152 doentes de brucelose, 32 com esplenite (22%). Descrevem minuciosamente os sintomas e as complicações que podem chegar até à ruptura do órgão. A anemia, que não é constante, é normocrômica, de tipo arregenerativo, sendo a taxa média de 3.710.000 de hemátias (na brucelose sem esplenite a média é 4.160.000); neutropenia e leucopenia. Febre em 78% dos casos, sendo a terça parte, somente, do tipo ondulante. Outros sintomas freqüentes são: obstipação, diarréias, tosse quase sempre sem expectoração, cefaléia, astenia, hiporexia, emagrecimento, epistaxe, amenorréia (em 25% das mulheres), manifestações de diátese hemorrágica (púrpura, escarros hemoptóicos, epistaxe e hematúria) e adenopatias. Apesar disso, as esplenopatias mais graves (fibrocongestiva e cirrótica com síndrome de Banti) são raras, segundo JANBON & BERTRAND e obrigam à esplenectomia.

## D — APARELHO URO-GENITAL

A invasão das brucelas determina nos órgãos reprodutores: ovário, útero, testículo e anexos, bem como nas glândulas mamárias, alterações congestivas, inflamatórias e outras, bastantes para perturbar mais ou menos consideravelmente seu funcionamento. O aparelho urinário propriamente dito também é atingido.

Dada a facilidade de seu deslocamento através dos tecidos e a sua multiplicação nesses órgãos, as brucelas se eliminam com as secreções e as excreções, isto é, saem pelo leite, pelos líquidos uterinos e vaginais,

pelas fezes, pelo esperma e pela urina, às vezes, em grande abundância. Essa eliminação adquiriu enorme influência na epidemiologia, sobretudo pelo caráter crônico da infecção que prolonga no tempo a expulsão de germes e multiplica, assim, as possibilidades de contágio.

A eliminação pelo leite também assume aspecto significativo na disseminação inter-humana, mormente pelas amas de leite ou pelos bancos de leite humano, já não falando na transmissão pelo leite animal, assunto examinado no capítulo da Epidemiologia. Outra conseqüência da localização brucelosa nos órgãos reprodutores é a esterilidade das fêmeas e fenômenos correlatos, adiante examinados.

#### *Localizações genitais femininas e abôrto humano*

Depois de ter sido apurado serem as brucelas os germes responsáveis pelo abôrto epizoótico das vacas, e que a infecção natural e experimental da cabra e da porca, assim como da cobaia (MCNEAL & KERR) provoca freqüentemente o abôrto nesses animais, ficou no ar a hipótese de serem elas também causadoras de abôrto humano.

Depende a propriedade abortiva das brucelas da sua afinidade ou atração pelos órgãos geradores, observada nas fêmeas natural ou artificialmente infectadas. Nestas condições, promovem alterações de vários tipos (vistas no capítulo da Patologia), e acabam infectando o feto, tornando-o, muitas vezes, inviável.

A transmissão congênita da brucela é um fato que não deixa dúvida. As brucelas atravessam a pele intacta quanto mais a placenta. Foi justamente de um feto abortado que BANG e STRIBOLT isolaram, pela primeira vez, a *Br. abortus*. Juntamente com a sífilis, fica a brucelose catalogada como doença congênita.

A questão do abôrto humano, entretanto, exige provas mais claras do que simplesmente sua correlação entre a existência da infecção e o abôrto. Sobre o efeito abortígeno das brucelas para animais domésticos e de laboratório, ninguém tem dúvida, mas para a espécie humana o assunto ainda não foi convenientemente examinado. Verdade que para a sífilis o julgamento clínico foi muito menos exigente e a existência do abôrto na mulher, pelo menos com caráter repetido, é utilizada como dado anamnóstico de valor nesta doença, até nos casos em que os exames sorológicos mostraram-se infirmatórios da suspeita clínica. Realmente, as investigações com referência à brucelose ainda deixam margem a verificações mais amplas, no sentido de se apurar até que ponto ela influi na gestação e nos seus resultados. Apesar disso, já existem provas de que, ainda neste particular, a patologia comparada contribuiu, antecipadamente para julgar a existência do abôrto humano de origem brucelosa, bem demonstrada em certo número de observações.

Não se poderiam atribuir os acidentes durante a gestação, observados nesses casos, a simples efeito da infecção presente, como sucede em outros estados infecciosos não abortígenos, porque nestes últimos a sua provocação deriva de efeitos tóxicos antes que lesivos, uma vez que os germes seus causadores não se localizam nos órgãos geradores. No caso da brucela acontece justamente o oposto, sendo regularmente infectados

útero e anexos, e também o feto, como na sífilis. As lesões dos órgãos reprodutores e o embrião infectado, juntos ou separadamente, podem resultar na inviabilidade do feto ou na interrupção da prenhez.

A presença de brucelas nos órgãos reprodutores tem sido assinalada. Também muitas verificações foram realizadas no sangue de grávidas para pesquisas de aglutininas.

CARPENTER & BOAK isolaram brucelas em uma de 34 placentas examinadas. Tratava-se de uma senhora de 27 anos, com menstruações regulares; numa segunda gravidez, abortou; da placenta e do sangue circulante isolaram-se brucelas.

CASTAÑEDA observou 3 abortos entre brucelosas. Nas três a reação de Wassermann era negativa e do exsudato uterino de duas delas cultivou brucelas; não foi possível essa pesquisa na terceira, mas desta doente o germe foi por êle isolado do sangue.

Certos fatos seriam úteis de conhecer para explicar a patogenia do abôrto. Nas vacas infectadas, surge o abôrto durante a prenhez, porque aí se processam alterações fisiológicas e texturais muito favoráveis ao desenvolvimento das brucelas.

Na mulher, com ciclos menstruais ativos e repetidos, os fenômenos congestivos poderão facilitar a localização das brucelas e provocar esterilidade, algumas vezes corrigida com a vacinoterapia específica.

HARRIS descreve amenorréia ou dismenorréia, em diversas de suas doentes; muitas delas exibiam quadro anêmico e o ciclo menstrual se restabelecia com as medicações antianêmica e específica (antibrucelosa), aplicadas simultaneamente. Em três das mulheres observaram-se amenorréia (durando 2 a 3 meses) e aumento do útero, fazendo pensar erroneamente em gravidez, embora não apresentassem elas náuseas ou vômitos.

MANCERA isolou brucelas de um quisto ovariano e do pus uterino de uma paciente; de outra, que abortara 3 vezes, com um quadro de salpingite após o abôrto, também isolou brucelas do exsudato uterino.

PONS & VALENTI referem as verificações de SHAW que encontrou brucelas no exsudato vaginal de 44 dentre 134 prostitutas da Ilha de Malta, 5 das quais eliminavam o germe pela urina.

JANBON & de KERLAU fizeram uma observação de importância. Uma gestante, empregada em Matadouro, apanhara brucelose 3 meses antes do insucesso; tornando-se anemiada, apresentou perdas uterinas mucopurulentas, seguidas de abôrto. Isolaram-se brucelas do feto, da placenta e do útero e foi encontrada necrose maciça no exame histológico da placenta.

FREI observou 9 casos de abôrto em brucelosas. Um era de mulher com o germe na secreção vaginal. Após o aparecimento de abôrto infeccioso nas vacas de seu estábulo ela abortara 4 vezes, sem causa aparente que explicasse o fenômeno.

Cinco pacientes observadas por SIMPSON & FRAIZER contavam história de abortos repetidos, sem sinais clínicos e provas sorológicas de lues, mas as provas aglutinantes com brucelas foram positivas entre 1/80 a 1/320. Quatro delas referiram passado bruceloso na anamnese,

entre 3 a 6 anos antes, e tôdas ingeriram leite cru. Dum caso de abscesso do tubo ovariano isolou êle brucelas.

Não raro se vê um processo bruceloso agudo desencadear-se depois do parto, gerando êste uma condição apropriada à disseminação do germe, provavelmente acantado nos órgãos reprodutores.

GRAD conta nas suas observações, hipomenorréia, amenorréia, e às vêzes, hipermenorréia, sintomas êsses desaparecidos com o tratamento pela vacinoterapia brucelosa, enquanto outras terapêuticas, inclusive com hormônios, resultaram sem efeito favorável. Juntamente com aquêles sintomas anotou ondas de calor no rosto, insônia, palpitações, todos melhorados ou desaparecidos com o tratamento específico. Refere GRAD maior freqüência de disfunções ovarianas, mais graves entre as mulheres da sua província que as assinaladas em outras regiões onde a brucelose estava menos disseminada. Êsses casos não respondem aos tratamentos que ordinariamente costumam remover tais distúrbios nos habitantes das cidades.

Segundo SIGNORELLI, assinalam abôrto em brucelosas:

CANTALOUBE — 1 caso;  
NICOLLE & PRATT — 1;  
SCHÖTLER — 3;  
MENZANI & DE ZANCHE — 1;  
JULLIEN — 1;  
DEL VECCHIO — 1;  
PAOLAN — 1.

DEL VECCHIO, num inquérito realizado em Bari, Itália, onde a brucelose é endêmica, em 391 grávidas encontrou 157 brucelosas e destas

abortaram 125 ou 78,6%;  
tiveram gestação a têrmo 31 ou 19,4%;  
tiveram partos prematuros 2 ou 1,2%.

Naquelas que terminaram a gestação houve 13% de fetos natimortos. Nenhuma das 391 tinha Wassermann positivo.

MADSEN, segundo SIGNORELLI, conseguiu cultura de placenta em 7 de 8 mulheres que abortaram, e KRISTENSEN & HOLM, duma outra.

Enumera HARRIS uma série de autores com observações semelhantes: MENZANI & de ZANCHE, SCHWARTZ, WITENSTEIN, STRACHAN, SPAGNOLIO, CRITIEN e outros. Desnecessário acrescentar que em todos êsses casos foram afastadas outras causas abortígenas, particularmente a sífilis.

Trabalho importante foi publicado recentemente por CRISCUOLO & DI CARLO. Examinaram 200 enfêrmas afetadas de diferentes formas clínicas de brucelose e procedentes de zona endêmica, na Argentina. Dessas, 52 abortaram, ou sejam 26%, cifras que os autores consideram nitidamente inferior à de DEL VECCHIO (78%). Estudando o número de abortos em relação ao número de gestantes, nessa região de brucelose endêmica, os autores verificaram que ocorreram apenas 88, o que dava média de 9,28%. Muitos dados interessantes sôbre as enfêrmas são descritos no trabalho, fazendo os autores uma revisão das prováveis causas, tôdas agindo em conjunto: processo de endometrite decidual;

processo de natureza toxi-infecciosa materna e, sobretudo, fetal; insuficiência do complexo endócrino hipófiso-tireóide-ovariano; mecanismo alérgico. O aborto predominou nas formas febris ou septicêmicas (52%) sobre as afebris ou crônicas (17%). Foi observado, de preferência, na primeira e, às vezes, na segunda gestação, seguindo-se gestações normais. Foi mais freqüente nas pacientes hiperérgicas e predominou nos três primeiros meses da gravidez. Concluem afirmando que o aborto, a gravidez, o parto e o puerpério constituem fatores agravantes da brucelose, chamando a atenção para a mortalidade infantil nos filhos dessas pacientes.

Anteriormente, IBARRA verificou, em 23 brucelosas grávidas, 15 abortos, todas com hemoculturas positivas; as que não abortaram, tinham brucelose crônica.

Ainda SIGMORELLI refere observações de FREI, de uma auxiliar de seu laboratório, que se contaminara, apresentando dores nos ovários e corrimento, do qual isolou a brucela infectante.

Seja como fôr, o aborto bruceloso humano vai assumindo importância social. Conquanto as demonstrações bacteriológicas do aborto por brucelas sejam relativamente escassas, a presença desses germes nos órgãos genitais, e as observações de abortos em mulheres infectadas sob forma aguda ou crônica, são tão numerosas, que seria desarrazoado pensar não haver uma relação de causa e efeito na origem brucelosa para muitos insucessos da gestação.

Do ponto de vista das perturbações funcionais anotam-se disfunções de vários tipos. Na mulher, existe dispaurenia e frigidez sexual. Ambos os sintomas não devem ser atribuídos a distúrbios neuropsíquicos, afirma GRAD, mas influem na agravação dos padecimentos, sobretudo pelos reflexos na vida conjugal.

Muito significativas para a epidemiologia são as lesões mamárias. Isolamentos repetidos de *Br. melitensis* de quistos localizados em ambos os seios duma paciente, são citados por JANBON & BERTRAND. Nem sempre as lesões se acompanham de alterações funcionais mas com freqüência reduz-se a lactação.

Esta diminuição, é muito acentuada nas vacas; no capítulo da Importância Econômica fazemos referência aos prejuízos conseqüentes à localização das brucelas no úbere dos animais.

#### *Localizações genitais masculinas*

No homem foram também anotadas alterações nos órgãos sexuais, observadas anteriormente por BRUCE e HUGHES, segundo PURRIEL & Cols., sob a forma de localização no epidídimo, na próstata e nas vesículas seminais. O trabalho mais importante sobre o assunto deve-se a IACAPRARO, que fez uma revisão da literatura e apresentou sua experiência pessoal, em 1944. Admitiu as seguintes complicações urogenitais da brucelose: glomérulo-nefrite, uretero-pielite, cistite, vesiculite, prostatite, funiculite, uretrite posterior, deferentite, epididimite, vaginalite e orquite.

A orqui-epididimite é bastante comum, segundo DA LA BALZE & Cols., que tiveram oportunidade de fazer um estudo clínico, hormonal e histológico de 8 pacientes com idades de 27 a 50 anos. Além das lesões macro e microscópicas, verificaram alterações nos espermatozóides, inclusive azoospermia. Os autores ponderam, em face de suas observações clínicas, que a brucelose pode causar a esterilidade masculina.

Também JANBON & BERTRAND consideram a orqui-epididimite uma das manifestações mais comuns na brucelose aguda ou crônica.

No homem distinguem-se formas agudas, subagudas e crônicas, no ataque aos órgãos genitais.

Na forma aguda aparece dor local, seguida, dentro de poucas horas, de tumefação dolorosa e impotência funcional. De ordinário o processo se inicia no epidídimo, deixando livres os planos e ligamentos escrotais. Nota-se, à palpação, a cauda do epidídimo como um nódulo do tamanho de uma azeitona ou mais volumoso. A invasão da vaginal acompanha-se de derrame, em geral pouco abundante, permitindo facilmente o pinçamento. Pode haver transformação purulenta do derrame mas de ordinário a transluminação mostra opacificação. O paciente se queixa de ardores após a micção e polaquiúria com urinas perfeitamente normais, entretanto. Evolução favorável, com regressão em 1 a 2 semanas, coincidindo com a melhora do doente.

Nas formas crônicas as lesões aparecem após um surto agudo ou sem êle. A sensibilidade escrotal aumenta, de um ou ambos os lados, não impedindo as atividades normais do indivíduo, quando muito acentuando-se no fim do dia. O epidídimo apresenta nódulos pequenos, disseminados, lembrando a albuginite sifilítica ou tuberculosa. Outras vezes encontram-se nódulos também no funículo, dando-lhe aspecto moniliforme; outras ainda, vão à superfície testicular, aparentando albuginite. Pólo genital livre, urinas normais, ausência de oligúria e polaquiúria. Os nódulos correspondem a focos de localização brucelosa ou micro-abscessos necróticos.

*Orquite* — Referem PURRIEL & Cols., no Uruguai, uma série de observações de orquite: HERRERA RAMOS em 1934, CASSANELLO em 1934, BLANCO em 1936, BLANCO & DUBOURDIEU em 1940, LOCKART em 1941. Assinalam que a *Br. melitensis*, das três brucelas, é a maior responsável por estas localizações, que raramente são provocadas pela *Br. abortus* não tendo êles registrado nenhum caso com a *Br. suis*.

DEBONO estima em 4% a frequência de orquite nos brucelosos, ordinariamente ocorrida na convalescença. CANTALOUBE contou 20%, porém há taxas elevadas, como a de ROGER, que a observou em 40%, e de RUCHELLI, em mais de 60%.

Conquanto todo o aparelho genital masculino possa ser atacado, mais vezes os testículos são a sede das lesões. Estas são encontradas nas formas agudas ou crônicas, mas nas últimas a orquite pode ocorrer como localização exclusiva.

A orquite é predominantemente monolateral e localizada à esquerda; com a repetição das crises passa ao lado oposto. Apresenta-se o

testículo mais ou menos tumefeito e doloroso. Frequentemente o processo se estende ao epidídimo, sob forma de orqui-epididimite. DIAS DE CASTRO chama a atenção para a formação de pequenos nódulos de albuginite, que passam despercebidos, desaparecendo dentro de 2 a 12 meses sem deixar traços.

Eis uma observação de PURRIEL & Cols.: Indivíduo de boa compleição e aparente saúde, com temperatura subfebril, nada apresenta no exame somático a não ser ligeiro aumento testicular por derrame vaginal pouco doloroso, aliás. Notam-se, na cabeça do epidídimo, pequenos nódulos, como grãos de chumbo. Escroto edemaciado, com pregas apagadas, congestão. Hemocultura positiva para brucelas e sôro-aglutinação positiva a 1/400. Passado um mês, tudo desaparecera, surgindo dores persistentes na região radiometacárpica, onde sofrera um traumatismo anteriormente.

Dentre as 10 observações de PURRIEL & Cols., de ataque ao testículo em brucelosos, há uma sem antecedentes febris. Um transportador de carne e couros, do Frigorífico Nacional do Uruguai, sofrera, 15 dias antes de ser examinado, dores intensas na região inguinal esquerda, tão fortes que supunha ter se herniado no trabalho. A dor irradiava-se para a bacia e para o escroto, o qual, no dia seguinte, amanheceu fortemente dolorido, tumefazendo-se progressivamente. Fêz-se então um processo febril com astenia, dores nos ombros e sudorese abundante.

Outro caso é o de um empregado de matadouro, que em plena saúde sofreu queda contra uma parede. No dia seguinte apareceram-lhe dores testiculares e depois edema escrotal, com formação tumoral no testículo, interessando a vaginal; ao mesmo tempo, febre. A orquite e a orquio-epididimite evoluíram para a cura espontânea, depois de semanas de duração, restando uma sensibilidade dolorosa testicular, sobretudo quando voltava a febre.

DIAS DE CASTRO refere sintomas observados por QUIENE: crises dolorosas, espermatorrêia, impotência, azoospermia, epididimites e próstato-vesiculites.

IACAPRARO admite a origem sanguínea para certo número de localizações testiculares, resultantes da propagação de um processo primitivo do pólo interno do epidídimo.

A predileção pela localização testicular tem sido muito vista nos animais. BENDIXEN relatou-a nos touros, THOMSEN nos porcos, HILLAERT & Cols. na cobaia.

Não só descreveram-se lesões em consequência dessa localização, como provou-se a presença de brucelas no esperma em número avultado e também sua transmissão pelo coito dos animais. Em alguns casos a orquite é excessivamente volumosa, como pode ser observado na fotografia tirada de um touro, observação de HIPÓLITO & GRÓVINE, em Minas Gerais (Fig. 154). É quase sempre seguida de necrose testicular (Fig. 155).

A orquite é um dos sinais de infecção na brucelose experimental. Na cobaia assume, por vezes, dimensões consideráveis, análogas às da reação de Straus na infecção mormosa. (Figs. 43, 44). No hamster

verificamos localização e reação escrotal com relativa freqüência. As lesões muito comuns nos órgãos genitais devem-se ao aparente tropismo das brucelas para os mesmos, conforme vimos anteriormente.

*Epidídimo* — O ataque ao epidídimo inicia-se em geral súbitamente, predominando fortes dores e tumefação, acompanhadas de febre, calafrios e eventualmente outros sintomas decorrentes da presença das brucelas, mas com tendência à cura. Outras vezes a localização promove apenas tumefação do órgão, quase indolor, com persistência da lesão. No 1.º caso representaria uma forma localizada aguda, no 2.º, uma crônica. Eventualmente evolui para supuração ou fistulização.

Algumas vezes o epidídimo é atacado exclusivamente. Apresenta-se de volume normal ou ligeiramente tumefeito, mas nota-se nêle uma série de pequenos nódulos ou placas, endurecidos. Segundo IACAPRARO, a lesão fundamental é de epididimite. Na sua opinião e na de MOLINELLI & Cols., em nenhum caso se verificou inflamação do testículo com integridade do epidídimo. *Todos os doentes apresentaram sempre epididimites puras, inicialmente, nos casos de localizações genitais.*

SIGNORELLI relata várias observações e cita muitas outras, de clínicos italianos e franceses.

Depois de minucioso estudo, IACAPRARO fêz um quadro distintivo da localização epididimária na tuberculose e na brucelose:

<i>Epididimite tuberculosa</i>	<i>Epididimite brucelosa</i>
1) Lesão quase sempre bilateral ..	Lesão unilateral
2) Pouco dolorosa .....	Pouco dolorosa
3) Tendência à propagação testicular .....	Não se propaga ao testículo
4) Tendência à abceidação .....	Tendência à cura
5) Fistulização .....	Ausência de fístulas escrotais
6) Aderência e envolvimento do ligamento escrotal .....	Ligamento escrotal livre
7) Vaginalite discreta .....	Vaginalite discreta
8) Nódulos próstato-vesiculares ..	Nódulos próstato-vesiculares
9) Deferentite moniliforme .....	Deferentite
10) Evolução muito lenta e tórpida	Evolução em geral rápida
11) Solução muitas vezes cirúrgica	Solução sempre clínica

Em geral a cura é completa, sem deixar seqüelas. Quando muito, restam um ou vários nódulos endurecidos.

*Próstata* — Prostatites foram assinaladas por BOYD, HARDY e IACAPRARO, com isolamento de brucelas do líquido prostático obtido por expressão forçada. BOYD usa a técnica seguinte para a colheita do líquido prostático: esvazia previamente a bexiga, de modo parcial; lava a uretra com acriflavina a 1%, cuidando que a solução não ultrapasse a uretra posterior; envolve o pênis com gaze ou algodão esterilizado, embebido na solução de acriflavina ou bicianeto de mercúrio, procurando introduzir algumas gôtas na uretra; após 15 a 20 minutos de contacto,

ainda com o pênis envólto no chumaço antisséptico comprime a próstata e as vesículas seminais, cujos líquidos passam à bexiga. Recolhe então a urina restante com sonda estéril introduzida na bexiga; a primeira porção da sondagem tem antisséptico e serve aos exames microscópicos; com a segunda praticam-se culturas.

Seria de se esperar que indivíduos residentes em áreas endêmicas de brucelose, apresentassem brucelas no tecido prostático. Para comprovar essa hipótese, O'LEARY & SPINK examinaram culturalmente as próstatas removidas cirurgicamente de 100 indivíduos que haviam residido durante muitos anos em área endêmica de brucelose; de nenhum deles foi obtida cultura positiva embora em alguns a sôro-aglutinação (38) e a prova intradérmica (29) fôssem positivas para brucelose.

#### *Localizações nos rins e nas vias urinárias*

HARRIS e outros referem a existência de nefrites na brucelose, estendendo-se à bexiga ou não. Às vêzes inicia-se por um ataque agudo de nefrite hemorrágica, com outros germes presentes ou não, ou é mais benigna, com albuminúria e cilindros, ou sem êles.

Nefrites puras ou pielonefrites têm sido descritas, também, em crianças e, ainda, durante a gravidez.

A localização renal foi mais vêzes verificada nos exames anátomo-patológicos. Todavia, a excreção de brucelas pela urina, que é o reflexo dessa localização, também tem sido vista, apesar de pouco freqüente. Dizem GREENE & Cols. que KEEFER a refere em 50% dos brucelosos examinados pela Comissão Inglesa e que WAINWRIGHT a encontrou em 20% dos infectados com *Br. melitensis* e em 4% com *Br. abortus*.

GREENE & ALBERS e, depois, GREENE & Cols. descrevem dois interessantes casos de brucelose urinária. O 1.º, um paciente de 47 anos que sofria de polaquiúria, nictúria e dores no púbis, desde 5 anos antes. O exame da urina revelou piúria sem germes ao exame microscópico mas inoculada por suspeita de tuberculose, provocou lesões de brucelose nos animais inoculados e a cultura dos órgãos destes deu crescimento de *Br. melitensis*. O 2.º, um açougueiro que sofria de afecções urinárias desde 2 anos antes, e de brucelose havia 12 anos. A inoculação da urina, ainda por suspeita de tuberculose, provocou lesões brucelosas nos animais, com recuperação de *Br. suis*. Em ambos os doentes a sôro-aglutinação com brucela foi positiva.

---

## E — APARELHO LOCOMOTOR

As manifestações da brucelose no aparelho locomotor são da maior importância, sobretudo as articulares ou ósteo-articulares. Seu conhecimento não importa somente pela freqüência das localizações senão também por constituírem, muitas vêzes, sintoma predominante e, até único, da brucelose. São elas tão contraditórias que, pode-se dizer, raros são os enfermos que não se queixam de dores ósseas ou articulares, no

início ou no decurso da doença, em qualquer de suas formas. Por isso foram registradas pelos primeiros estudiosos da febre de Malta, como HUGHES, em 1897, tendo sido a seguir freqüentemente assinaladas por outros, salientando-se dentre êles MICHEL-BÉCHET & Cols. que lhes dedicaram estudo muito particular. Nos últimos tempos, VILLAFÑE-LASTRA, na Argentina, tornou-se um dos maiores estudiosos dessa localização brucelosa, particularmente da vertebral, esclarecendo aspectos radiológicos que permitem o diagnóstico da espondilite sem maiores dificuldades.

#### *Localizações ósseas*

As localizações puramente ósseas, que não envolvem as articulações ou tecidos próximos não são muito freqüentes na brucelose; mais comuns são as ósteo-articulares.

Refere WEINZENBERG, segundo MAZZETTI & TESI, que a *Br. abortus* foi encontrada em processos de osteíte de costela e da clavícula e, uma vez, numa fratura digital.

WEED & Cols. observaram lesões císticas múltiplas no terço médio do úmero direito (Fig. 103).

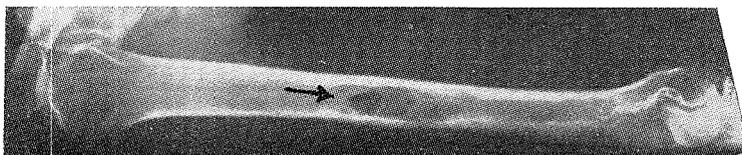


Fig. 103 — Brucelose óssea. Lesões císticas múltiplas no terço médio do úmero direito. Segundo WEED & Cols.

Alterações semelhantes foram descritas por MOLINELLI & Cols. (Fig. 104). Segundo suas observações, as brucelas colonizam-se principalmente sob o perióstio (osteoperiostites ebúrneas ou supuradas) ou em plena substância medular (osteomielite típica). A reação perióstica é pouco intensa, mais freqüente na diáfise; as lesões não apresentam as características de gravidade das osteomielites estafilocócicas e tuberculosas.

Como sucede com a maioria das localizações nos órgãos e tecidos, as nos ossos aparecem no decorrer do processo infeccioso, não surgindo no início da fase aguda, em geral.

#### *Localizações articulares*

Estas localizações foram observadas por SIMPSON em mais de um terço de 175 brucelosos, e, na mesma proporção, por HARDY, em 375 doentes. HUGHES encontrou-as em 40% dos casos agudos, enquanto PACHECO & VEIGA apenas em 2%, em casos crônicos. TOVAR MANCERA computou-as em 73% e LOWBEER concede-lhes uma freqüência entre 2 e 7%, sendo maior na brucelose de origem caprina.

Nas formas agudas da brucelose, as artrites resultam de fluxões, que assim permanecem, desaparecendo com os sintomas da doença aguda. Representam estados de sinovites congestivas, de que as únicas manifestações clínicas são as dores, com evolução rápida de dias. Não se observam, nestes casos, tumefações ou derrames, e não influem no funcionamento articular.

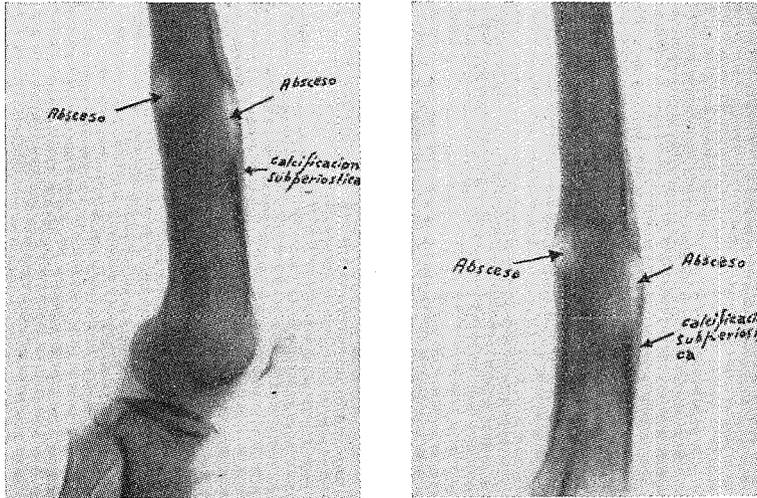


Fig. 104 — Brucelose óssea. Abscessos e calcificações. Segundo MOLINELLI & COLS.

Se o processo se transforma em inflamação permanente, então formam-se artrites do tipo do reumatismo infeccioso, com o qual se pode confundir pela presença da febre e da sudorese abundante.

MAROTOLLI divide essas localizações em reumatismo bruceloso ou pseudo-reumatismo, e artropatias brucelosas propriamente ditas. A primeira é a da fase aguda, atribuída por êle a uma simples reação fluxionária, de natureza alérgica articular; a segunda, é um processo inflamatório da localização brucelosa.

Acha VALLEJO SIMON que pelo menos 10% dos brucelosos apresentam localizações ósseas ou articulares, porém, a maioria dos casos por êle observados no Hospital de Rey apresentava pseudo-reumatismo. Acredita num mecanismo tóxico-alérgico para a afecção, convindo assinalar que fêz uma classificação para o pseudo-reumatismo, baseada na etiopatogenia: ósseo, sinovial, tóxico e misto.

Na forma do tipo reumático da classificação de VILLAFANE-LASTRA, observa-se um quadro análogo ao do reumatismo poliarticular crônico, sem ou com derrame nas articulações.

São comuns alterações inflamatórias nas pequenas e nas grandes articulações, acompanhadas de deformações (Figs. 105, 106, 107).



Fig. 105 — Artrites brucelosas. Joelhos e mão. Original.

Também já têm sido observadas formas típicas de bursites, como nos casos de JOHNSON & WEED, todos com localizações no joelho (Fig. 107). Do material recolhido das lesões, durante a intervenção cirúrgica, foi isolada *Br. abortus* de todos os 4 casos descritos. Num dos pacientes as lesões eram bastante extensas (Fig. 108) sendo o diagnóstico de bursite subaguda granulomatosa. O isolamento de brucelas dos tecidos lesados afastou completamente outras hipóteses diagnósticas.

As artrites múltiplas também são comuns. OTERMIN estabelece o conceito da mesma: afecção inflamatória e sucessiva de várias articulações, causada pela atividade patogênica das brucelas. Analisa a frequência e relata que em seus protocolos figuravam 21 dessas formas, em 47 casos de brucelose (44%). Considera a poliartrite essencialmente diferente da mono-artrite, sob o ponto de vista patológico, mas sendo possível encontrarem-se formas intermediárias.

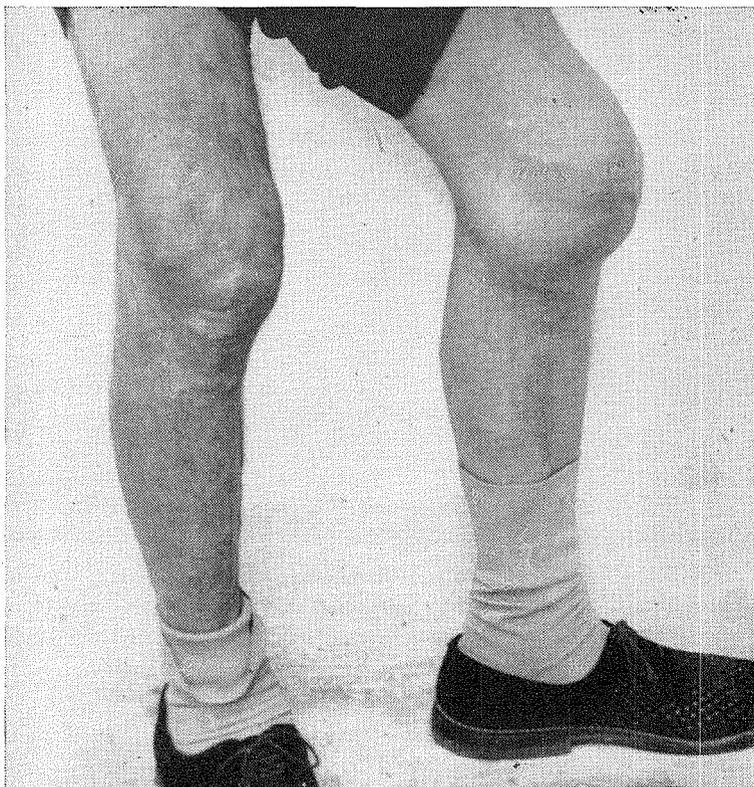


Fig. 106 — Artrite brucelosa no joelho esquerdo. Original.

Outras vezes aparenta reumatismo crônico localizado, mono-articular, sobretudo na articulação sacro-iliaca, coxo-femural, ou na do joelho.

GREEN & FREYBERG contam que BEATH encontrou afecções reumáticas em 50% dos casos, sob forma de artralgia, mialgia, artrite supurativa ou não, espondilite, osteoporose e osteomielite. Na Califórnia, onde predomina o tipo bovino, há mais artrite brucelosa que em Iowa, onde o tipo porcino é mais comum.

EALLES refere a frequência de 15,3% em 268 brucelosos.

Taxa também elevada foi vista por GOLDFAIN, que registrou manifestações articulares em 31 de 50 pacientes estudados, dos quais 9 com

artrite deformante, 5 com artrite hipertrófica, 1 com espondilite anquilosante e 5 com fibrose articular crônica; nos demais, viu neurose com reflexos articulares.

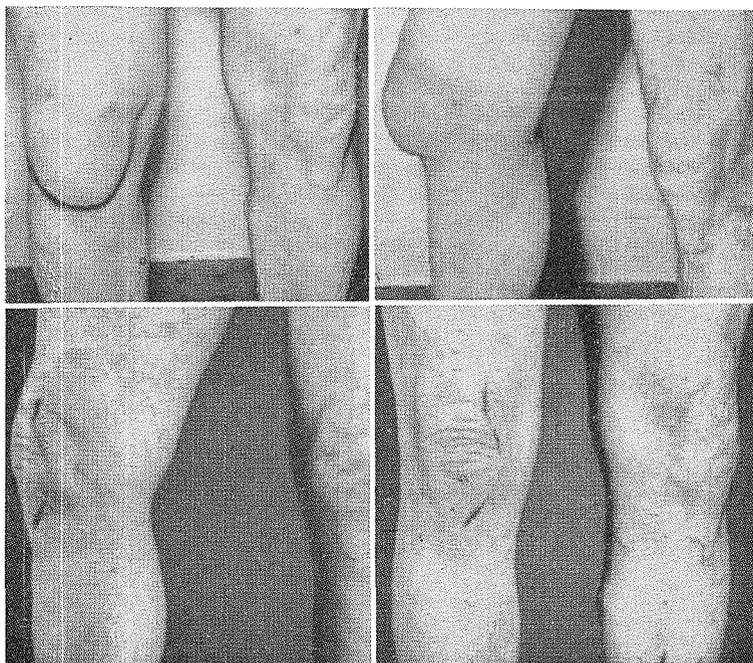


Fig. 107 — Bursite brucelosa; antes e depois da intervenção cirúrgica. Segundo JOHNSON & WEED.

GREEN & FREYBERG estudaram 50 casos de reumatismo, dos quais 25 apresentavam artrite reumática ou reumatóide, mas nestes a metade não deu provas positivas de brucelose, nem apresentou sintomas característicos dessa infecção, e dos outros, apenas 6 tiveram reações positivas. Apesar da pequena frequência, fica possível, dizem eles, a origem brucelosa para certo número de casos de reumatismo deformante. Entretanto, mesmo nesta contingência, a evolução é curta, desaparecendo com os outros sintomas do ataque agudo, acrescentam.

Algias e alterações articulares assinalam PIANTONI & Cols., em 53 de 56 crianças, quase tôdas desacompanhadas de lesões inflamatórias. Houve, nas suas observações, predominância de alterações nas articulações do joelho e coxo-femural. De alguns casos com fluxão obtiveram, pela parectese articular, um líquido amarelado, turvo, do qual isolaram brucelas.

Em certos pacientes a fluxão articular aparece depois de passada a fase aguda, como seqüela ou como localização focal tardia do ataque inicial. Em qualquer caso, se resta persistente, é sinal sempre de inflamação ou de exsudação permanente.

RIVERA PEREZ admite uma forma especial de reumatismo, a síndrome reumatóide crônica por brucelose oculta; menciona que, pela introdução do antígeno bruceloso, intravenosamente, na dose de 3 a 5 ml aparece febre, embora tais doentes não possuam aglutininas no sangue circulante. Em 17 casos de artropatias 7 eram de origem brucelosa. Obteve a cura ou melhoria da brucelose oculta reumatóide com vacinoterapia específica.



Fig. 108 — Bursite brucelosa; cavidade cheia de fibrina e espessamento das paredes da bursa; das lesões foi isolada *Br. abortus*. Segundo JOHNSON & WEED.

Nas formas crônicas as lesões articulares são menos freqüentes, mas em compensação não desaparecem em curto tempo, e até duram anos. Manifestam-se juntamente com outros sintomas, ou como sofrimento único, relacionado a uma brucelose aguda, sobrevinda anos passados, ou mesmo a uma infecção inaparente. É o caso contado por BAKER, de um indivíduo que tivera brucelose 17 anos antes e que sentiu, de uma feita, dor no joelho direito, em seguida no esquerdo, com inchação, impossibilidade de caminhar e febre; começou a emagrecer, perdendo 10 kg; apresentou adenite cervical e epitrocleana, anemia e ligeira leucocitose com neutrofilia. Uma punção na articulação forneceu líquido vítreo do qual isolou *Br. melitensis*.

De outro tipo é a observação de SHARPE. Uma jovem, sadia até 20 anos, apresentou, sem mais nada, os joelhos inchados e dolorosos. Prati-

cada uma parentese, melhorou mas retornou a inchação, acompanhada de febre, anorexia, e queda ponderal. Anemia acentuada, com 52% de hemoglobina, menos de 3,5 milhões de hemátias por  $\text{mm}^3$ , leucocitose com 15 mil leucócitos por  $\text{mm}^3$ . A pesquisa de brucelas no sangue e no líquido das articulações foi negativa mas a prova aglutinante foi positiva a 1/400.

Observação análoga é a relatada por COVENTRY & Cols. Após 6 meses de uma apendicectomia, apareceu na paciente uma dor à direita do abdômen, sem grande intensidade, que durou 2 semanas, até que, de súbito, teve um ataque de dor forte. Discreta neutrofilia sem leucocitose, aglutinação com brucelas positiva a 1/100; encontrou-se uma lesão óssea destrutiva da cabeça do fêmur, interessando a articulação. Puncionada a sinovial, não se obteve cultura do líquido retirado mas, repetida, foi positiva para *Br. suis*.

Nem sempre a artrite se acompanha de sinais físicos. Um exemplo é uma observação nossa, de doente que sofria há muito de uma dor localizada na articulação escapulo-umeral; também era atacado de freqüentes resfriados, com manifestações faríngeas. Não contava na sua história, passado febril, mas as provas alérgicas e sêro-aglutinantes foram francamente positivas para *Br. abortus*. Uma série vacinante libertou-o das dores e resfriados. Observado durante quatro anos, nada mais sentiu.

As artrites apresentam-se únicas ou múltiplas, isto é, formas mono ou poli-articulares. Em geral não há articulações preferenciais, porém as mais movimentadas, do joelho, do cotovelo, coxo-femural, são mais atacadas.

KULOWSK, citado por HARRIS descreveu um caso de osteomielite da cabeça do úmero, mostrando lesões cicatriciais, 2 anos após uma operação, durante a qual foi isolada brucela (Fig. 109).

A artrite sacro-iliaca oferece interêsse pela possibilidade de confusão com a coxalgia tuberculosa e com a ciática. Manifesta-se o ataque com dor aguda, dificultando ou impedindo os movimentos, mesmo em decúbito, até a defecação, pelos esforços musculares da bacia, irradiando-se para a região femural posterior e para as panturilhas. As manobras de Erichsen (dor pela aproximação forçada dos ilíacos), e as de Valkmann e de Larrey, provocam reações dolorosas. Lasêgue positivo, dependendo da distensão dos ligamentos, preferindo-se a manobra de Bagard.

Na artrite sacro-iliaca monolateral pode formar-se uma escoliose lombar do lado lesado, com atrofia muscular reflexa, particularmente dos glúteos. O ponto ilíaco de Trousseau pode ser doloroso, mas às vêzes são os músculos glúteos que se mostram mais dolorosos. A atrofia pode estender-se até os músculos das extremidades.

Observamos um caso interessante, com lesão destrutiva na articulação coxo-femural direita determinando artrite deformante (Fig. 110).

HARDY observou dor nas cadeiras em 1% dos seus casos, acentuando que diversas afecções podem provocar êsse sintoma, carecendo fazer diagnóstico diferencial com tôdas elas (febre tifóide, malária, endocardite

séptica, tuberculose, gripe, reumatismo, apendicite, colecistite e afecções gênito-urinárias).

EALES relata que uma paciente, com 11 anos de idade, apresentou dor na anca esquerda, ao levantar-se, aumentada com os movimentos; tinha suores, adinamia e febre, assim permanecendo durante 2 meses. Diagnosticada coxalgia tuberculosa foi imobilizada, sem grande proveito. Continuando sem melhoras apreciáveis, foi feita hemocultura, com resultado positivo para *Br. melitensis*; curou-se com aureomicina.

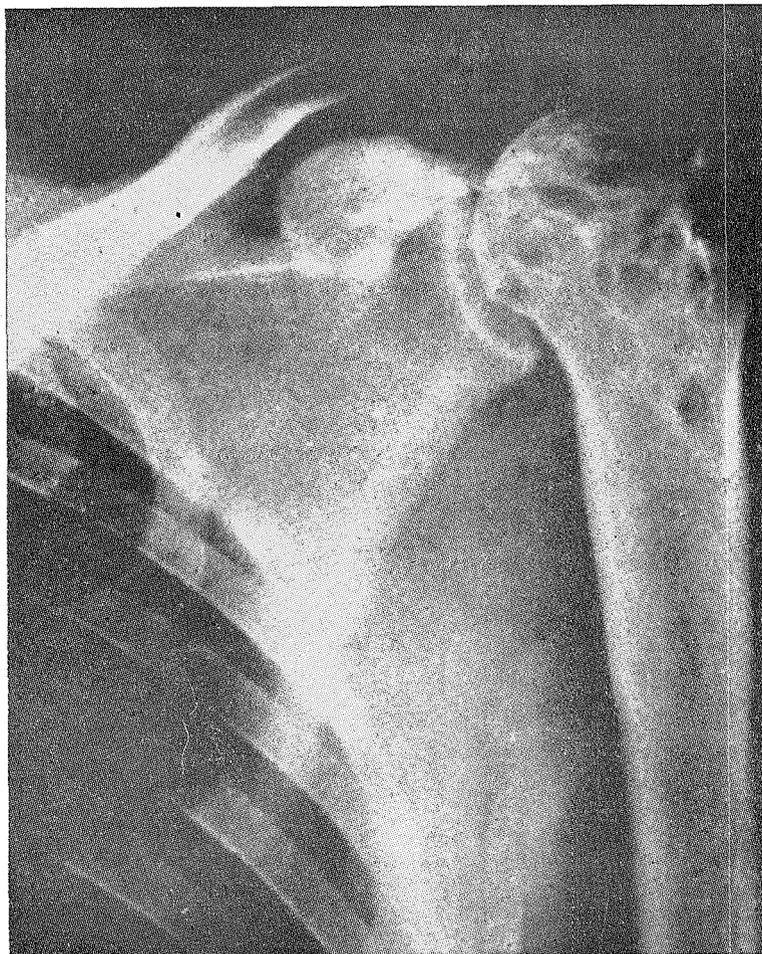


Fig. 109 — Ósteo-mielite da cabeça do úmero, mostrando lesões cicatrizadas, 2 anos após uma operação, na qual foi isolada brucela. Segundo KULOWSKI, em HARRIS.

Também frequentes são as artrites nos porcos com infecção natural, observadas por THOMSEN e, mais recentemente, por JAMES & GRAHAM, num plantel em que muitos dos porcos apresentavam-nas durante anos.

O exame necroscópico dos animais mostrou a existência de artrite e de osteomielite, correspondentes aos sintomas clínicos apresentados.

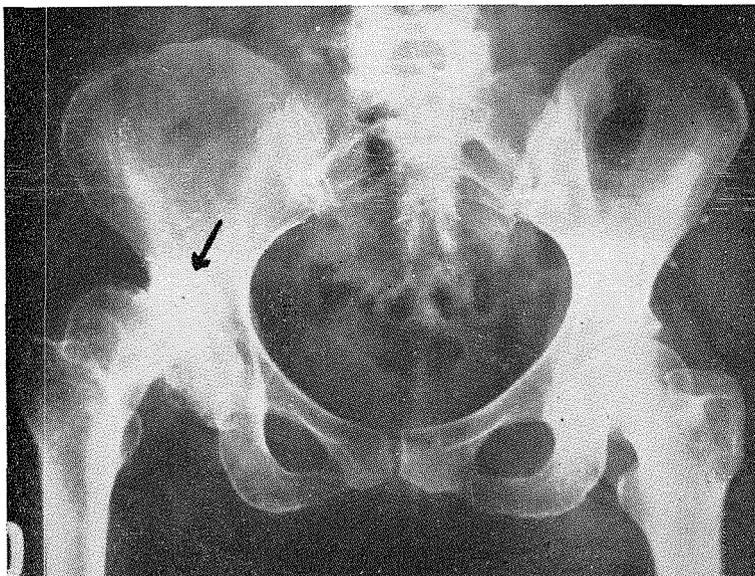


Fig. 110 — Brucelose ósteo-articular. Lesão destrutiva na articulação coxo-femural direita. Desaparecimento do espaço articular em sua parte superior; esclerose do teto acetábulo no ponto de contacto com a cabeça; sub-luxação produzida por capas concêntricas do novo osso, depositadas na cavidade cotilóide; artrite deformante. Original.

**ESPONDILITE BRUCELOSA** — Destacam-se dentre as localizações osteoarticulares, as *espondilites*, que provocam dores, sobretudo na região lombar, em virtude de serem mais freqüentes nessa região da espinha dorsal. Acredita DI RIENZO que o sistema vertebral, tanto nas suas partes moles quanto na parte óssea, seja uma das zonas de predileção para a localização das brucelas.

EYRE encontrou-as em 20% de suas observações, DI RIENZO em 62%, LAMANSKY em 30%-40%, PURRIEL & Cols. em 62%, VILLAFANE-LASTRA em 50%, chegando a 75% quando as verificações puderam estender-se à necrópsia.

PHALEN & Cols. asseveram que a espondilite é a localização óssea mais comum na brucelose. CANTALOUBE catalogou-a 50 vezes, em seus 150 casos. Também, para BISHOP, é a lesão mais encontrada na brucelose, predominando no adulto, e mais vezes localizada nas regiões lombar e dorso-lombar. Em conjunto, a freqüência da espondilite vai até 70% dis LOWBEER, com a mesma predileção pelas regiões lombar e dorso-lombar. Contudo, as localizações cervicais não são raras.

JANBON & Cols. assinalam, mesmo, que embora sejam elas assim consideradas, observaram numerosos casos, dos quais descrevem 16. Em geral, segundo eles, a espondilo-artrose cervical manifesta-se em tôrno do

6.º mês de infecção brucelosa, com sintomatologia que varia desde a do torcicolo banal até a do mal de Pott bruceloso.

A espondilite pode ser o sintoma único da doença. Mais freqüente no adulto, sobretudo de idade superior a 40 anos, raramente é vista nos jovens, sendo pouco assinalada nas crianças. PURRIEL & COLS. jamais a viram na mulher. Acreditam ROGER & POURSINES que tôdas as alterações de natureza dolorosa ou anatômica da coluna, observadas em pacientes com brucelose, representam lesão de natureza brucelosa.

O exame físico raramente mostra a presença de alterações anatômicas, sendo estas presentes nos casos de abscessos ósseos da coluna. Apenas se encontra rigidez, decorrente da contratura dos músculos dorsais, obrigando o paciente a uma postura de manequim, quando as dores são mais intensas, suprimindo ou dificultando os movimentos de lateralidade, de flexão e de extensão.

No caso de se formarem abscessos nas vértebras lombares, pode haver propagação do processo inflamatório à serosa, com sinais de peritonite, pulso rápido, hipotensão arterial, náuseas e vômitos, adinamia, parestesia intestinal, *facies abdominalis*, dores abdominais, ou seja, um quadro de abdômen agudo ou de peritonite subaguda, prolongado por dias, sem se agravar, entretanto.

Se os abscessos progridem no sentido ântero-posterior, seguem os mesmos caminhos das supurações vertebrais promovidas por outras causas. Prolongando-se pelas bainhas dos músculos da bacia, a sintomatologia vai variando com as contingências e as dificuldades dessa propagação.

Vejamos uma observação de MARIETTA: paciente de 49 anos, começou a sentir dores na coluna, nos ombros, nos testículos, e mais, febre e suores. Um hemograma revelou leucocitose, com 90% de neutrófilos; perdurou êste quadro por 6 meses, quando o doente apresentou-se irritado, incoerente, apático e com cefaléia de intensidade crescente. A raquicentese mostrou linfocitose de 115 linfócitos por mm<sup>3</sup> no líquido, cujo Wassermann foi negativo. Provas diagnósticas para brucelose positivas, inclusive hemocultura. Manteve-se permanente a febre. Terminou com abscesso na coluna.

Outro caso interessante narram KULOWSKY & VINKE. Um fazendeiro de 33 anos foi acometido, em plena saúde, de dores de cadeiras, mais ou menos contínuas, iniciadas insidiosamente, sem nenhuma alteração geral. Não havia irradiação para o tronco. Aumentava dia a dia, progressivamente, chegando a impedir os movimentos. Passados dois meses, a dor começou a irradiar-se para o abdômen. Apareceu adinamia, inapetência, náuseas, queda ponderal de 18 kg e obstipação rebelde. Com 8 meses dêsse estado, surgiu febre, durante 3 dias apenas, a qual retornou, passado um mês, acompanhada de sudorese, nictúria com pus e sangue, sensação de ardor à micção. O exame físico apenas revelou ligeira hepato-esplenomegalia e prostatomegalia; abdômen doloroso à pressão. O exame radiológico mostrou destruição das facetas vertebrais interarticulares, sobretudo das 4.ª e 5.ª vértebras lombares. Sôro-aglutinação e prova intradérmica, ambas positivas para brucelose. A inter-

venção cirúrgica demonstrou a existência de fusão e consolidação vertebrais, e um pouco de pus, do qual foi isolada *Br. abortus*. Um rebanho bovino de sua propriedade estava infectado por brucelas.

Os abscessos são mais encontrados nas espondilites brucelosas de origem caprina do que nas de origem bovina e suína. Todavia, no porco e no boi, os processos supurativos ósseos são muito freqüentes. LOWBEER narra em detalhe um caso de abscesso frio causado por brucela do porco, observado num paciente em que houvera comprometimento da coluna e do coxal, e completa destruição do tecido ósseo, substituído por um tecido de granulação, com grandes células mononucleares, imersas num tecido caseoso. Em outros pontos o tecido ósseo fôra substituído por um tecido de neoformação.

A proliferação do tecido ósseo vertebral pode provocar anquilose, sendo assim enquadrável no reumatismo crônico anquilosante ou deformante da coluna vertebral, cuja etiologia, aliás, é obscura ou discutida. Propagando-se o processo infeccioso às meninges, por via transdural, modifica-se nas alterações neuropatológicas a descrição dessa ocorrência.

Nem sempre a espondilite segue-se de sintomas de alterações fisiológicas da coluna, podendo decorrer silenciosamente, sendo surpreendida pela formação de pus com aparência de abscesso frio, com o qual se confunde a tal ponto que teve a denominação por RIMBAUD & LAMARQUE de "mal de Pott melitocócico". PERRUELO também se refere a um "pseudomal de Pott bruceloso", descrevendo 3 casos, dos quais 2 melhoraram com intervenção cirúrgica.

*Patologia* — De regra as brucelas chegam aos ossos por via sanguínea ou linfática, determinando nêles o tipo da infecção focal. Aí promovem lesões do tipo inflamatório, com produção de fungosidade ou cárie.

Entretanto, as alterações são bastante características e foram examinadas no capítulo das lesões histopatológicas.

LOWBEER assinala lesões destrutivas ósseas em vários casos por êle examinados e vistas a propósito de espondilites. Nas preparações de lesões ósseas de cobaias, encontrou destruição do tecido ósseo provocada por osteoclastos, sob forma de granuloma de células mononucleares, acompanhando necrose da medula e formação de osteófitos periósticos. Simultaneamente a processos destrutivos havia neoformação óssea na periferia.

Nos casos crônicos, em que se podem observar localizações ósseas definitivas, as lesões são fugazes mas de regra tornam-se evidentes ao exame radiológico.

Não existindo alterações ósseas peculiares ou específicas, na brucelose, respondem os ossos de maneira mais ou menos idêntica à infecção, carecendo a osteíte de individualidade anatômica, segundo PURRIEL & Cols. Apesar disto, são dominantes certos aspectos das lesões ósseas, com neoformação hiperosteogenética, sendo excepcionais os processos de destruição encontrados na tuberculose. Eventualmente evoluem as lesões para a supuração, na qual distingue MICHEL-BÉCHET a forma crônica, de abscessos frios, e a forma aguda, de osteomielite. Admitem, ain-

da, PURRIEL & Cols. formas intermediárias, com abcedamento e hiperoosteose.

A forma de abscessos frios pode promover a fistulização, tal qual sucede na tuberculose óssea, podendo simular esta última por processos descalcificantes ósseos e formação de seqüestros.

Também as formas agudas podem supurar. Referem PURRIEL & Cols. dois casos. Um era num paciente que trabalhava em frigorífico havia 11 anos, tendo se contagiado e apresentado hemocultura positiva de *Br. abortus*. A convalescença foi prolongada, seguida de recidiva, sentindo, então, forte dor no terço médio do rádio, que, no raio X, revelou um espessamento limitado naquele ponto. A drenagem deixou sair pus. Posteriormente teve também localização vertebral.

Em tôrno dos processos ósseos há uma reação congestiva das partes moles.

Em qualquer caso as lesões ósseas podem simular ainda lesões sifilíticas, com aspecto fusiforme das diáfises ósseas.

CHARVET distingue 4 tipos de alterações vertebrais, sob o ponto de vista patológico e evolutivo:

1) descalcificação maciça ou em pequenos focos de osteíte, disseminada no corpo, na apófise e nas lâminas vertebrais; 2) lesões destrutivas, sob forma de erosões irregulares, localizadas nos bordos vertebrais; 3) lesões dos discos, reduzindo a interlinha e, às vêzes, provocando fusão das vértebras; 4) hiperostoses com osteófitos, em forma de bico de papagaio, indicativos de um processo cicatricial reparador. As lesões do tipo 3 resultam de extensão do processo ósseo à articulação intervertebral, formando uma espondilrite.

Possivelmente outro fator, além do organotropismo, concorre para a freqüência da localização raqueana da brucelose, o fator mecânico da pressão exercida pelo pêso corporal sôbre a espinha dorsal. A hipótese é justificada pela predominância do ataque às vértebras lombo-sacras, que suportam maior pêso que as demais.

Outro detalhe interessante é a observação de que excepcionalmente só é atacada uma vértebra ou seu menisco. A bem dizer, regularmente são alteradas duas ou mais, ou mesmo determinada zona lombar, lombo-sacra, dorsal ou cervical.

Decorrem os sintomas da extensão do processo vertebral, perfazendo formas clínicas da espondilite.

ROGER & POURSINES distinguem formas clínicas, baseados nas alterações anatômicas verificadas radiologicamente: *pseudopótica*, descrita por MARTIN sob o nome de "Mal de Pott melitocócico", revelando lesões iniciais de pinçamento, ou de ajuntamento cuneiforme, quando a espondilite vai mais adiantada; *apofisite*, com lesões circunscritas às apófises espinhosas; *osteomielite*, com apagamento da imagem central das vértebras.

Na verdade essa distinção não é sustentável porque raramente o processo fica delimitado a esta ou aquela porção da vértebra, senão que parte de um ponto mais central ou medular ósseo e vai-se propagando à periferia, aos meniscos e às superfícies articulares, gerando as lesões

dos vários tipos acima descritos. Também uma diferenciação puramente clínica seria precária, porque uma forma de espondilite aguda frequentemente torna-se tórpida.

Uma lesão provocadora de dor contínua transmuda-se em subcontínua ou intermitente; uma outra, sintomática, pode restar exclusiva no sintoma dor, e assim por diante. Realmente, o que importa é a existência da lesão vertebral, ou seja da espondilite, e, uma vez esta verificada, diferenciá-la dos outros processos vertebrais, confundíveis com a espondilite bruceLOSE.

É raro que a espondilite compareça como lesão anatômica na bruceLOSE aguda, sendo essencialmente uma lesão da forma crônica e, como esta, possuindo igualmente, uma evolução crônica, durando meses, quando não anos a fio.

Contraopondo-se às lesões provocadas pelo germe, o organismo vai produzindo tecido ósseo de reparação, ambas entretanto, lesões e reparações, processando-se com extrema lentidão. A espondilite fica sendo eminentemente tórpida e prolongando-se no tempo.

A natureza do processo ósseo é característica, estabeleceu LOWBEER.

PURRIEL & Cols. já previram diferentes lesões na espondilite bruceLOSE, quando a designaram como *espondilose*, encampando a designação de MONTAGNE, e não espondilite, querendo significar natureza alterativa antes que destrutiva. MONTAGNE, chama de *espondilose* as lesões crônicas da bruceLOSE da coluna, diagnosticadas como reumatismo crônico das vértebras, e *espondilite* as inflamações subagudas da coluna, de ordinário específicas. Estas têm começo brusco, surgem no decorrer de doenças infectuosas ou das septicemias, evoluem rapidamente e tendem para a cura sem seqüela, sem consequência, respondendo bem ao tratamento ortopédico ou vacinoterápico. As mais comuns são as espondilites tíficas, bruceLOSEs e estafilocócicas. Localizam-se frequentemente na região sacra, apresentando sinais funcionais, particularmente dor e rigidez da coluna. Nos casos em que uma etiologia infecciosa não pode ser evidenciada, deve-se pensar na espondilite de crescimento de Poncet, a qual representa osteomielites larvadas, nas quais se incluem a epifisite, a apofisite vertebral dos adolescentes, as cifoses e cifo-escolioses dolorosas dos adolescentes, a osteomielite vertebral infantil de Calvet, tôdas afecções de etiologia obscura. Ao lado do processo destrutivo, assinalam êles, vêem-se processos regenerativos, geradores de exostoses, fusões, pinçamentos, visíveis radiologicamente ou nos exames necroscópicos, na eventualidade da morte.

A espondilose, segundo PURRIEL & Cols., resume-se em duas ordens de alterações. De um lado, alterações morfológicas nas vértebras, formadas sob a ação da pressão fisiológica, e de outro, num trabalho de condensação vicariante. Em qualquer dos casos há modificações radiológicas de aspecto e de forma. A aparência apagada da imagem radiológica significa rarefação; quando se intensifica, isto resulta da hipermineralização ou neoformação óssea, expressa em exostose dos vários tipos, referidos acima, mais acentuados sobretudo nos bordos e nos ângulos vertebrais.

Acreditam PURRIEL & Cols. na existência de processos de descalcificação, seguidos de condensação regenerativa compensatória, à vista dos aspectos radiológicos observados. A asserção implicaria na existência de perturbação, pelo menos local, do metabolismo do cálcio, levando a um trabalho de reconstrução óssea desordenada, de que resultam os aspectos radiológicos acima referidos, de espículas, fusão ou junção, condensação, esclerose, os quais asseguram elementos para diferenciação da tuberculose vertebral. Acentuam ainda aquêles investigadores que, na brucelose de origem caprina, as lesões ósseas apresentam maior tendência a processos destrutivos do que nas de origem bovina e suína.

*Sintomas* — O sinal predominante da espondilite a *dor* localizada na zona da coluna atacada, a qual é predominantemente lombar, lombo-sacra ou sacro-ilíaca. Inicia-se insidiosa, aumenta progressivamente, cada dia, embora pouco intensa e sem irradiação para o trajeto dos nervos. Algumas vêzes há propagação para a região glútea, para a inguinal ou para o trajeto do ciático, nos casos de espondilite baixa da coluna.

De ordinário, surda, apagada, persistente, pode tornar-se aguda, tebrante, sobrevindo por crises, alternadas com fases de silêncio. Via de regra, não responde aos sedativos habituais.

Embora muitas vêzes toleradas, não impedindo ou mal perturbando a marcha e as atividades do paciente, não são raros os casos em que as dores o obrigam a acamar-se, mantendo-se em decúbito dorsal para reduzir as trações, ou permanecendo sentado para diminuir, assim, a sensação dolorosa. Qualquer movimento de flexão lateral do tronco se acompanha de exacerbações dolorosas, até intoleráveis. A irritação das raízes nervosas se reflete nas massas musculares sacro-lombares, e então geram-se irradiações dolorosas para a região glútea, para as virilhas e no trajeto do nervo ciático. Resultam dolorosos os pontos de Valleix e a manobra de Laségue, mais acentuados em um dos lados, como consequência de uma radiculite, e expressa nas hipo-estesia e hipo-reflexia aquiliana monolaterais. Se mais extensas, as lesões nervosas levam à impotência parcial dos membros inferiores, com uma diminuição de capacidade motora que aparece e se intensifica no decorrer do tempo.

Como acontece de ordinário, as dores podem aumentar durante a noite, causando insônia, agitação noturna e esgotamento do paciente, embora nem sempre isto aconteça.

As dores não se mostram sempre permanentes, sucedendo desaparecerem de tempos em tempos. Alterações meteorológicas, esforços musculares, movimentos bruscos, marcha prolongada, posições incômodas, podem provocar crises ou recidivas dolorosas. Poucas vêzes apresentam qualquer relação com a extensão das lesões anatômicas, se bem que a compressão das raízes nervosas, em virtude da proliferação óssea, seja capaz de exacerbar as dores.

Para PURRIEL & Cols. não existe um quadro clínico característico da espondilite brucelosa, senão que esta se confunde com as demais espondilites produzidas por outras causas.

No estado ou fase aguda, observam-se raquialgias mais ou menos intensas, desacompanhadas de irradiações para o trajeto dos nervos, bem como de alteração nas massas musculares para-vertebrais. Formam elas ao lado dos outros sintomas da brucelose aguda.

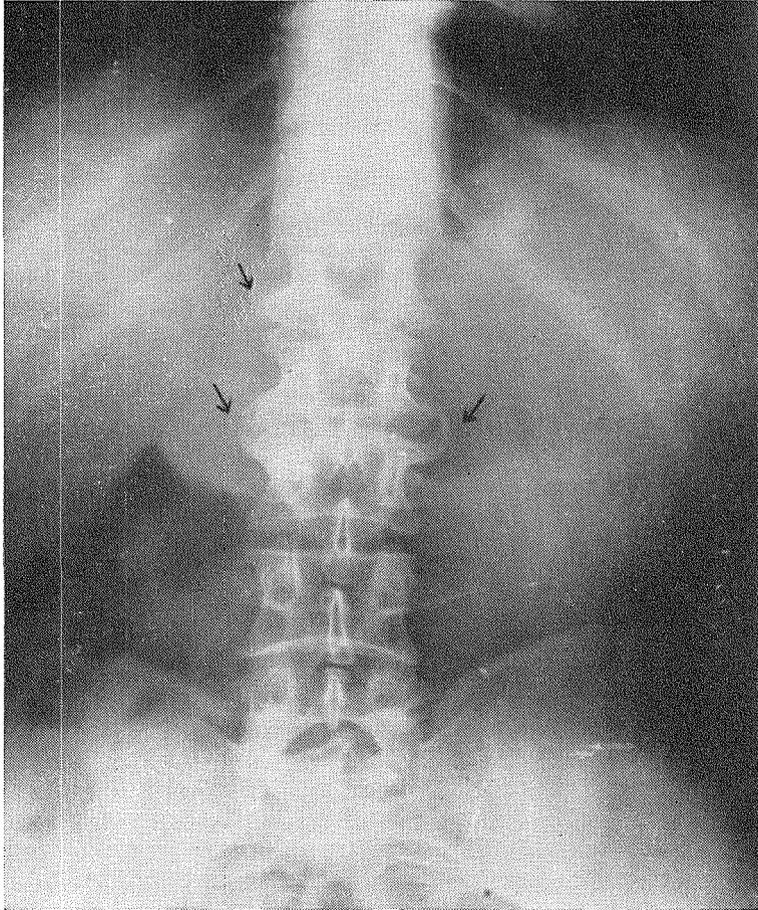


Fig. 111 — Espondilite brucelosa; lesões em bico de papagaio e pontes ósseas. Original.

Não existem alterações ósseas ou osteomusculares; tampouco observam-se contraturas, desvios ou limitação dos movimentos. Devem ser consideradas antes como o resultado de fluxões intervertebrais, ou consequência da localização das brucelas na medula dos ossos esponjosos, tal qual se observa nos processos infectuosos agudos causados por outros germes.

Sendo as espondilites componentes do complexo sintomático da fase aguda inicial, apagam-se com ela ou retornam mais tarde, sob outro aspecto, quando a doença evolui para o estado crônico. Por isso mesmo não são sempre fixas ou limitadas, comparecendo com dores ou sem

elas. Neste caso manifestam-se com outros sintomas, ou mesmo constituem o único predominante; podem, ainda, representar seqüela de um processo bruceloso já passado. Foi o que observou HERSON num paciente de 35 anos, que apresentara, 7 meses antes, dores nas cadeiras e forte astenia. Seus movimentos ficaram impossibilitados pela dor espinhal. Houve aumento da temperatura, com remissões matinais, durante 2 e 1/2 semanas, desaparecendo depois a febre, que tornou com o mesmo aspecto anterior, quando foi por êle visto.

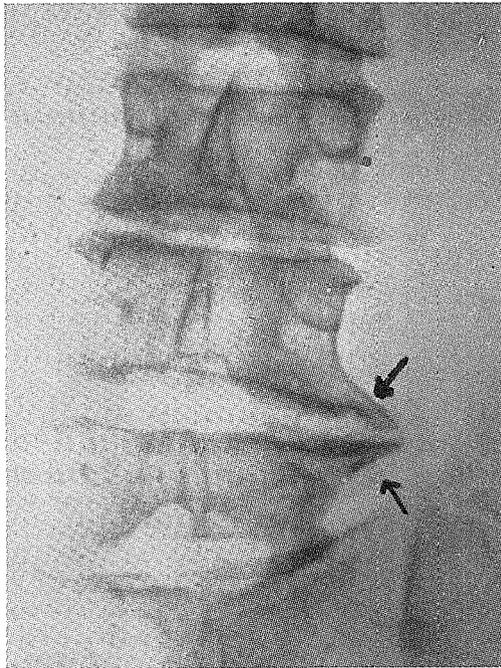


Fig. 112 — Espondilite brucelosa. Lesão em bico de papagaio e diminuição do espaço intervertebral. Segundo VILLAFANE-LASTRA.

Por fim, a espondilo-artrite vertebral anquilosante, do tipo Strümpell, é bastante freqüente. A radiografia da coluna revela lesões destrutivas na 4.<sup>a</sup> e 5.<sup>a</sup> vértebras lombares. O resto do esqueleto não mostra lesão alguma, radiologicamente.

A dor varia de intensidade com a sensibilidade ou com a reatividade do indivíduo, com a patogenia do germe e com o grau de lesão da coluna, isto é, lesões extensivas podem ser mais ou menos toleradas, enquanto as pequenas podem acompanhar-se de dores muito intensas.

Nesta fase crônica o que deve ser salientado é a localização fixa numa só, ou num grupo de vértebras ou segmento vertebral.

Outro aspecto significativo para o diagnóstico é a coexistência de um bom estado geral, juntamente com sintomas pouco intensos, febrí-

cula, suores e outros pequenos sinais, e até sem qualquer outro sintoma de doença.

Quase sempre a sensação dolorosa vai aumentando com o tempo, transformando-se de incômoda até atingir um grau impediendo aos movimentos da coluna, particularmente os de flexão, não permitindo,

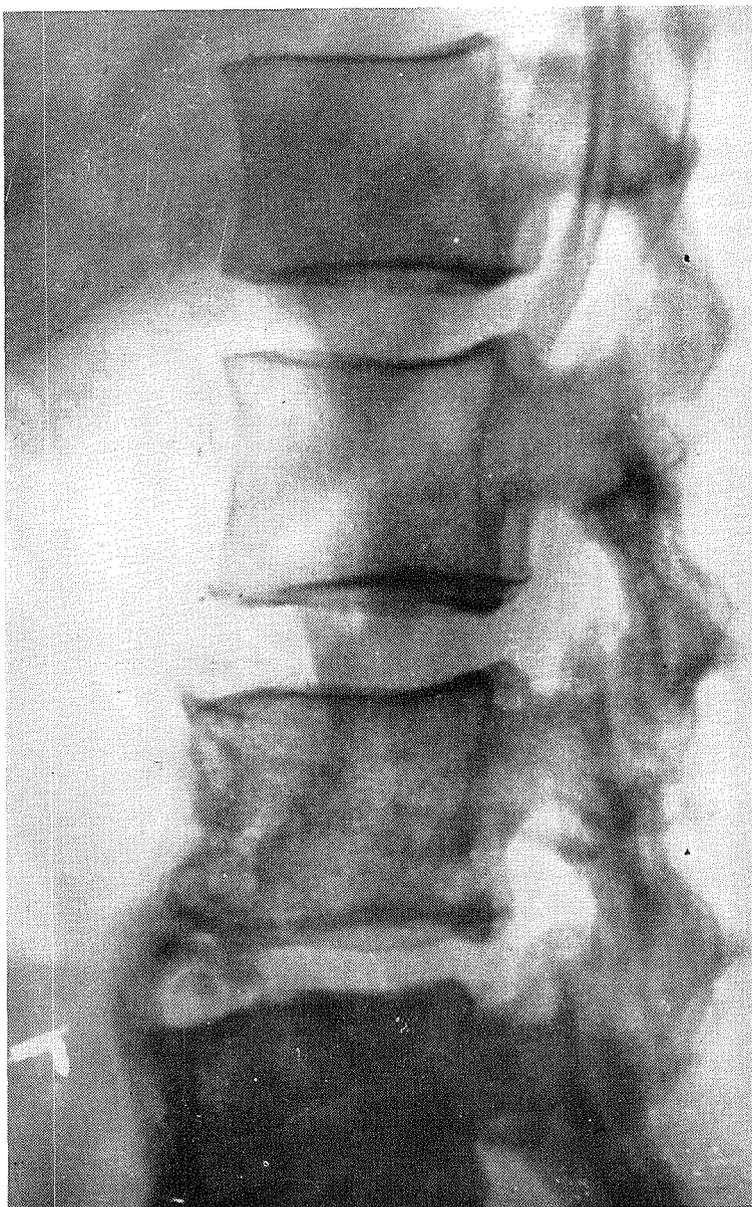


Fig. 113 — Espondilite brucelosa. Ponte óssea intervertebral. Gentileza de VILLAFANE-LASTRA.

por fim, as atividades do enfêrmo, obrigando algumas vêzes o uso de muletas.

Muito elucidativa para o diagnóstico clínico é a exacerbação dolorosa com os movimentos e a sua persistência com o repouso.

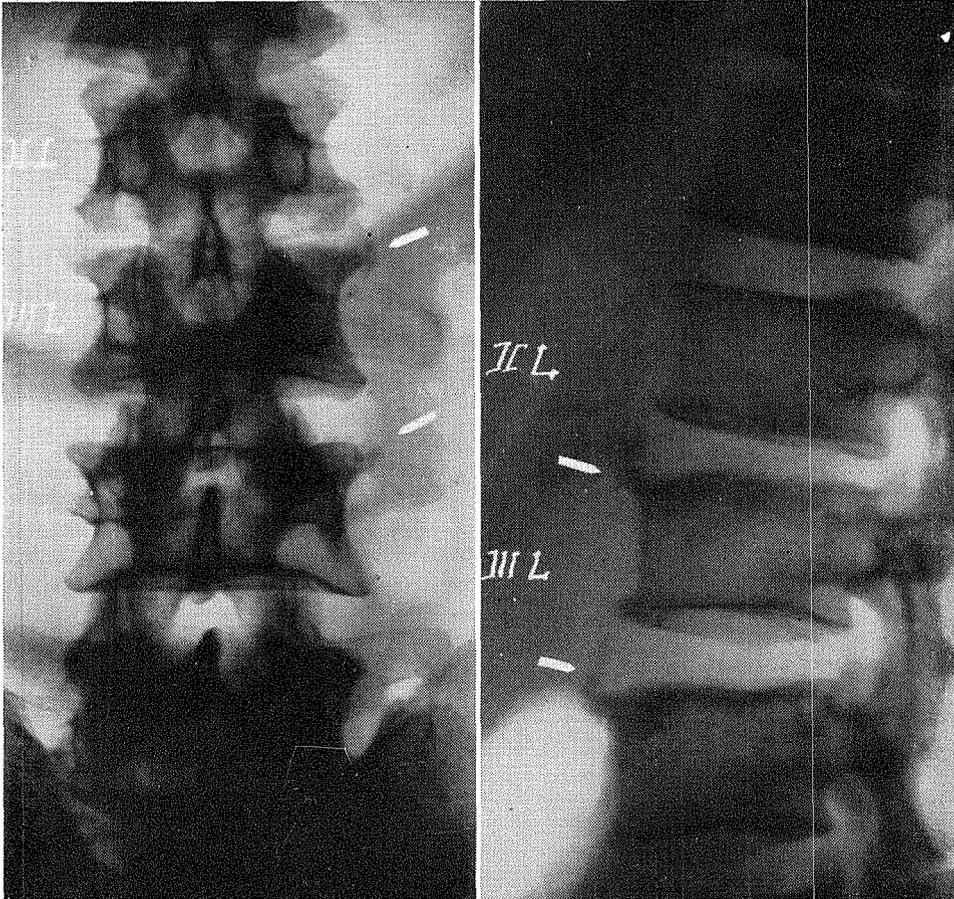


Fig. 114 — Espondilite brucelosa; lesões em bico de papagaio. Gentileza de VILLAFANE-LASTRA.

*Diagnóstico* — A existência de dores na espinha, particularmente nas cadeiras, que independem das conseqüentes à posição forçada por longo tempo, leva a pensar em espondilite. Acompanhadas ou precedidas de sintomas de brucelose, obrigam à hipótese de espondilite brucelosa.

Assinalamos acima que a dor não é característica na sua forma, no modo de aparecimento, na intensidade, na localização e na persistência, ficando sujeita a contingências e variações consideráveis. Mas uma dor intensa, ou apenas incômoda, com todos os graus intermediários, insensível aos entorpecentes, não apresentando irradiação persis-

tente no tempo, mantendo-se com o repouso, com ou sem alterações anatômicas da coluna e relacionável anamnesticamente à brucelose, obriga a pensar numa espondilite desta natureza.

Pelo exposto, está dito que um exame dos antecedentes recentes e passados da doença atual, com vistas a apurar a existência de um estado anterior, com possibilidades de contágio para brucelas, constitui um elemento fundamental no esclarecimento ou na orientação diagnóstica.

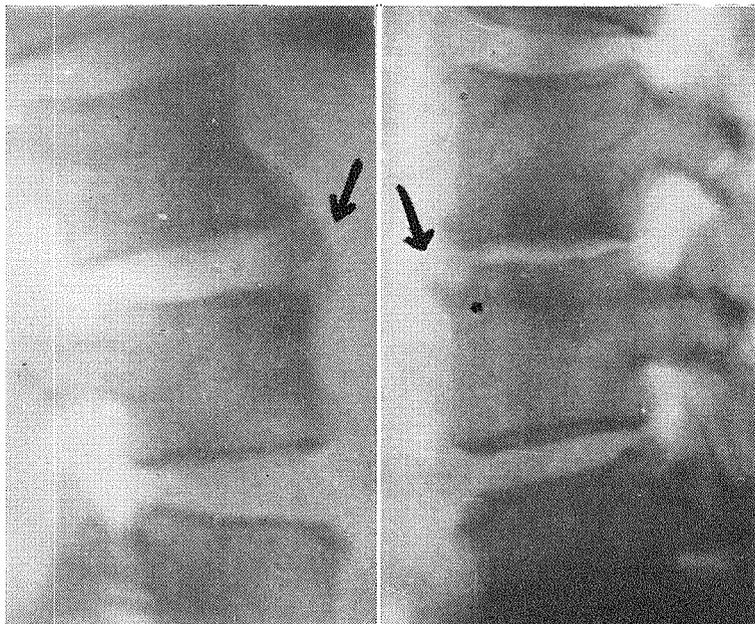


Fig. 115 — Espondilite brucelosa. Ponte óssea e rarefação óssea. Segundo PONS & VALENTÍ.

O exame somático para verificação de alterações anatômicas ou de órgãos abdominais, com reflexos na coluna vertebral, deve seguir a anamnese. Existindo uma lesão colunar (mesmo que não se encontre alteração anatômica) a percussão da raque, sobretudo uma pancada seca sobre ela ou no ombro, repercute no ponto lesado como uma sensação dolorosa mais ou menos perceptível e só nesse ponto. Nos casos mais avançados, ainda sem alterações anatômicas visíveis, pode haver contraturas, e o enfêrmo, na posição em pé, assume a postura reta dos manequins. A contratura pode ser dissimulada pelo paciente, podendo ser surpreendida forçando a flexão ou a rotação do tronco sobre a bacia.

Evidenciadas as lesões pelo exame clínico, levantada a suspeita pela anamnese e os sinais clínicos, impõem-se exames complementares diagnósticos: radiológicos e de laboratório.

Nenhuma dificuldade existe no diagnóstico, quando a espondilite em seu sinal predominante, a dor, circunscreve-se a certa zona da coluna, e aparece juntamente com outros sintomas ou no decorrer da

brucelose. Ressalvada a possibilidade de uma forma espinhal de outra doença intercorrente, a mais simples é a da localização vertebral das brucelas, observada numa frequência tão grande que dispensa hipótese menos corriqueira.

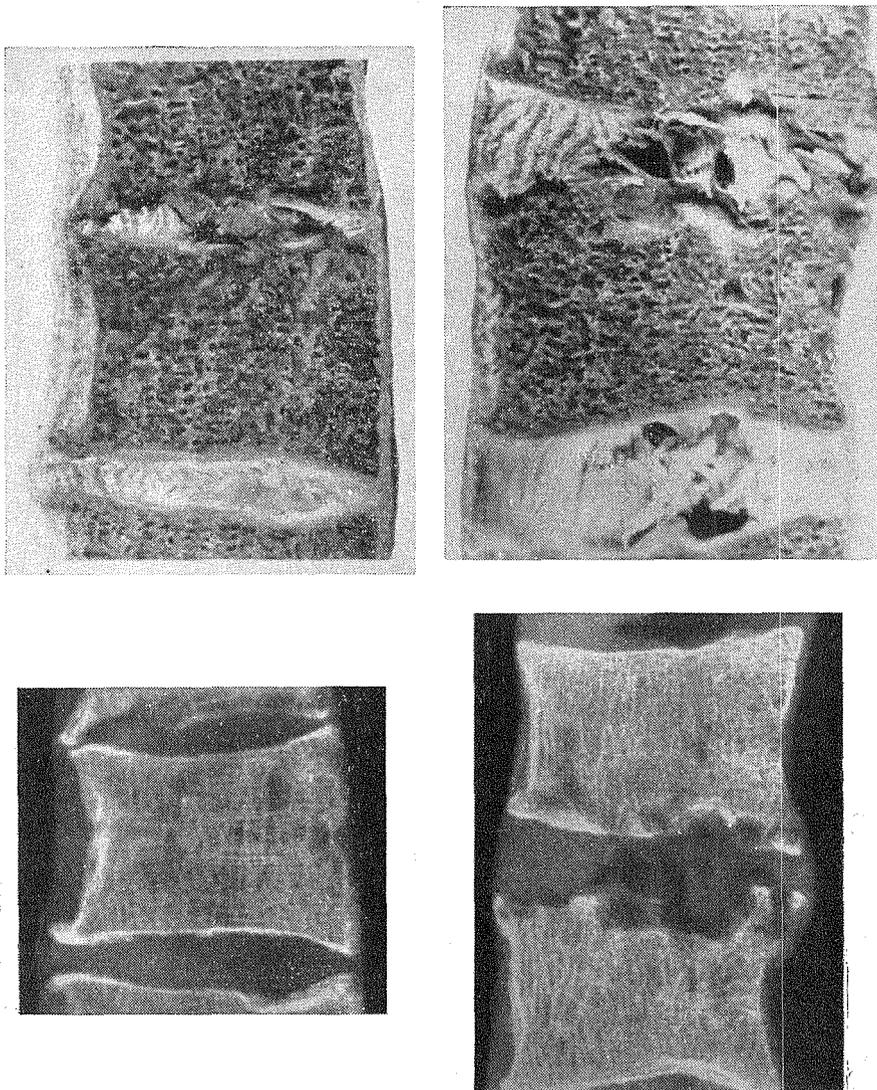


Fig. 116 — Espondilite brucelosa. Em cima: corte da coluna vertebral. Em baixo: radiografia dos mesmos segmentos da coluna vertebral. Segundo LOWBEER, em LÖFFLER & MORANI.

A dificuldade está no diagnóstico de brucelose apirética, nas afecções brucelosas inaparentes, e quando a dor é o sintoma único, não raro pouco intenso, tolerada pelo paciente nas crises seguidas de perío-

dos de repouso. Confunde-se com dores reumáticas e reumatóides, radiculites produzidas por localização de outros germes e infecções focais, podendo, ainda, simular reflexos de congestões e inflamações de órgãos abdominais, reflexos de obstipação, dores profissionais oriundas de posição forçada (dos jardineiros, escriturários) e outras. Casos dessa ordem foram verificados em nosso meio, por GOUVÊA.

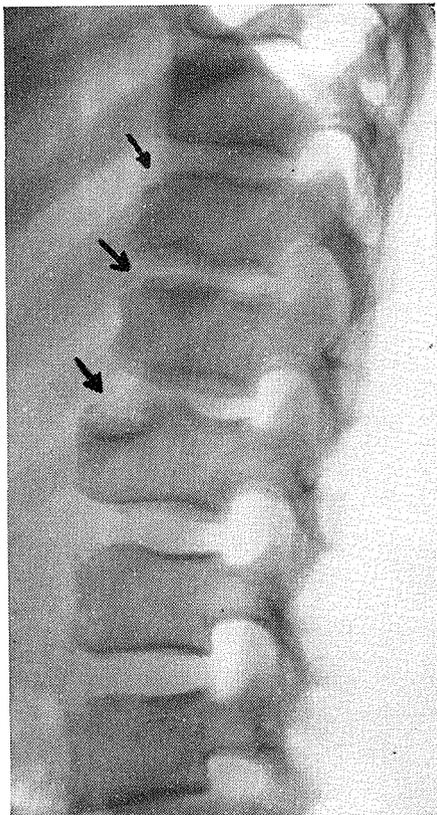


Fig. 117 — Espondilite brucelosa; lesões destrutivas dos corpos vertebrais. Gentileza de VILLAFANE-LASTRA.

Os exames complementares esclarecem a maioria dos casos de espondilite brucelosa, sobretudo porque as lesões são bem constituídas, quando se manifestam dolorosas, podendo a radiografia surpreendê-las perfeitamente. A impregnação do organismo com produtos brucelosos sensibiliza bastante para que as reações imunitárias mostrem-se suficientes ao diagnóstico. Raramente estas falham em tais condições, mas na contingência de dúvidas, a prova medicamentosa, por meio de vacinas ou antibióticos específicos, pode ser utilizada vantajosamente no diagnóstico, quando aplicada com proveito.

Havendo manifestações clínicas da coluna, ou radiologicamente verificadas, acompanhadas de sintomas medulares, ou dos nervos periféricos, impõe-se uma punção raqueana para esclarecer a existência de alterações meningo-medulares. O diagnóstico diferencial é essencialmente radiológico ou, pelo menos, com êste se consegue, algumas vêzes, afastar os processos patológicos vertebrais mais encontrados.

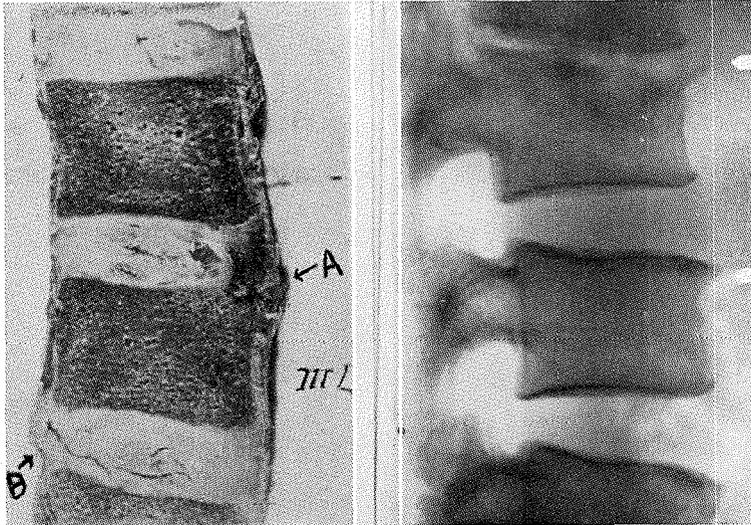


Fig. 118 — Espondilite brucelosa. A esquerda: destruição da parte anterior da 3.<sup>a</sup> vértebra lombar e da cartilagem intervertebral. Segundo VILLAFANE-LASTRA. À direita: rarefação óssea e lesão em bico de papagaio. Segundo DI RIENZO.

A doença de Pott, que é uma degeneração primitiva dos discos intervertebrais, provoca uma redução nos espaços intervertebrais, acompanhada de acentuada reação osteofítica marginal.

O mais importante é a distinção dos processos ósseos tuberculosos, que são os mais freqüentes na clínica. Ou melhor, eram, porque quando se apurar bem a etiologia desses processos ver-se-á quase certamente, tudo leva a crer, ser a brucelose a responsável por grande número deles. Um caráter é dominante na tuberculose óssea: o efeito destrutivo, de rarefação, desmineralizante, resultando na chamada cárie óssea.

Êste aspecto, que é regra na tuberculose, é exceção na brucelose, cujas lesões são predominantemente de tipo condensador, hipertrofiante. Tais diferenças são vistas nas radiografias. Completam-nas uma anamnese bem orientada, um exame clínico apurado, e provas diagnósticas de laboratório. Não esquecer nessas provas a pesquisa da alergia, que deve ser acompanhada da provocação de reações local, geral e focal, tôdas de grande significação diagnóstica para as duas doenças em suspeita. Isto é, a par da reação cutânea no sítio da inoculação, compa-

recem febre, moleza de corpo e reacendem-se as lesões do local afetado, ambas as reações coincidindo com a formação da congestão e edemas cutâneos.

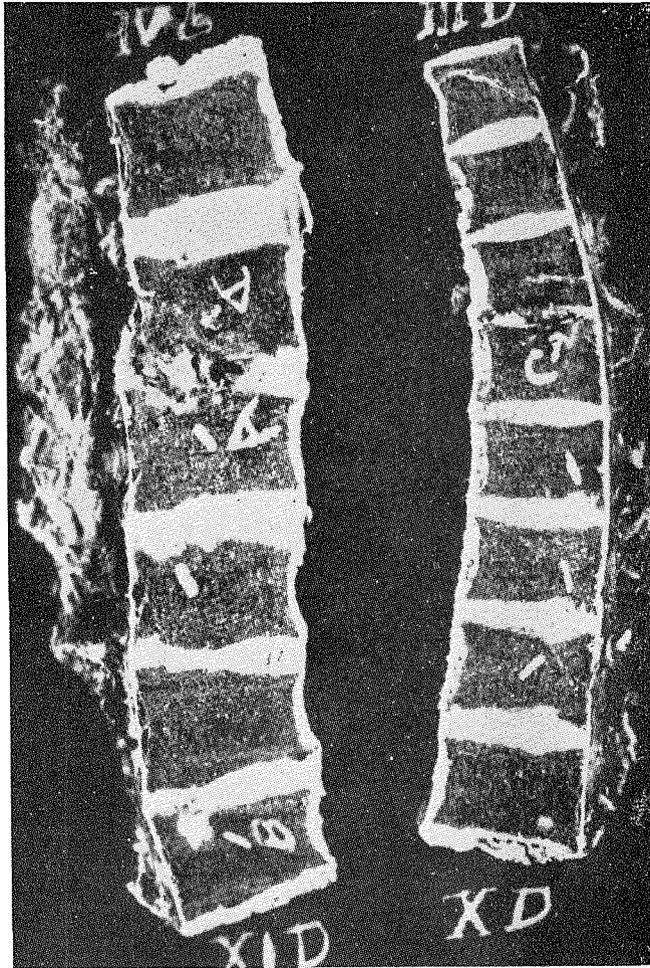


Fig. 119 — Espondilite brucelosa. A: espondilite; B: hérnia intra-esponjosa; C: destruição e alterações dos discos intervertebrais. Segundo VILLAFANE-LASTRA.

Bastante grande é a possibilidade de confusão nas duas doenças, brucelose e tuberculose, quando localizadas nos ossos: 1) Provocam lesões ósseas congestivas, inflamatórias, agudas, osteomielites crônicas ou osteoperiostites. 2) Caracterizam-nas o início brusco ou tórpido, a evolução prolongada ou inacabada; são dolorosas, ou indolores, desacompanhadas de reações locais, salvo em raros casos. 3) A lesão tuberculosa óssea acompanha-se de adenites regionais, que comparecem na brucelose sem êste caráter regional. 4) Ambas promovem estados gerais

idênticos, emaciação, anemia, aumento de temperatura, adinamia e outros sinais comuns.

A análise com os dados acima esclarece o diagnóstico que em casos mais difíceis é deslindado pela intervenção cirúrgica e com exame bacteriológico complementar, indispensável ao prognóstico.

Existe ainda a possibilidade, não excepcional, da coexistência dos dois males no mesmo doente, naturalmente um deles sendo responsável pela lesão óssea, dada a facilidade de contágio e a disseminação de ambos nas populações, hipótese a estar sempre presente em casos tais.

Na tuberculose vertebral ou mal de Pott, há rarefação do tecido, erosões ou destruição dos bordos vertebrais, pinçamento dos discos, ou seja, um processo predominantemente destrutivo, conseqüente à desmineralização dos tecidos ósseos. GUIBAL & MASS diferenciam a espondilite brucelosa da tuberculosa pelos seguintes caracteres: comêço insidioso, raramente súbito; não há deslocamento dos cartilagens vertebrais, como sucede na tuberculose; presença de osteófitos e hiperostoses unindo as vértebras e imobilizando-as, aspecto jamais observado na tuberculose, doença esta essencialmente ósseo-destrutiva (a tuberculose destrói ossos, não os fabrica, no seu dizer); ausência de osteoporose; recuperação ou cicatrização rápida, quando na tuberculose é lenta, demorando anos para se fazer.

Menos características são as lesões vertebrais do reumatismo crônico, em que se encontram alterações osteoporóticas com descalcificação dos corpos vertebrais, deformações com redução do corpo vertebral ou alteração do paralelismo dos seus bordos (resultantes de deformações mecânicas de postura), neoformações ou exuberâncias caracterizadas por galhos, esporões, bicos, pontes, redução dos meniscos.

Infelizmente, as imagens radiológicas não são sempre esquemáticas de modo a permitir uma distinção, mas as provas de laboratório trazem grande auxílio para reforçar o diagnóstico. No dizer de DI RIENZO não existe, mesmo, um quadro radiológico patognomônico da brucelose vertebral.

Uma prova tuberculínica como uma prova de alergia cutânea brucelosa, podem provocar uma reação intensa que em qualquer dos casos se acompanha, muitas vezes, de exacerbação das dores e das contraturas, expressivas de uma reação focal, e não raro, de manifestação geral, sobretudo febril. Isto é, se o paciente responder com forte reatividade tuberculínica e fraca ou nula ao alérgeno bruceloso, é mais provável tratar-se de mal de Pott. O contrário fala a favor de espondilite brucelosa. Sendo ambas as doenças muito disseminadas, ocorrem algumas vezes intensas reações aos dois antígenos, e neste caso a prova medicamentosa pode auxiliar o diagnóstico, com as melhores obtidas pela aplicação do tratamento antibruceloso específico.

Uma conseqüência também observada na espondilite brucelosa no correr da prova alérgica diagnóstica, ou depois dela, é uma melhora, às vezes espetacular, dos fenômenos dolorosos, que se apagam ou desaparecem, em vez de se exacerbarem, indicativa de uma reação favorável ao tratamento específico.

As espondilites sífilíticas, tíficas, por cocos piogênicos e outras, são esclarecidas numa anamnese e em provas diagnósticas de laboratório bem orientadas. Ademais, iniciam-se de modo brusco, no decurso ou na convalescença, particularmente, das septicêmicas, evoluem com rapidez para a supuração, ou regridem sem seqüelas.

De qualquer modo, o diagnóstico de espondilite resta muitas vezes como um problema que nem sempre a clínica, nas investigações mais apuradas, consegue resolver, ou fica em suspenso, sendo o médico forçado a esperar, ou a intervir cirurgicamente, para esclarecer. E como o diagnóstico é quase tudo para a cura, a afecção pode trazer ao clínico uma situação realmente embaraçosa.

A radiografia é um elemento valioso para o diagnóstico, revelando os mais diversos aspectos de lesões vertebrais (Figs. 111 a 118).

Pela sua importância devem ser tomados certos cuidados a fim de se obter uma boa radiografia, aconselha *DI RIENZO*. Para uniformizar a opacidade aos raios X carece esvaziar o conteúdo intestinal, inclusive de gases, porque podem produzir falsas imagens ou reduzir a sua nitidez. Um purgativo, administrado 10 horas antes, e a injeção, no momento do exame, cerca de meia hora antes, de uma ou duas empôlas de *Pitressin*, não havendo contra-indicações a estes cuidados, facilitam enormemente o exame radiológico. Nos casos de reação peritoneal, enterites, enterocolites, hipertensão, por exemplo, em que são contra-indicados, fazer o paciente respirar suavemente durante a radiografia.

As radiografias frontais são pouco elucidativas, preferindo-se as de perfil, e dos dois lados, direito e esquerdo. Em certos casos, como nas lesões sacro-ilíacas, a incidência deve ser oblíqua. Mesmo com estes cuidados, e apesar deles, não são raros os casos decritos, sobretudo na fase aguda, com sintomas clínicos acentuados e lesões bem avançadas (quando foi possível a verificação necroscópica, em hipótese de morte), sem que a radiografia tivesse trazido anteriormente qualquer auxílio, denunciando alterações vertebrais. São mais visíveis, radiologicamente, as lesões periféricas, restando as do corpo vertebral invisíveis, ou notadas apenas quando o processo se estendeu de modo considerável (Figs. 116, 117).

É comum observar-se, nas radiografias de espondilite da fase aguda, um agrupamento da imagem vertebral. Nos casos crônicos, entretanto, encontra-se mais vezes o oposto, a nitidez da imagem, que aparece acentuada. A diferença decorre, no primeiro caso, do estado congestivo inflamatório, com edema abundante, da fase septicêmica; no segundo, do estado osteoporótico, condensativo, da forma crônica.

As lesões anátomo-patológicas são descritas no capítulo da Patologia. À necrópsia podem ser observadas extensas alterações das vértebras ou dos discos (Figs. 116, 118, 119).

Enfim, o diagnóstico repousa na tríade: clínica, radiologia, laboratório. A clínica apura a possibilidade de contaminação pelo gênero de trabalho, contacto com animais, hábitos alimentares, sintomatologia; o exame radiológico verifica a existência de lesões, caracterizando-lhes o tipo e a extensão; o laboratório procura isolar o germe ou verificar seus efeitos no organismo, em provas de sensibilização alérgica de imunidade ou em provas sorológicas.

Um detalhe interessante, assinala DI RIENZO, é a possibilidade de exame radiológico demonstrar lesões suspeitas, não confirmadas pelas provas de laboratório, representando lesões cicatriciais de um processo curado ou tornado inativo.

*Tratamento* — Essa importante localização da brucelose, tão freqüente que inutiliza, ou pelo menos, perturba as atividades dos doentes, e mesmo as de pessoas que vão tolerando as suas dores lombares como podem, merece considerações sôbre seu tratamento, em separado do capítulo da terapêutica geral.

Na fase aguda a espondilite permite que se espere pelo seu desaparecimento com os outros sintomas da doença, o que de fato acontece. Sômente no caso de dores lancinantes ou insuportáveis, justifica-se a interferência do clínico. Trata-se, neste caso, de uma espondilite congestiva sintomática, quase sempre de natureza transitória.

Outro tanto não se dá com a espondilite da forma crônica a que chamamos *espondilite brucelosa vera*, cujos sintomas e lesões são progressivos e não raro perturbadores da estática e das atividades quotidianas. Esta forma é de regra muito rebelde ao tratamento.

Em qualquer delas, os entorpecentes de nada ou pouco valem, insensíveis ou pouco sensíveis que são a tais agentes terapêuticos. Tampouco são ativos os salicilados, os iodados e os revulsivos.

Algum proveito se obtém pela imobilização gessada.

Melhores resultados se conseguem com o método de Kettering, proposto por PRINKMAN, e que consiste na ionização por via retal, com outro electródio sôbre a região vertebral lesada.

A terapêutica pela hiperpirexia foi utilizada por PRINKMAN & Cols. e por CARPENTER & BOAK, opinando os primeiros que o método dá resultados mais favoráveis nos estados agudos e subagudos. SIMPSON, segundo HARRIS, aconselha seu emprêgo nos casos em que falha a vacinoterapia. PHALEN & Cols. empregaram o método de Kettering em 3 casos, na dose de 5 horas (com temperatura retal a 40°C (105 F)), repetida, passados 2 dias, com resultados favoráveis.

Diatermia em ondas curtas ou longas, 6 m, preconiza HARRIS.

Radioterapia, luz ultravioleta, têm sido aconselhados.

Muitas vêzes a vacinoterapia produz resultados espetaculares, doutras, melhorias progressivas, lentas; doutras, ainda, não têm nenhum efeito.

### *Localizações musculares*

A localização muscular das brucelas faz-se nas bainhas ou nas próprias fibras musculares, produzindo uma fibrose infecciosa, embora seja alteração raramente observada. De ordinário o ataque ao músculo é simultâneo ao do osso ou ao da articulação. As alterações musculares podem ser ainda expressão de reflexos de lesões ósteo-articulares.

Atrofias musculares assinalaram RAWAK & BRAUN.

## F — SISTEMA NERVOSO

Conforme salienta VALENTÍ, em sua monografia, que é a mais importante sôbre o assunto, as alterações do sistema nervoso foram vistas muito freqüentes na brucelose, desde EYRE, DURAN DE COTTES e outros, que mostraram a preponderância dos sintomas nervosos sôbre os demais. Assim, referiram êles a freqüência dos fenômenos dolorosos ou algias, cefaléia, raquialgias, insônia, delírio, astenia, suores, então admitidos como fenômenos tóxicos das brucelas sôbre o sistema nervoso. Nem sempre essas manifestações são puramente nervosas, podendo representar reflexos de estados congestivos ou inflamatórios de órgãos próximos ou distantes.

Certa importância apresenta o equilíbrio nervoso do paciente no decorrer da infecção ou antes dela, condicionando a instalação do processo neuropático. Assim é que durante a doença ou antes, muitas vêzes o paciente apresenta certa miopragia nervosa ou alterações indicativas de deficiência do sistema nervoso.

Uma certeza do comprometimento do sistema é fornecida pela anatomia patológica em casos de infecções experimentais realizadas exclusivamente com essa finalidade, como as de NUNNO e de PACHECO & Cols., vistas no capítulo da Patologia.

Coube a CANTALOUBE o mérito de haver chamado maior atenção para a freqüência das alterações nervosas na brucelose, com transtornos psíquicos, sensitivos, motores e tróficos. Tantas e tão comuns foram elas observadas nessa doença, que ROGER criou para designá-las o termo "neurobrucelose", largamente divulgado.

Precoces ou tardias, agudas ou crônicas, latentes ou manifestas, limitadas ou generalizadas, as neurobruceloses aparecem como síndromes centrais ou periféricas, porém quase sempre acompanhadas de reação meníngea. Esta, muitas vêzes, permanece latente ou insuspeitada, e não raro é por acaso que se faz verificada.

A existência da neurobrucelose como manifestação em geral tardia da doença apresenta analogias com a neurolues, comenta VALENTÍ, porque ambas dão preferência às meninges nas suas localizações nervosas, evoluem silenciosamente ou permanecem latentes longo tempo.

As neurobruceloses podem ser classificadas como precoces e tardias. Ambas não dependem da gravidade do caso porque pacientes apresentando infecções benignas ou mesmo inaparentes sofrem de neurobruceloses.

O sistema nervoso não sendo um tecido rico de anticorpos permitiria mais fãcilmente a implantação e a colonização de brucelas. Apesar disso o tecido nervoso não é muito propício à proliferação dos germes, resultando na relativa benignidade das neurobruceloses ou no seu prognóstico, quase sempre favorável. Todavia, não significa que as brucelas não se implantem nêle, determinando processos infecciosos limitados ou extensos, como realmente o fazem. Seja como fôr, opina VALENTÍ que o terreno condiciona de certo modo a erupção, em qualquer

tempo, da manifestação neurótica. Quase sempre, no passado do paciente, há referências a alterações neurológicas mais ou menos evidentes.

Podia-se imaginar que existissem tipos de brucelas neurotrópicas mas os dados epidemiológicos e experimentais não deram base para esta hipótese, acrescenta VALENTÍ. Acredita êle que a afinidade para as alterações nervosas dependa dos mesmos fatores que fazem predominar nos adultos a maior freqüência das neuropatias infecciosas em geral, talvez porque a maioria dos neurobrucelosos é observada nessa idade.

Particular interesse tem o *nervosismo ou irritabilidade* nervosa observada nos brucelosos. Há perda do humor, do equilíbrio nervoso, resultando em síndromes neurastênicas que atormentam o paciente até anos a fio. Muitas vezes fica sendo êsse o único sintoma, sobretudo nas infecções produzidas pela *Br. abortus*, a menos lesiva de tôdas e a mais promotora de doenças crônicas. É muito comum que o doente vá ao médico para queixar-se de esgotamento, irritabilidade, insônia, depressão e alterações do caráter.

A existência da neurastenia de origem brucelosa foi primeiro assinalada por ALICE EVANS e descrita como manifestação de brucelose crônica. Por qualquer motivo fútil o doente se irrita, emociona-se e torna-se colérico ou chora, até convulsivamente. Qualquer choque moral o abate e o angustia em excesso.

Alterações na afetividade são manifestações encontradas na brucelose. O paciente perde interesse pela vida e pelos circunstantes, recebe as graves notícias com indiferença, descuida de seus afazeres mais elementares, torna-se desleixado, tem movimentos tardios, dá aparência de desalentado, de inexpressivo, de sofredor, de indiferente. Arruína-se nos negócios e liquida-se moralmente. Nos lugares onde a brucelose é endêmica, grande número de indivíduos pode ser vítima dessa espécie de "mal secreto".

Os aspectos psiquiátricos da brucelose são bem examinados na monografia de HARRIS e nos recentes trabalhos de HARRIS & KEMPLE e JANBON & Cols., que tratam, respectivamente, das relações entre brucelose e psicose (com descrição de alguns casos), e da forma psicostênica da brucelose crônica.

As lesões podem ser distintas em: meníngeas, meningo-encefálicas, nevríticas. VALENTI prefere distribuí-las nas seguintes síndromes:

	meningite brucelosa pura
	meningite sintomática ou reações meníngeas
Síndromes meníngeas	a processos vertebrais
	meningite latente
	meningite associada a outras visceropatias
	meningo-encefalite difusa, aguda, psicótica
Síndromes encefálicas	vásculo-meningite encefálica angiospástica,
	subaguda-crônica
	síndromes encefálicas focais
	brucelose dos nervos cranianos

	meningiomielite dorso-lombar com paraplegia espástica, não compressiva
Síndromes medulares	mielite aguda, precoce mielite crônica, tardia meningiomielite compressiva aracnoidítica meningomielo-radiculite
Síndromes radiculares	meningo-radiculite meningo-radiculonevrite
Síndromes periféricas	nevrite circunscrita ou simples e ciática polinevrites algias

Faremos somente um resumo das principais síndromes ou localizações descritas por VALENTÍ, e ROGER & POURSINES, acrescentando outras observações.

A) *Localizações nas meninges* — Aparecem como meningite pura, ou por atingirem as brucelas o líquido secundariamente, como extensão de um processo medular ou como simples reação meníngea ou meningite serosa.

De ordinário, surgem os sintomas no decorrer da brucelose, mas podem aparecer até meses após a convalescença.

DOGLIANI fez, recentemente, a descrição dum caso de meningo-encefalite brucelosa, e aproveitou a oportunidade para uma revisão dos principais trabalhos sobre neurobrucelose. No caso descrito as alterações observadas clinicamente correspondiam a lesões estudadas após a morte do enfermo, as quais eram predominantemente de flogose com infiltrações linfomonocitárias nas meninges, nos vasos sanguíneos e nas raízes nervosas.

a) *As meningites puras* são relativamente raras. Apresentam o quadro clássico da meningite: cefaléia constante, em geral forte, difusa a toda a cabeça, na frente ou atrás. Vômitos do tipo nauseoso ou cerebral, obstipação, não raro fotofobia, raquialgia, às vezes perturbações psíquicas, até delírio; excepcionalmente, mioclonias, convulsões e tremores das extremidades.

Encontra-se na exploração clínica rigidez da nuca e do tronco, sinais de Kernig, Lasègue e Brudzinski presentes, raia meningítica, diminuição ou abolição de reflexos tendinosos, nos membros inferiores, às vezes, sinal de Babinski, bradicardia e diplopia transitória.

A temperatura nem sempre é elevada, mas a astenia é acentuada e podem ser presentes manifestações auditivas, como surdez parcial ou completa, zumbidos, vertigens labirínticas.

No líquido encontra-se aumento de pressão, algumas vezes xantocromia; não coagula com o repouso e raramente é turvo. Há, entretanto, hiperalbuminose, entre 1 a 1,5 g por mil, raramente mais, e tendência a dissociação albumino-citológica. Não há aumento de glicose e dos cloretos. Reações coloidais positivas.

Os elementos figurados poucas vezes são aumentados, entre 50 a 80, ou mais, por  $\text{mm}^3$ , com predominância dos linfócitos. Todavia, casos de reação purulenta ou hemorrágica têm sido assinalados.

De ordinário não se encontram brucelas no exame bacterioscópico mas a cultura, em meios apropriados, dá resultados positivos, salvo quando se trata de uma simples reação meníngea à infecção.

Pode-se tentar a líquido-aglutinação para brucelas, que resulta positiva, entre 1/16 a 1/640.

Aparecendo sinais meníngeos no decurso de uma brucelose não é difícil estabelecer a natureza brucelosa para êles. Mais difícil é o diagnóstico quando aparecem como únicos sintomas, ou no início da enfermidade ou como seqüela tardia. Nestes casos somente a cultura ou o aparecimento posterior de outros sintomas permitirão o diagnóstico. De ordinário há que afastar a sífilis, as meningites linfocíticas e a tuberculose.

b) *As meningites secundárias* representam propagação de processos cerebrais ou raqueanos, e são consideradas quase constantes nas alterações inflamatórias dos centros nervosos, mormente quando êstes se situam na periferia.

Melhor lhes cabem os termos meningo-encefalite, meningo-mielite e meningo-radiculite como querem ROGER & POURSINES. No dizer dêstes pesquisadores, toda encefalite brucelosa se acompanha de uma reação meníngea, podendo excetuar-se apenas aquêles casos de encefalite aparecida na fase aguda da infecção e que são mais de natureza tóxica que propriamente devidos à presença do germe.

Algumas vezes, a meningite secundária representa quase uma reação serosa. A reação meníngea tem sido encontrada muito freqüente na brucelose, mesmo sem sinais aparentes de ataque às meninges.

Noutras ocasiões, contudo, aparece como nítida manifestação inflamatória, com os caracteres sintomáticos e alterações no líquido, como acima. Assim, os doentes, além dos sintomas dependentes da localização nos centros nervosos, apresentam lombalgia, rigidez de nuca, Kernig positivo e cefaléia.

Adotando a orientação de ROGER & POURSINES, examinaremos os principais tipos de meningites secundárias.

*As meningo-encefalites* aparecem nos casos em que, após a cura clínica da brucelose, surge hemiestesia ou hemiparesia, no curso de um acesso delirante ou de síndrome cócleo labiríntica de origem central (quando muito, os pacientes apresentam ligeira cefaléia). Por ocasião das crises de espasmos vasculares, aparece diplopia.

A punção raqueana pode fornecer um líquido, denunciando reação meníngea intensa, com elevado número de elementos figurados ou pleocitose, predominância absoluta de linfócitos (até 90%) e baixo teor de albumina. Reações de Pandy, Takata-Ara e Lange positivas. Como sempre, não são vistas as brucelas, que aparecem nas culturas; a líquido-aglutinação é positiva.

As *meningo-mielites e meningo-radiculites* podem ser, como nas meningo-encefalites, puramente tóxicas, e resultar de alterações da medula e das raízes dos nervos medulares.

Os sintomas são análogos, em geral, aos da meningo-encefalite porém mais apagados — raquialgia, Kernig e Lasègue esboçados. A punção mostra bloqueio de Queckenstedt-Stookey, e xantocromia mais ou menos acentuada, hipercitose até de 300 células, com predominância de mononucleares, hiperalbuminose de 1-3 g ou acima, reações de Pandy, Takata-Ara e Lange positivas; de outras vezes, há dissociação albumino-citológica. A prova de cultura e a líquor-aglutinação com brucelas são positivas.

Caberia acrescentar aqui as reações *meníngeas* observadas nas espondilites. Na espondilite avançada, com destruição óssea acentuada, a reação meníngea é quase a regra; mas nas espondilites em geral é também freqüente se observar interêsse das meníngeas que, no pensar de ROGER & POURSINES, é mais de natureza irritativa.

B) *Localizações encefálicas* — Dois tipos de alterações ocorrem no encefalo: encefalites difusas e encefalites localizadas. Ao lado delas, distinguem ROGER & POURSINES espasmos vasculares e síndromes neuropsíquicas.

a) *Encefalite difusa* — Caracteriza a encefalite difusa a presença de perturbações psíquicas. Os doentes apresentam-se apáticos, abúlicos, dando respostas monossilábicas, chegando quase ao estupor, com intelecto obnubilado, desconhecimento do ambiente e das pessoas, manifestam desorientação mental. Amnésicos para fatos recentes, têm delírios oníricos, passivos ou ativos, com gestos desordenados e palavras sem sentido e são prêsas de grande agitação.

Outras vezes, desandam a cantar, chorar e gritar. Freqüentes são as alucinações de zoopsias, visões de todos os tipos, durante o estado de delírio.

Apesar do domínio das alterações psíquicas, notam-se tremores dos lábios e da língua, caretas, mioclonias nos membros, disartria. Cefaléia, dores erráticas ou difusas, relaxamento dos esfíncteres e soluços foram também assinalados.

Cefaléia, dores na nuca, vômitos e Kernig são explicados pela extensão às meninges e vistos anteriormente. Assim, o líquor é xantocrômico, de tensão aumentada e com hipercitose.

Catalogam ROGER & POURSINES vários tipos clínicos, segundo a predominância dos sintomas: delírio alucinativo, psicose do tipo depressivo, forma mioclônica, demência ou esquizofrenia, síndrome de Korsakoff. A maioria dessas alterações regride até completo desaparecimento.

Poderia incluir-se ainda a esclerose múltipla, que em certos casos foi atribuída à brucelose, nas observações de KYGER & HADEN, embora contestada por SPICKNALL & Cols. e EISELE & Cols.

Noutros casos, encontra-se um estado neurastênico, durável, ou psicose maníaco-depressiva, com idéias melancólicas, indiferença afetiva, escrúpulos religiosos, instabilidade, mania de perseguição, solilóquios,

idéias delirantes, podendo agravar-se em crises violentas de agitação ou estupor ou caminhar para o delírio tranqüilo. Tudo depende da extensão do processo e do terreno neurótico do paciente.

De outras vèzes, surgem na convalescença da brucelose perturbações psíquicas sob forma de prostração ou agitação delirante, com amnésia completa, meses após a cura clínica e com evolução fatal. Não raro, êstes casos têm diagnóstico de tumor cerebral e o exame necroscópico mostra a existência de encefalite difusa brucelosa. É o caso de um doente referido em ROGER & POURSINES: um açougueiro, passados 6 meses da convalescença de uma brucelose, apresentou sinais de meningo-radculite progressiva, com aumento cito-albuminoso no líquido e líquido-aglutinação com brucelas a 1/500. Ficou paraplégico e no 7.<sup>o</sup> mês apresentou agitação psicomotora, insônia, alucinações visuais, mania de grandeza. Êsse estado manteve-se por 4 meses, seguido duma queda orgânica, quando entrou em inconsciência relativa, apresentando contraturas nos membros. Sobrevieram alterações dos esfínteres e, finalmente, a morte, no 9.<sup>o</sup> mês após essas manifestações.

Pode também surgir uma meningo-encefalite curada, seguida de paraplegia, complicada de outros fenômenos, com evolução favorável ou não.

O prognóstico da encefalite difusa é variável. Quando aparece no início da brucelose, obtém-se regressão dos sintomas mais vèzes que no fim ou na convalescença, quando mais da metade dos casos evoluem para a morte. Seja como fôr, é sempre uma complicação grave da brucelose.

b) *Encefalite localizada* — Resulta de localizações parciais no encefalo.

Aparece sob forma de fenômenos transitórios de ordem motora, sensorial ou psíquica, ligados a espasmos vasculares de natureza inflamatória, particularmente das meninges. Ou então, permanentes, correspondendo a um foco de localização cerebral, e a sintomatologia vai depender da parte atingida.

No primeiro caso, isto é, nos espasmos vasculares, os fenômenos são mais de natureza irritativa e aparecem como hemiplegia, afasia passageira, contraturas transitórias, etc.

No segundo, podem observar-se: 1) hemiplegias e hemiparesias permanentes, aparecidas súbitamente ou pouco a pouco, correspondendo a lesão da zona rolândica ou capsular; 2) tremores de paramioclonias, dando uma síndrome parkinsoniana; 3) paralisias do tipo bulbar, sem perda de consciência, com taquicardia, pulso arritmico, dicrótico, respiração irregular, disfagia, soluços, sialorréia, vômitos, disфонia e, até, morte.

Relatam ROGER & POURSINES certo número de observações de *epilepsia* de origem brucelosa, de que distinguem 3 tipos: 1) crises de hemanestesia, com ou sem afasia, expressa em crises convulsivas dos membros correspondentes e devidas a espasmos vasculares; 2) crises convulsivas generalizadas, ocorridas nos acessos febris, no curso de um quadro de encefalite aguda, aparecida sob forma de acessos ou em “estado de

mal”; 3) epilepsia tardia ou ultratardia, não sendo fácil correlacioná-la à doença primitiva, não tendo sido observada epilepsia previamente. Revelam-se estas formas, muitas vezes, como simples ausências, amnésias ou convulsões. Na maioria dos casos, são conseqüentes a infecção focal que, na realidade, representa uma meningo-encefalite extinta.

Acentuam ROGER & POURSINES a necessidade de diferenciar os estados epilépticos e episódios convulsivos que podem aparentar “estado de mal” no curso da meningo-encefalite e depois dela. Dão um exemplo com a seguinte observação: paciente febril, com 40° de temperatura, cefaléia, raquialgia, tremores, apresentou, passados 5 dias, crises convulsivas subintrantes, em “estado de mal” e perda da consciência, durante 3 dias. Sobrevieram crises de alucinação e delírio, e confusão mental. Melhorou passados 14 dias mas persistiu estase parilar.

Outra observação é de JANBON & Cols.: garôto de 11 anos teve brucelose e quase um ano depois apresentou crise febril acompanhada de convulsão e disartria, hemiparestesia, tendo-se restabelecido; passados 4 meses, teve crise de vômitos e, após 6 meses, apresentou, de súbito, atetose, hemiparesia e Babinski bilateral, líquor com reação inflamatória; cura.

C) *Localizações medulares* — A localização medular promove uma série de sintomas decorrentes da extensão do processo e da zona atingida. Distinguem ROGER & POURSINES mielites agudas, precoces, e mielites tardias, aparecidas, muitas vezes, na convalescença. Em qualquer caso, o doente apresenta dores na coluna, irradiando-se para os membros, perturbações motoras até paralisias do tipo espástico, predominantemente. As contraturas dificultam ou impedem a marcha; há exageros de reflexos tendinosos; sinais de Babinski, Mendel-Becheterew, Oppenheim, Gordon e Schäffer presentes; exagêro dos reflexos de defesa, abolição dos reflexos cutâneos, cremasterinos e abdominais. Anestesia parcial ou total dos membros e do tronco, até próximo do umbigo. A raque é indolor à percussão; há disúria e obstipação. Evolução variável no sentido de paralisia total e definitiva, ou de paralisia regressiva, completa ou parcial.

Há formas atenuadas, limitadas a dores raqueanas, que se irradiam para os membros, e formigamento das extremidades; paresia apenas esboçada, sem alterações dos esfínteres.

Relata PURG 10 casos de mielite brucelosa, dos quais destaca três observações:

1) Um doente após uma brucelose banal havia 7 meses, apresentou dores lombares fortes, com irradiação para a cintura e para os membros inferiores. Impotência muscular na metade inferior do corpo e perturbações esfínterianas. Babinski bilateral, diminuição dos reflexos cutâneos e abdominais, diminuição da sensibilidade nos membros inferiores. Hiperalbuminose do líquor, com 60 leucócitos por mm<sup>3</sup>. Passados 6 meses, restabelecera-se, porém a marcha ainda lhe provocava dores lombares e nos membros inferiores; por fim, sarou de todo.

2) Durante uma forma grave de brucelose, com alterações gastrointestinais e hepáticas, diarreia profusa, enterorragias, um doente apre-

sentou gangrena sêca da face, que curou. A seguir, apareceu-lhe uma paraplegia dolorosa conseqüente a mielite, que acabou matando-o.

3) Após uma brucelose sudorálgica, instalou-se num enfêrmo uma paraplegia sensitivo-motora, dores lombares com irradiação para a cintura, seguidas de impotência progressiva dos membros inferiores e perturbações esfinterianas. Babinski bilateral, impotência genital, perturbações da sensibilidade, pneumatose abdominal. A punção raqueana revelou bloqueio do canal.

O quadro clínico da mielite brucelosa é o de uma paraplegia sensitivo-motora mas a persistência e as exacerbações dolorosas ao longo do trajeto dos nervos são, até certo ponto, uma característica dessa localização. As perturbações esfinterianas dão o sinal da gravidade, e o prognóstico, quando regridem.

Parece haver uma tendência para localizações lombares da brucelose medular, tal qual sucede em outras infecções, como na sífilis, por exemplo.

Freqüentemente, o prognóstico é reservado porque muitas vêzes termina pela morte, sobretudo quando surgem outras complicações.

Nas mielites puras, o líquido não é alterado, o que se verifica quando a meninge é interessada. Neste caso, há hiperalbuminose sem aumento celular correspondente obrigatório.

O diagnóstico é feito pela sintomatologia e pelos exames funcionais.

Quase sempre, a mielite é extensiva às meninges. Então, o quadro fica mais sombrio, porque à mielite se ajuntam sintomas meningíticos. Conforme essa localização associada, a meningo-mielite pode ser predominantemente dorso-lombar ou cervical, com tendência a contraturas e fenômenos sensitivos. Também se pode observar quadriplegia, quando há localização medular alta.

Finalmente, a mielite pode resultar de compressão medular. Neste caso, haverá bloqueio em algum ponto do canal e o líquido retirado pela punção lombar se apresenta normal, estando retido nos espaços subaracnóides espinhais, acima da região lombar. A prova do lipíodol mostra retenção no ponto em que a medula está comprimida (Fig. 120).

D) *Localizações nos nervos — Radículo-nevrites e polinevrites* — Ao contrário das alterações desses segmentos do sistema nervoso provocadas por outras causas, que se instalam quase de repente, na brucelose, elas iniciam-se lenta e progressivamente. A dificuldade está em situar a lesão, porque muitas vêzes os sintomas indicam participação de mais de um segmento nervoso alterado pelas brucelas.

Não raro será preciso esperar a evolução do caso, para excluir as partes não atingidas, sobretudo porque as meninges com freqüência participam do processo patológico nervoso.

Em muitos casos de neuropatias brucelosas, é possível uma individualização clínica da lesão. Assim, podem ser observadas as seguintes:

1) *Meningo-radículo-nevrite lombar* — Bom exemplo é o de PУЕЧН & Cols., referido em ROGER & POURSINES: o paciente apresentava dores

lombares durante uma ciática esquerda e certa paresia das pernas. Passado um mês desse estado, havia paralisia total, abolição dos reflexos tendinosos, aquileanos, rotuleanos e cremasterinos, conservando-se os abdominais e os médio-púbicos, ligeira atrofia dos maléolos, esfínteres normais, anestesia ausente. O líquido da punção occipital era quase normal; bloqueio do lipiodol na 1.<sup>a</sup> vértebra lombar.

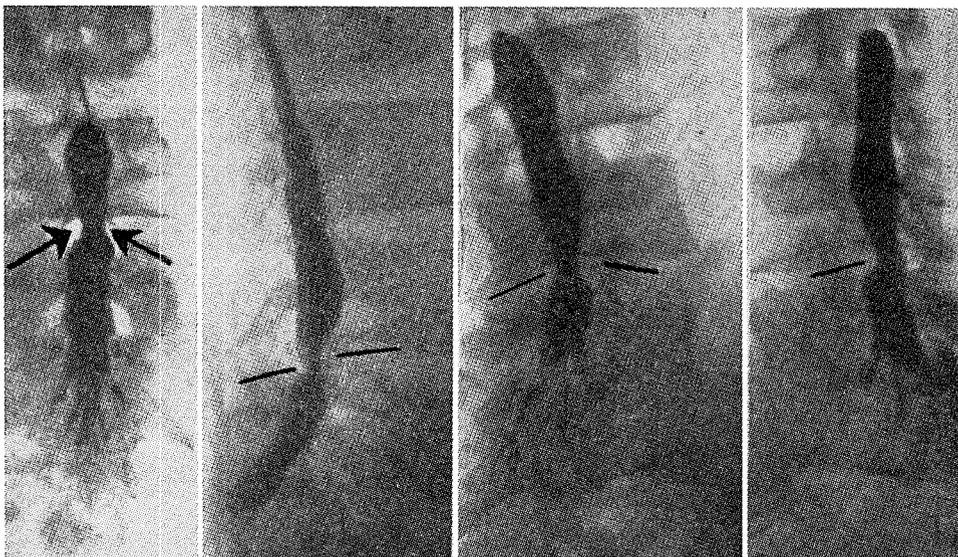


Fig. 120 — Radiografia do canal raqueano; prova com lipiodol mostrando imagem em forma de ampulheta na altura do disco entre a 4.<sup>a</sup> e a 5.<sup>a</sup> vértebras lombares. Segundo VILLAFANE-LASTRA & Cols.

2) *Radículo-nevrites* — Atacando um só grupo de nervos, estas lesões promovem dores associadas ou não a fenômenos meníngeos.

Não há suficientes dados anatômicos sobre as lesões das raízes nervosas mas as observações clínicas justificam plenamente sua existência. Elas são de vários tipos: sensitivas, motoras ou associadas.

ROGER & POURSINES referem uma observação do 1.<sup>o</sup> tipo, dentre outras: um médico com brucelose apresentou, desde o início, dores intensas nos membros inferiores, sobrevindas à noite, que duraram todo o tempo da doença. Na convalescença, notou uma paraplegia flácida, com atrofia muscular e anestesia. Regressão lenta prolongada por meses.

Outra observação é de perturbações motoras: um paciente apresentou na convalescença de uma brucelose, que durou 80 dias, fraqueza nas pernas, impossibilitando a marcha e obrigando a permanecer acamado. Alterações de reflexos permitiram o diagnóstico de pseudo-tabes polinevrítica.

Além das formas puramente sensitivas, ainda existem outras, com perturbações psíquicas associadas.

Em geral, predominam as formas motoras, com paresias ou paralisias, acrescidas de dores mais ou menos fortes e sensação de formigamento ou queimadura.

Reações de hiper-excitabilidade com R.D. parcial ou total. Raramente alterações tróficas.

Prognóstico em geral favorável.

3) *Nevrites* — Podem localizar-se nos nervos dos membros superiores, como no radial e no circunflexo, mas predominam as dos membros inferiores, particularmente no ciático, a mais freqüente de tôdas. CANTALOUBE encontrou-as 25 vêzes em 152 casos, além de nevralgias dos membros inferiores em 26 outros.

Resulta a ciática de uma complicação precoce ou tardia da brucelose. A ciática brucelosa pode evoluir para a cura rápida, mas de ordinário permanece meses, até anos. Caracteriza-se por fortes dores, não raro insuportáveis ao paciente, acompanhadas de sensação de picadas, queimaduras, pêso no membro correspondente. Localizada na coxa ou nádega, a dor irradia-se para a parte posterior da coxa, seguindo o ciático popliteu externo, ou interno, atingindo a face externa dorsal ou a planta do pé. Muitas vêzes, os doentes se queixam de dores na região lombo-sacra ou lombar.

Dos pontos dolorosos à pressão predominam o glúteo, o lombar e o sacro-iliaco. A distensão do nervo provoca vivo reflexo doloroso, bem como às manobras de Lasègue e de Burnet. Na brucelose, a ciática bilateral é mais freqüente que a unilateral.

---

## G — PELE E ANEXOS

As alterações cutâneas na brucelose são bastante comuns. No dizer de DESMONTS, que tem numerosas observações a respeito, muitas vêzes elas ocupam o primeiro plano na sintomatologia da doença.

As primeiras manifestações cutâneas da brucelose conhecidas foram as observadas nos veterinários, e conseqüentes a intervenções obstétricas em vacas infectadas, desde que os profissionais trabalhassem com as mãos não protegidas por luvas. Aparecem cêrca de 20 minutos após o contacto das mãos com a placenta infectada e são constituídas por exantemas ou erupções maculosas, de coloração rósea, localizadas preferencialmente no dorso das mãos e dos braços e indicativas da penetração do germe através da pele. Pouco tempo duram essas eflorações cutâneas, logo desaparecem, sem deixar traços, seguidas, comumente, de sintomas gerais da infecção. Representam exantema de penetração ou pré-infeccioso, e teriam a mesma significação do cancro inicial de várias doenças infecto-contagiosas como a sífilis e a tuberculose.

De outras vêzes, apresenta-se a dematobrucelose como lesões bolhosas (Fig. 121), e até hemorrágicas, com a presença das brucelas no líquido da lesão. Um de nós (G.P.) descreveu um caso, que denominou

“pênfigo bruceloso” no qual as lesões bolhosas se renovaram durante anos (Fig. 122).

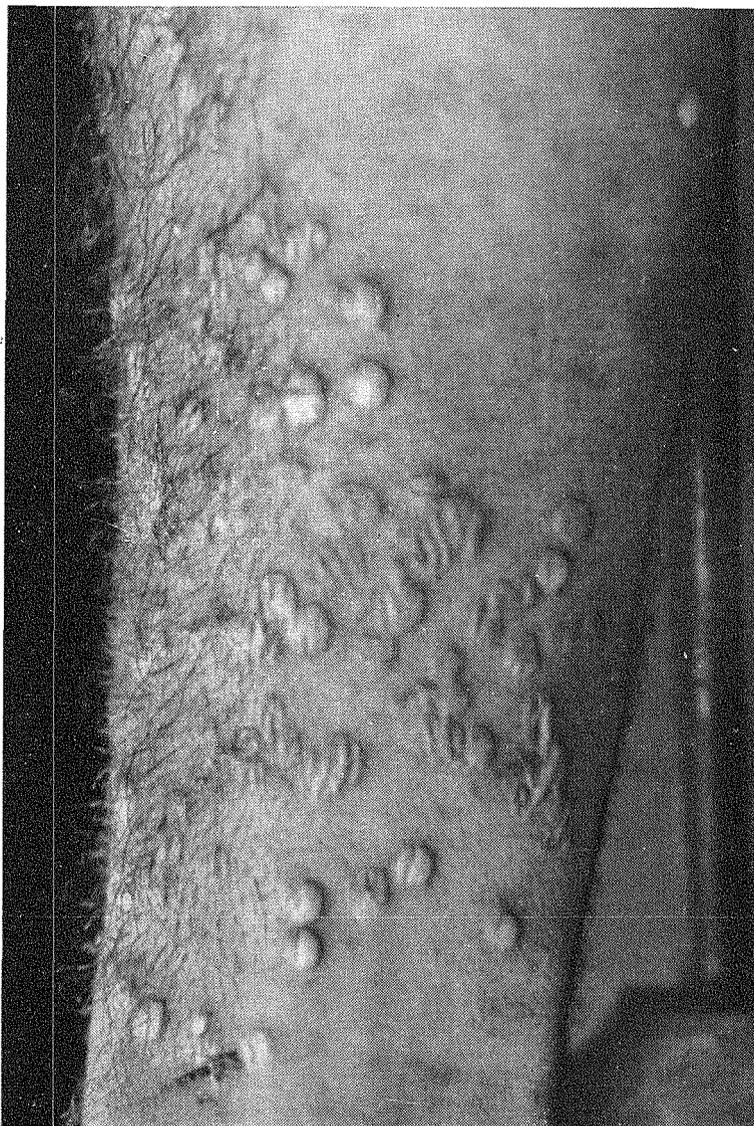


Fig. 121 — Lesões cutâneas de brucelose; exantema bolhoso inicial. Original.

Em geral, as bolhas são de curta duração, desaparecendo em poucos dias, ou podem permanecer mais tempo, durante dias ou semanas, e deixam ou não, como seqüelas, pequenas crostas, pigmentadas, persistentes (Figs. 122, 123). HAXTHAUSEN & THOMSEN descreveram lesões

bolhosas em veterinário (Fig. 124), seguidas de crostas com aspecto liquenóide (Fig. 125). Na iconografia dermatológica editada por NÉKÁM, relativa ao Congresso Internacional de Dermatologia realizado em Budapest, em 1935, encontram-se duas fotografias que revelam a extensão e a gravidade que pode tomar essa modalidade de brucelose cutânea (Fig. 126).

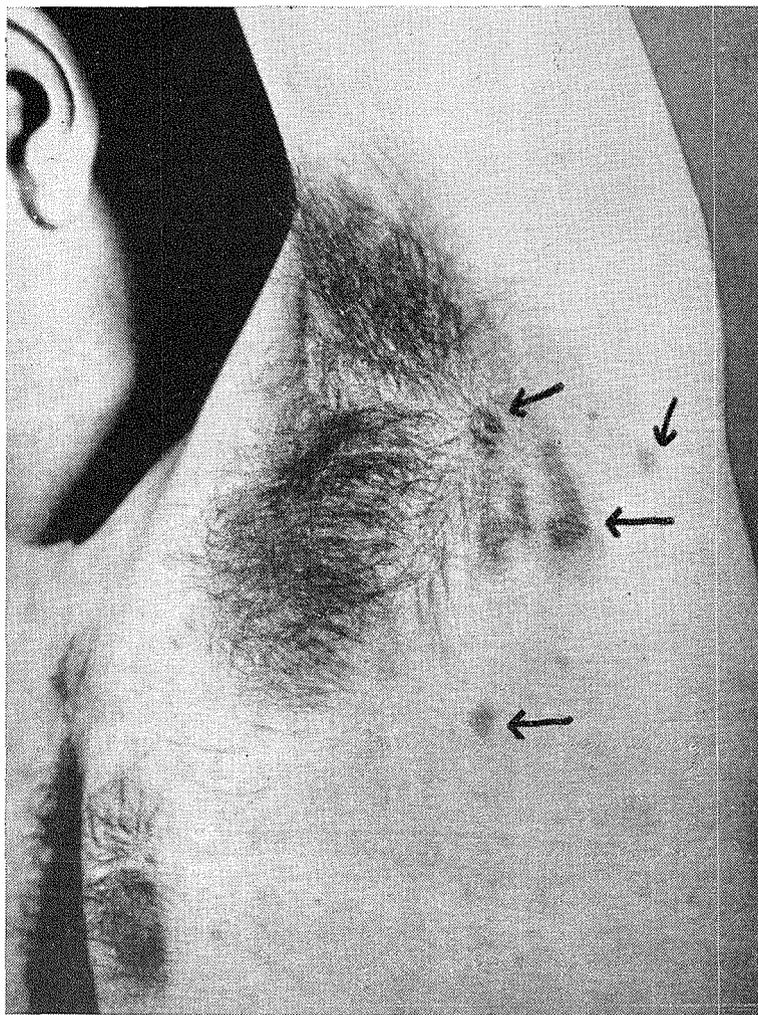


Fig. 122 — Lesões vesiculocrostosas num caso de pênfigo bruceloso. Segundo PACHECO.

Independentes destas, há outras alterações cutâneas, numa frequência que HARRIS computou em cerca de 10% em 247 doentes por êle observados, e em 90 outros, observados por SIMPSON. Algumas vêzes, o aparecimento dessas alterações está correlacionado à recorrência dos sin-

tomas, surgindo em ondas, como êles; outras, independem dos mesmos e permanecem longo tempo, ou desaparecem por si.

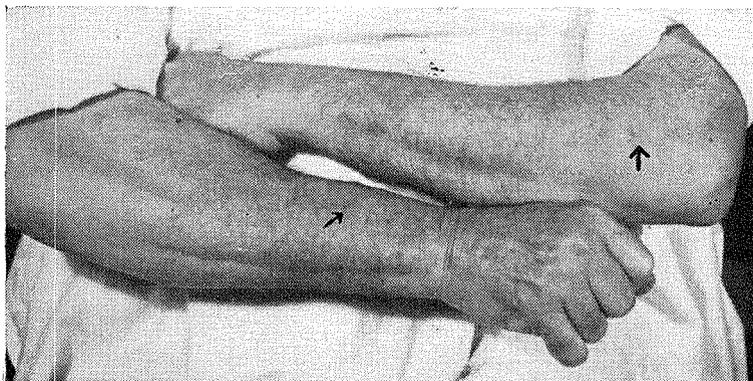


Fig. 123 — Dermatobrucelose; vestígios de lesões nos antebraços. Original.

HARRIS classificou-as em 11 grupos:

1) Máculas róseas ou rubras, dispersas, pruriginosas, localizadas preferencialmente na testa, nas têmporas e nas bochechas, ocasionalmente nos braços e no tronco, lembrando a escabiose;

2) erupções máculo-papulosas, arranjadas em grupos, ou dispersas sem ordem e localização, de côr vermelho-alaranjada, às vêzes com centro vesiculoso, aparentando picadas de insetos;

3) exantema erisipelóide, como manchas contínuas localizadas de ordinário nos membros, dolorosas, flácidas à palpação, acompanhadas de sintomas gerais, principalmente elevação da temperatura;

4) manchas erisipelatóides múltiplas, juntamente a nódulos hipodérmicos, cianóticas, sem brilho, análogas ao eritema nodoso;

5) *rash* eritematoso difuso, cobrindo vastas áreas ou todo o corpo, inclusive as mucosas, acompanhado de sintomas gerais, febre alta, prostração, lembrando escarlatina;

6) lesões escamosas, vermelho-castanho, pruriginosas, localizadas nos braços e punhos, aparentando psoríase;

7) pequenas lesões ulcerosas ou úlcero-crostosas, localizadas nos membros, parecendo impetigo;

8) manchas róseas, circinadas, escamosas, lembrando ptíriase róseo;

9) dermatite por contacto, maculosa, máculo-papulosa ou pustulosa;

10) dermatite ulcerativa;

11) lesões eczematosas.

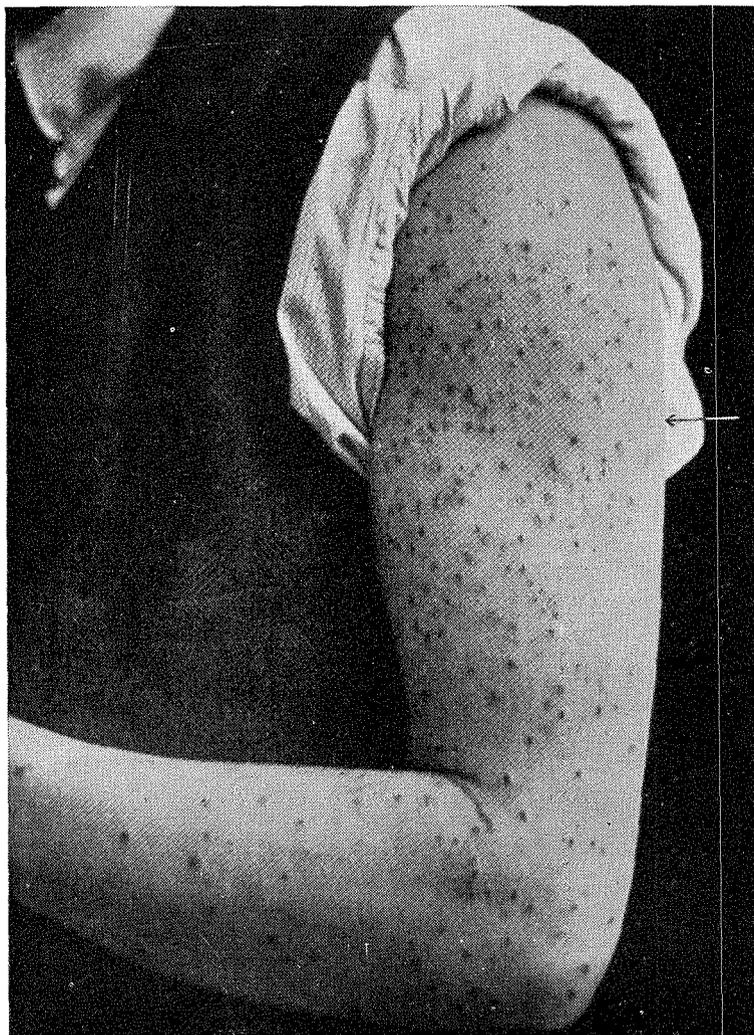


Fig. 124 — Lesões cutâneas da brucelose. Segundo HAXTHAUSEN & THOMSEN.

Mais completa é a classificação de PIULACHS & VIDAL-BARRAQUER, baseada nessa de HARRIS. Distinguem 15 tipos aos quais acrescentamos diversos outros, colhidos na literatura (DESMONTS; HARRIS; SIGNORELLI).

- 1 — Erupção maculosa fina (SIMPSON; HUGHES)
- 2 — Erupções papulosas ou máculo-papulosas (LEVINE & COLS.; SHARP)
- 3 — Lesões de tipo erisipelatoso
- 4 — Placas múltiplas dolorosas, com nódulos hipodérmicos
- 5 — "Rash" eritematoso difuso
- 6 — Lesões de tipo psoriasiforme

- 7 — Lesões de tipo impetiginoso (PICARD)
- 8 — Lesões escamosas
- 9 — Lesões purpúricas sob forma de erupção papulosa hemorrágica (PONS & VALENTÍ)
- 10 — Dermatose por contacto (HUDDLESON & JOHNSON; HAXTHAUSEN & THOMSEN; WEBER)
- 11 — Dermatite ulcerativa (FLANCHIK & FREYFELD; ZEMAN)
- 12 — Lesões eczematosas (HARRIS)
- 13 — Escara da artéria facial (MICHEL-BÉCHET)
- 14 — Edema (HUGHES; HARRIS)
- 15 — Úlcera arterial típica precedida de manchas de coloração vermelho-violácea e escara (PIULACHS & VIDAL-BARRAQUER)
- 16 — Pênfigo bruceloso (PACHECO)
- 17 — Escrófula brucelosa (PACHECO)
- 18 — Pigmentação cutânea semelhante à do mal de Addison (SAUGAS; VEDEL & COLS.; TOVAR MANCERA; DESMONTS)
- 19 — Dermite eritemato-escamosa (DESMONTS & LIEB; DESMONTS & COLS.)
- 20 — Foto-sensibilização pela aureomicina (DESMONTS & COLS.)

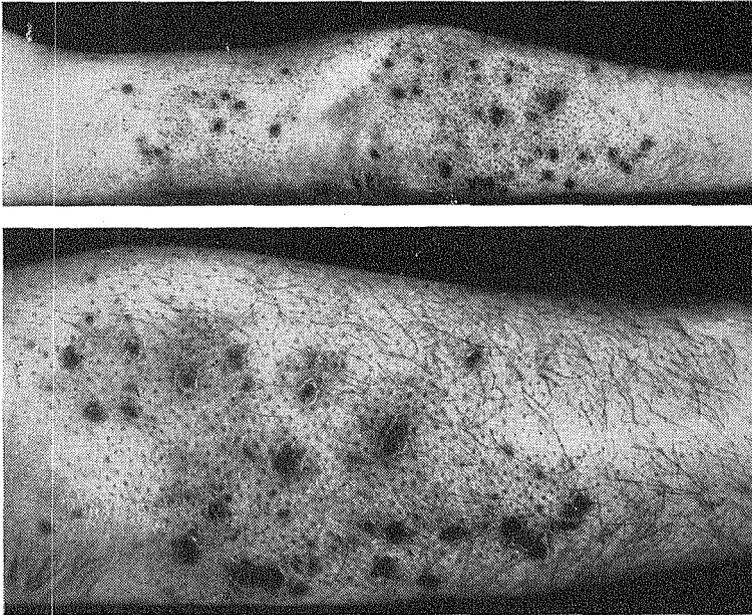
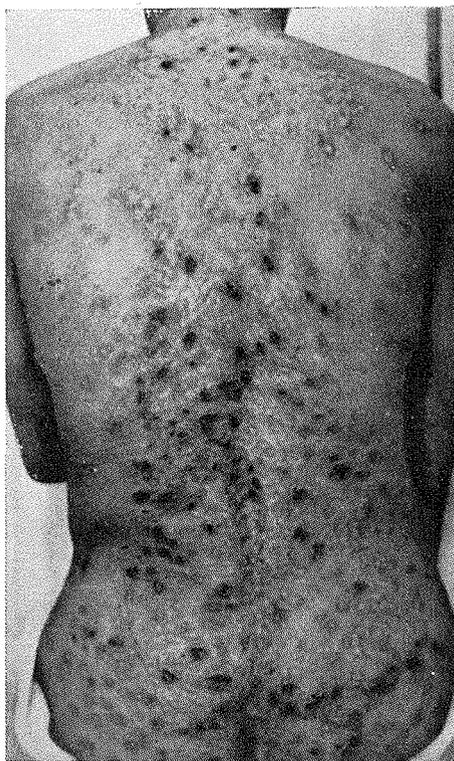
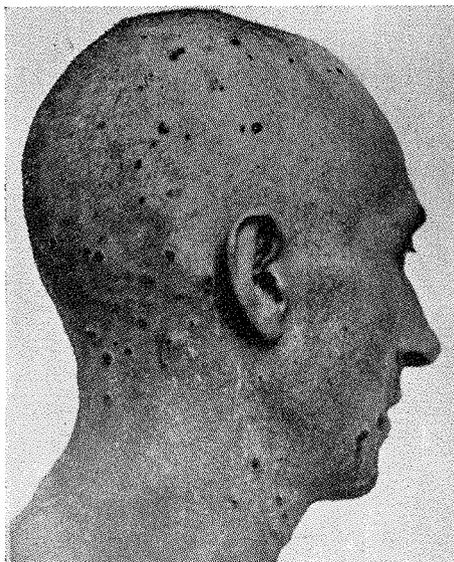


Fig. 125 — Brucelose cutânea; forma liquenóide. Segundo HAXTHAUSEN & THOMSEN.

IBARRA enumera exantema e enantemas, aftas, alopecia, pápulas, havendo isolado brucelas de algumas das lesões.



126 — Lesões cutâneas de brucelose. Segundo Nékám.

RIMBAUD & Cols. referem a existência de exantemas morbiliformes, aparecidos durante a fase hipertérmica. PONS & VALENTÍ observaram formação de púrpuras, por vêzes extensas, relacionadas a lesões vasculares ou sanguíneas, ou conseqüentes a reações alérgicas após o emprego de vacina brucelosa. "Rash" foi encontrado freqüentemente nos 339 casos observados em Iowa, por JORDAN & BORTS.

No capítulo das alterações cutâneas, num estudo de conjunto, AVERY assinala a existência de equimoses, petéquias e máculas róseas localizadas na pele do abdômen, análogas às da febre tifóide. Um "rash" incomum se desenvolve, disseminado na sola dos pés, com aspecto escarlatinoso, morbiliforme ou máculo-papuloso. Acrescenta êle queda e perda de brilho dos cabelos, calvície e estriação longitudinal e transversal das unhas.

Vimos um caso destes, que apresentava lesões distróficas acentuadas nas unhas, bem como perionix (Fig. 127).



Fig. 127 — Brucelose cutânea; lesões distróficas nas unhas e perionix. Original.

Lesões do tipo eritema polimorfo foram assinaladas por MÜLLER, e de eritema nodoso com estrutura tuberculóide, por KLEIMANN & JAMPOLSKY.

Pode ser acrescentada sudamina que está prêsa à existência de sudorese abundante, seguida de descamação furfurácea.

MICHEL-BÉCHET & Cols. descreveram lesões de escara na face, com formação de placa enegrecida, sêca, apresentando secreção sôro-sanguinolenta nos bordos. Lesões análogas observaram também na bôca e na cavidade nasal.

Um tanto diferentes são as lesões cutâneas referidas por TOVAR MANCERA, do tipo nodular, rodeadas por forte edema, dolorosas à pressão, localizadas na face, nas pernas e próximo das articulações das mãos; desaparecem lentamente, restando como nódulos consistentes, ligeiramente cianóticos; ou então lesões purpúricas, disseminadas ou localizadas. Refere êle, também, a formação de abscessos subcutâneos na cabeça e nos ombros, iniciados com fenômenos inflamatórios e terminando pela supuração; aproximam-se de lesões de celulite difusa, observadas por PAVIOT.

Formação de úlceras assinalam DURÁN DE COTTES, LUSTIG e D'ALESSANDRO. MAZZA & Cols. descreveram casos em que as úlceras cutâneas, tinham caráter erisipelatoso, bem como, presença de abscessos necrosados, nos braços.

PACHECO observou um caso de lesão cutânea, apresentando características de tal ordem que o levaram a descrevê-lo como "escrófula brucelosa". Tratava-se de um indivíduo que se contaminara ingerindo leite cru, seguindo-se aparecimento de nódulos subcutâneos na região cérvico-facial, os quais acabaram ulcerando-se e formando processos fistulosos que se refaziam com novas formações nodulares abcedadas (Figs. 83, 84); após o tratamento com vacinas, desapareceram as lesões, restando, apenas, uma cicatriz com retração de tecidos (Fig. 128).

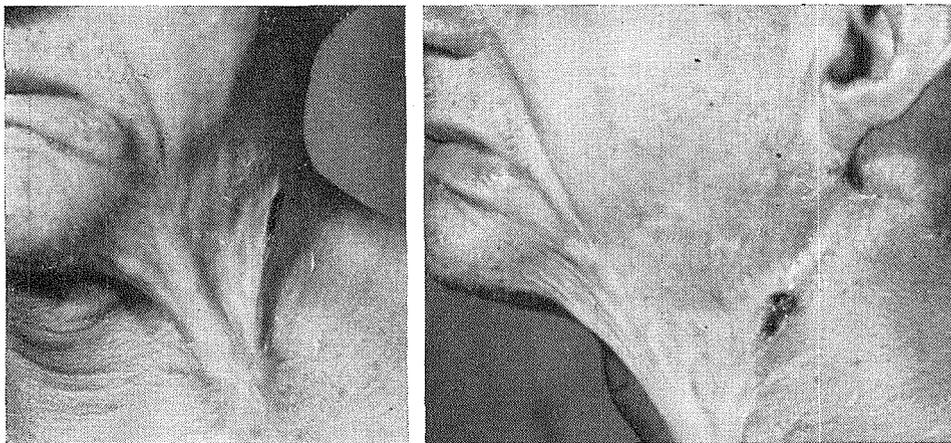


Fig. 128 — Escrófula brucelosa; lesão cicatricial após o tratamento. Segundo PACHECO.

Com certa freqüência a erupção cutânea precede ou surge concomitante a crises sintomáticas, ou a surtos febris, mas pode independêr dêles. No primeiro caso, desaparece com as crises, e retorna com elas, às vêzes, sob novo aspecto, podendo reaparecer passados muitos meses e, até, anos. No segundo caso, fica permanente ou se prolonga por semanas a fio.

Observamos lesões distróficas e eczematosas num paciente que montava cavalo em pêlo; o animal suava abundantemente molhando-lhe as pernas tendo sido afastado do trabalho porque emagrecera demasiado .

As lesões crostosas da pele apareceram durante os exercícios de equitação; iniciaram-se como eritema, tornando-se eczematosas, com formação de crostas e descamação furfurácea permanecendo assim vários meses (Fig. 129). Noutro paciente as lesões crostosas eram bastante acentuadas, nas coxas e pernas (Fig. 130).



Fig. 129 — Brucelose cutânea. Lesões crostosas das pernas e mãos. Original.

PACHECO & VEIGA descreveram um caso de eczema sêco das mãos, com engelhamento cutâneo e lesões distróficas das unhas (Figs. 131, 132).

HARRIS conta observações em que as eflorescências surgiam como reações sempre que doses de vacina brucelosa eram administradas.



Fig. 130 — Dermatobrucelose. Lesões crostosas. Original.



Fig. 131 — Eczemas e lesões distróficas em unhas. Segundo PACHECO & VEIGA.

Quer as dermatobruceloses iniciais, quer as secundárias, aparecidas no decorrer do processo infeccioso, podem complicar-se com infecções secundárias, modificando o aspecto inicial ou dissimulando a lesão primitiva sob forma de erisipela, impetigo e furunculose.

Finalmente, pigmentação, mais comum na face, foi vista por TOVAR MANCERA, simulando o cloasma gravídico.

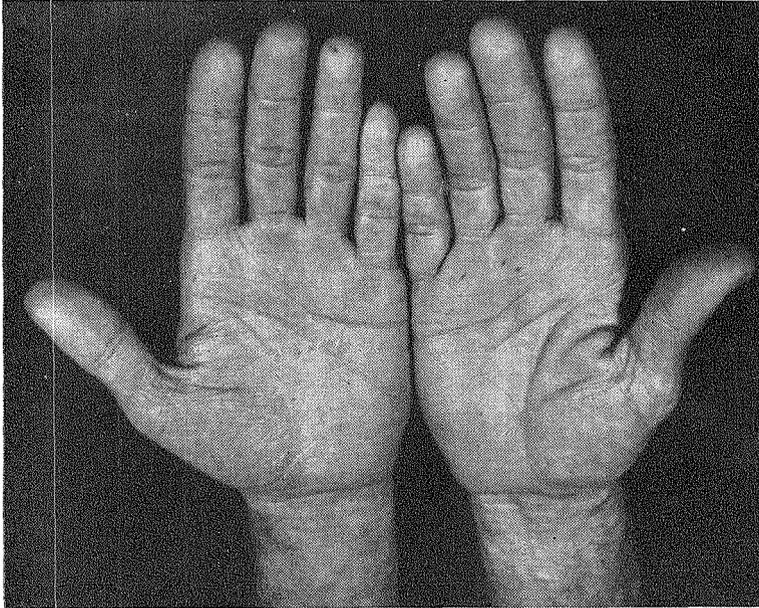


Fig. 132 — Eczema sêco e engelhamento da palma das mãos, num caso de brucelose crônica. Original.

DESMONTS insiste particularmente sôbre a pigmentação cutânea por causa de sua freqüência em todos os casos de brucelose antiga, em geral pauci-sintomáticos, no curso dos quais, ela constitui um dos sinais de presunção que pode orientar para o diagnóstico. Refere que já em 1927 SAUGAS, em sua tese, chamara a atenção para esta pigmentação, que fazia lembrar o adissonismo e VEDEL & Cols. descreveram uma síndrome de Addison num caso de brucelose, o que também foi visto por DESMONTS. Este último pesquisador passou, então, a observar cuidadosamente a pigmentação cutânea nos doentes com brucelose e em quase todos notou hiperpigmentação das partes descobertas: é uma pigmentação castanha, com tonalidade escura, dando a impressão de pele mal lavada; na maioria dos casos trata-se de pigmentação extensa mas podem ser observadas manchas pigmentadas puntiformes ou de alguns milímetros de diâmetro. São mais freqüentes na fronte, região malar, pescoço, mãos, antebraços e braços. Podem distinguir-se dois tipos principais: forma pigmentada apirética e síndrome addissoniana brucelosa.

Assinala MORONES, dentre as alterações cutâneas que encontrou, a discromia, acompanhada de adinamia, simulando síndrome de Addison.

Bastante encontradiga é a alopecia parcial, com pêlos ralos e duros, ou quase total, que MORONES verificou em 56% dos casos, insensível à vitamioterapia e melhorada ou desaparecida com a regressão dos sintomas de brucelose.

Num caso vimos sucederem-se a uma lesão erisipelatóide crônica, eflorescências sob forma de manchas pigmentadas, com infiltração do tecido celular subcutâneo (Fig. 133).



Fig. 133 — Lesões cutâneas de brucelose; eflorescências sob forma de manchas pigmentadas, sucedendo a lesão erisipelatóide crônica. Tecido celular subcutâneo, em tórno, infiltrado e duro. Original.

Observações interessantes foram feitas por DESMONTS & Cols.; de foto-sensibilização pela aureomicina durante o tratamento da brucelose. Em 12 pacientes, 11 apresentaram eritema solar; vermelhidão intensa com fundo alaranjado, respeitando as regiões cobertas; tais lesões não foram observadas em doentes tratados com estreptomycin ou cloromicetina.

## H — APARELHO OCULAR

Alterações oculares parecem bastante contraditórias na brucelose. Acredita GREEN que ela seja o agente de numerosas afecções dos olhos, muito freqüentes na clínica, cujas causas permanecem ignoradas.

A localização ocular pode resultar da introdução, direta na córnea ou na conjuntiva, de um germe como a brucela, que penetra até pelo tegumento cutâneo intacto, quanto mais em membrana como a córnea, facilmente permeável a bactérias que são retidas pela pele; também pode sobrevir a alteração ocular em consequência de mecanismo endógeno, sanguíneo ou linfático. Provavelmente essa é a via mais comum de acesso do germe ao aparelho ocular. Aliás, a experimentação prova sobejamente a possibilidade de afecções oculares resultarem de inoculações artificiais.

Foram catalogadas várias afecções oculares produzidas por brucelas, desde simples dores, lacrimejamento, fotofobia, observadas nas formas agudas, de ordinário transitórias e de caráter benigno, até lesões orgânicas na córnea, no vítreo, na pupila ou no nervo ótico.

Muito contribuíram para esclarecer o mecanismo da patogenia e da etiologia dessas afecções as verificações experimentais em animais. Foi assim que MORELLI inoculou brucelas diretamente nos olhos de coelhos e observou a formação de queratites, irites e opacificação do corpo vítreo nos animais inoculados. Acentuou MORELLI a particularidade de as alterações observadas diferirem consideravelmente daquelas produzidas por outras bactérias inoculadas experimentalmente nos animais, por via ocular, querendo significar, com isto, certa peculiaridade das lesões brucelosas. Observou êle divergências nas alterações quanto ao tipo evolutivo, isto é, distinguiu-as em agudas, subagudas e crônicas, assumindo qualquer delas aspectos de suma gravidade.

MAZZUCONI procurou repetir as experiências de MORELLI, encontrando, nos olhos dos animais inoculados, alterações análogas, com a agravante da extensão do processo infectuoso de origem ocular a todo o organismo.

CANTANO foi outro pesquisador que fez tentativas de inoculação de brucelas por via ocular, utilizando coelhos, pela deposição de germes na câmara anterior do olho e facilitando-lhes a penetração mediante escarificação simultânea da superfície da córnea.

Relatando as experiências de CANTANO, RIZZO refere como resultado o aparecimento de infiltração na córnea, passados cinco dias da inoculação, acompanhando o traço da escarificação, seguida de irite com hipópio. Ainda nas referências de RIZZO, encontramos citação de experiências de inoculações experimentais em cobaias por SRODOWSKY que estudou histo-patologicamente cerca de 200 desses animais artificialmente inoculados por via ocular, encontrando lesões análogas àquelas verificadas no homem: ligeira turvação central da córnea com infiltrações periféricas, algumas vezes, atenuando-se para o centro, e hipermia da íris, com campo pupilar invadido por um exsudato acinzentado. A córnea apresentava descamação e pequenas infiltrações celulares, de-

geração do epitélio, com núcleos vascularizados na periferia. Por vêzes havia hiperplasia celular e neo-formação vascular no parênquima. Nos casos graves o pronunciamento das lesões e o quadro histo-patológico muito se assemelhavam ao da queratite parenquimatosa sífilítica. Na maior parte era presente uma irite com infiltração difusa, que podia ser em focos, com sinéquia posterior, raras vêzes anterior. Corpo ciliar pouco lesado, mas sempre com infiltração de células linfóides e epitelíoides, extensivas ao vítreo, ocasionalmente com fluidificação. Coróide com hiperemia e infiltração em focos; êstes não apresentavam tendência à necrose. Cêrca da metade dos casos apresentava catarata. Na porção posterior da úvea encontravam-se apenas edema e cromatólise das células gangliais da retina. Essas lesões muito se aproximavam daquelas encontradas nos processos oculares tuberculosos e decorriam, segundo SRODOWSKY, de ação tóxica ou diretamente da bactéria.

Significativas, também, para esclarecimento de afecções oculares brucelosas, foram as verificações de BURKY & COLS. Apuraram que uma oftalmia de cavalos era causada por brucelas. Utilizaram suspensões do germe isolado da doença, para tentar reproduzi-la experimentalmente em coelhos, inoculando-as diretamente nos olhos dêstes animais. As inoculações foram acompanhadas de queratites, aparentando evolução variável e curando, por fim, espontâneamente ou se estendendo a outras partes do aparelho ocular. Praticando a inoculação nos olhos dos animais, nos quais provocaram artificialmente uma conjuntivite flictenular, simultâneamente a nódulos conjuntivais, não raro seguiu-se disseminação do processo infectuoso a todo o organismo. Algo mais interessante foi obtido com a inoculação de cobaias por via subcutânea, valendo-se da mesma amostra de germe isolado dos cavalos. As cobaias que não morreram em consequência da infecção, apresentaram opacificação da córnea, sofrendo uma delas um processo de queratite prolongado por dois meses, com seqüelas de sinéquias posteriores na pupila. Essas lesões superpunham-se àquelas observadas nos cavalos doentes. Os eqüinos existiam num foco onde adoeciam e cegavam animais próprios da fazenda, na qual grassava a doença enzoótica e epizooticamente, ou as lesões surgiam em cavalos trazidos de fora, posteriormente ao aparecimento da infecção, e ajuntados ao rebanho.

Numa epizootia espontânea de brucelose ocular em cobaias, ROSSI observou a existência de dacriocistites com exoftalmia bilateral, evoluindo até necrose total do globo ocular. A brucelose ocular sobreviera em virtude de infecção secundária em cobaias inoculadas em experiências de febre aftosa e se disseminou a cêrca de 2.000 dêsses animais da criação.

O que importa nessas verificações experimentais não é a possibilidade da existência de lesões oculares na brucelose experimental (porque estas já estavam previstas pelo que se sabe da biologia das brucelas e da patologia ocular, cujas alterações resultam, freqüentemente de localização bacteriana, inclusive de brucelas, ou de efeitos à distância, locais ou gerais) e sim as analogias com os processos patológicos oculares do homem. Realmente, as perturbações oculares são mais vêzes de natureza

neuropática ou, pelo menos, o nervo ótico é interessado conjuntamente a outras partes do aparelho ocular.

ROGER & POURSINES, em sua monografia, dedicam um capítulo às lesões do nervo ótico, distinguindo-as em paralisias óculo-motoras, nevrites, retinites e oftalmias. As paralisias são bastante freqüentes e apresentam reflexos das inflamações meníngeas, que de outra feita provocam diplopia quando atingem o VI par craniano. Mais raras são as perturbações pupilares com miose por paresia do reflexo pupilar. Na nevrite há uma redução progressiva da visão, algumas vezes acompanhada de atrofia uni ou bilateral da papila.

A ambliopia é um sinal freqüente de alteração ocular.

Descrevem PACHECO & Cols. alguns casos ilustrativos: mulher de 20 anos após estada numa fazenda onde ingerira leite cru apresentou cefaléia, sonolência, febre que sobreveio em surtos, náuseas, adinamia. Aos poucos foi perdendo a vista do lado direito e apresentava edema papilar. A sôro-aglutinação com brucelas foi positiva até 1/640 e a prova intradérmica provocou, além de reação local, reação focal, no olho direito. Outro caso foi de um homem que costumava passar tempos em uma fazenda e que apresentou uveíte serosa; a visão foi se tornando deficiente; surgiram turvação do vítreo, edema papilar e extensa placa exsudativa, além de placas menores na retina superior e inferior.

ABREU FIALHO também descreve um caso em que o paciente apresentava alterações visuais do olho direito acompanhando diversos outros sintomas atribuídos à brucelose.

Compulsando a literatura sobre brucelose ocular, BRITO DE OLIVEIRA enumera observações de WESCAMP, MADINOWSKAYA e de vários outros, sobre lesões da conjuntiva, da íris, do corpo ciliar, da coróide, da retina, das papilas e do nervo ótico, observadas em brucelosos. Assinala, ainda, dois casos, em Minas Gerais e descreve 3 outros: um com irite bilateral recidivante, outro, com uveíte serosa; finalmente, um terceiro com importantes alterações do aparelho ocular: bléfaro-conjuntivite crônica e descoramento da papila do olho direito, tendo em tôrno áreas de atrofia do epitélio pigmentar, lembrando estase papilar antiga; flocos flutuantes no vítreo e grande retração concêntrica nesse olho.

CANTALOUBE observou, na epidemia que estudou, ambliopia mais ou menos acentuada durante a convalescença, ou ao cabo de alguns meses desta, com restabelecimento da visão normal na maioria dos casos.

A amaurose pode ser uma consequência de alterações oculares brucelosas, referem BOULAKIA e vários outros. Uma observação desse tipo é de AUBARET & ROGER numa paciente com ambliopia progressiva, iniciada após um mês de convalescença de uma brucelose que terminou por cegueira transitória, sendo a visão recuperada mais tarde.

Nos casos em que há hemorragias retinianas, entretanto, a cegueira permanece definitiva, como no caso de BOULAKIA e num que observamos. Tratava-se, êste último, de uma jovem que, algum tempo após estágio numa fazenda, apresentou súbitamente um derrame hemorrágico de fundo, nos dois olhos, com cegueira definitiva e cujo sôro sanguíneo aglutinava brucelas em título elevado.

Estase e edema papilar foram referidos por RUTHERFORD, com scotoma do campo visual, simulando tumor da hipófise, talvez consequência de meningite intracraniana, lembram ROGER & POURSINES. Entre 63 doentes com oftalmias, RUTHERFORD descreve 3 casos de edema da papila e outras lesões, observados em sua clínica, em Iowa, nos Estados Unidos.

Um caso de coroidite exsudativa com áreas de exsudação sôbre o disco e ao longo das arteriolas temporais foi referido por SWAN & Cols. (Fig. 134).

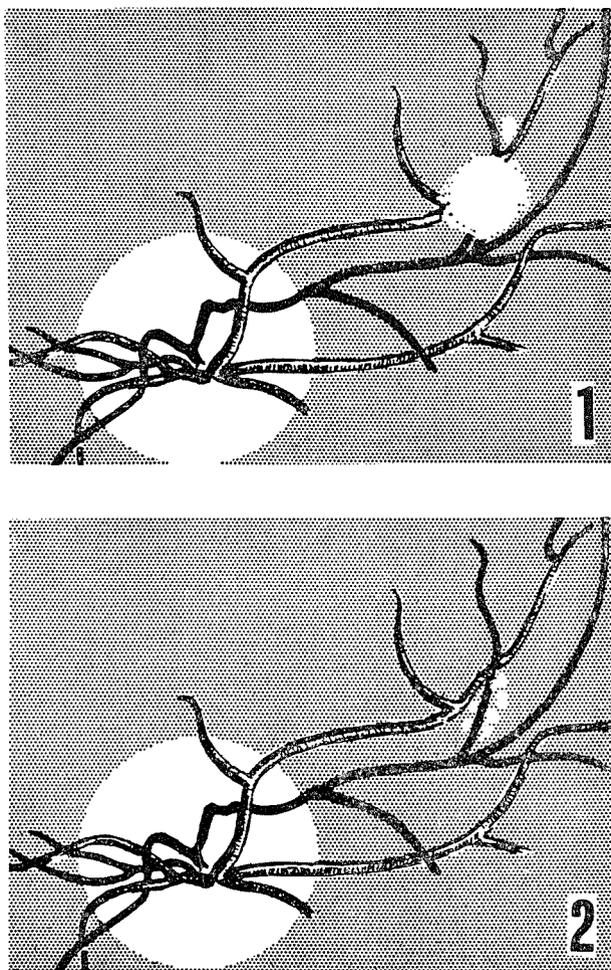


Fig. 134 — Lesões coroidais antes e depois do tratamento, num caso de brucelose ocular. Segundo SWAN & Cols.

BERENS & Cols. verificaram, em pacientes com uveítes e outras afecções oculares, 3 com reações positivas para brucelas.

Enumera HARRIS, nas lesões oculares da brucelose, conjuntivite flictenular, úlcera da córnea, dilatação e hemorragias retinianas, nevrite ótica, iridociclite, hipópio, iridocoroidite, retinite séptica, coroidite, diplopia, paresia do motor ocular externo, miopia devida a cório-retinite, nevrite retrobulbar, neuro-retinite, ambliopia e cegueira, no cômputo duma lista de observações de vários clínicos.

Casos de cegueira acompanhada de lesões nervosas foram referidos por ROGER & COLS. Um deles apresentou súbita cegueira com edema da papila seguida de paraplegia flácida e síndrome bulbar mortal, passado um mês da brucelose. Outro era de um paciente que apresentou edema papilar sem ambliopia e cefaléia supra-orbitária, mas após 45 dias teve repentina baixa da visão, com grande scotoma bilateral e hemianopsia a côres; com o progresso da ambliopia instalou-se uma paraplegia progressiva, com perturbações esfínterianas (retenção de urinas, obstipação) e impotência; a paralisia tornou-se total para depois regredir lentamente até restabelecimento completo do enfermo.

Um importante estudo sobre brucelose ocular foi realizado por CREMONA, que assinala as verificações de outros autores argentinos. Assim, por exemplo, WESCAMP & COLS. observaram lesões oculares em 35% de 63 brucelosos e MALBRAN encontrou predominância de lesões de fundo de olho de natureza congestiva, deixando indenes os meios transparentes oculares.

CREMONA estudou 160 brucelosos, da maioria dos quais foram isoladas brucelas, em hemoculturas; cêrca de 2/3 apresentavam doença em atividade. Em 89 (55%) indivíduos observou as lesões oculares seguintes:

Lesão	N.º de casos
	Intensa ..... 19
1) Congestão venosa de fundo de olho	Moderada ..... 29 Parcial (nasal ou temporal) 9
	57
(Em 47 outros casos, acompanhando outras manifestações oculares).	
2) Apagamento dos bordos da papila e congestão venosa do fundo do olho	8
3) Congestão da papila e congestão venosa do fundo do olho	5
4) Edema franco da papila e congestão venosa do fundo do olho	3
5) Nervos da córnea anormalmente visíveis (Em 13 outros casos acompanhando outras manifestações oculares)	3
6) Conjuntivite alérgica (Em 30 outros casos, acompanhando outras manifestações oculares)	3
7) Irite serosa recidivante	2
8) Apagamento dos bordos da papila	2
9) Congestão venosa do fundo do olho e esclerose arterial	2
10) Trombose da veia temporal superior	1
11) Palidez da papila	1
12) Edema da papila com hemorragias	1
13) Congestão da papila, congestão venosa do fundo e esclerqueratite	1

O exame da literatura sôbre o assunto permitiu a CREMONA classificar as manifestações oculares da brucelose da seguinte forma, de acôrdo com os segmentos atingidos:

- |                    |  |
|--------------------|--|
| 1. CONJUNTIVA      | <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Hiperemia</li> <li>b) Petéquias</li> <li>c) Hemorragias</li> <li>d) Flictenas</li> <li>e) Alergia</li> </ul>   |
| 2. ESCLERÓTICA     | Epi-esclerite  |
| 3. CÓRNEA          | <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Nervos anormalmente visíveis</li> <li>b) Edema</li> <li>c) Queratite marginal ulcerosa</li> <li>d) Queratite numular</li> <li>e) Queratite recidivante tardia</li> <li>f) Queratite estriada</li> <li>g) Úlcera crônica de tipo herpético</li> </ul> |
| 4. CÂMARA ANTERIOR | Hemorragias  |
| 5. ÚVEA            | <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Irite serosa</li> <li>b) Irite recorrente</li> <li>c) Irido-ciclite</li> <li>d) Coroidite serosa</li> <li>e) Coroidite com corpos flutuantes</li> <li>f) Uveíte recidivante</li> <li>g) Endoftalmia</li> </ul>                                       |
| 6. CRISTALINO      | Catarata complicada por uveíte   |
| 7. VÍTREO          | Hemorragias  |
| 8. RETINA          | <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Edema</li> <li>b) Retinopatia hemorrágica</li> <li>c) Retino-coroidite central</li> <li>d) Tortuosidade e dilatação venosa</li> <li>e) Periflebite</li> <li>f) Descoramento cinza, de mácula, com halo esbranquiçado periférico</li> </ul>           |
| 9. NERVO ÓTICO     | <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Edema de papila</li> <li>b) Nevrite com atrofia</li> <li>c) Nevrite retro-bulbar</li> <li>d) Nevrite bilateral</li> <li>e) Atrofia</li> </ul>  |

10. MANIFESTAÇÕES MOTORAS
- a) Paralisia unilateral do VI par
  - b) Paralisia bilateral do VI par
  - c) Paralisia do VI associada com lesões dos VII, VIII e X pares
  - d) Oftalmoplegia total
  - e) Oftalmoplegia total e nistagmus retrátil
11. TENSÃO OCULAR
- a) Glaucoma secundário
  - b) Glaucoma hemorrágico

Em seus casos de brucelose ocular encontrou CREMONA 47% de congestão venosa e 21% de conjuntivites alérgicas. Muitos pacientes se queixaram de ardores, lacrimejamentos, secreção mucosa e pegajosa acumulada nos ângulos palpebrais. Outras vezes, irritações congestivas súbitas, com dilatação vascular, sensação de corpo estranho, alterações nitidamente de natureza alérgica. Revelou o exame do olho um estado congestivo conjuntival, uni ou bilateral, o fundo de saco invadido por folículos arredondados, isolados, transparentes, parecendo cheios de líquido. Conjuntiva edematosa, com papilas no fundo de saco superior. Estende-se o edema à conjuntiva bulbar e não são raras as lesões lembrando a conjuntivite primaveril. É sempre observado o sinal de Malbrán, isto é, dilatação do ponto lacrimal: sua presença é bastante para orientar o diagnóstico.

Referem SOLANES & Cols. que WESCAMP & Cols., em 63 brucelosos, encontraram: edema das pálpebras — 14 vezes, cório-retinite — 6, periflebite retiniana — 6, hemorragia da retina — 6, irite e irido-ciclite — 6, glaucoma hemorrágico e atrofia do globo ocular — 1, paralisia do VI par — 2.

A sua vez, SOLANES & Cols. encontraram oftalmopatias puras (queratite numular, tononite, retinite macular, flebite retiniana, uveíte, iridoclitite, uveíte hipertensiva) — 12 casos; desordens neurooftalmológicas (congestão papilar, papilite, edema papilar, nevríte retro-bulbar, atrofia do disco, aracnoidite e outras lesões) — 44 casos.

A inoculação experimental forneceu-lhes dados justificativos dos fundamentos da brucelose como causa das alterações humanas, pela analogia das lesões encontradas no aparelho ocular dos animais inoculados, diferindo somente na extensão e na intensidade. As lesões mais intensas foram observadas quando inoculavam o alérgeno na córnea.

A cório-retinite é a lesão ocular mais freqüente na brucelose, assevera KRAUSE.

## BIBLIOGRAFIA

A — *Aparelho digestivo*

- CANTALOUBE, P.  
1911. La fièvre de Malte en France. Paris: 225 págs.
- CARRYER, H. M. & PRICKMAN, L. E.  
1946. Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 21:11-15.
- D'ANTONI, J. S.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 631-637.
- GAUSS, H.  
1950. Amer. J. Dig. Dis., 17(10):323-332.
- HARDY, A. V. & COLS.  
1930. Em Harris.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant fever). 2nd ed., rev., New York: 671 págs.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed., New York: 379 págs.
- HUGHES, W. L.  
1897. Mediterranean, Malta or undulant fever. Em Harris.
- IBARRA, G. G.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 485-494.
- JANBON, M. & BERTRAND, L.  
1953. IV Congr. Intern. Hyg. Méd. Mediterraneas, Barcelona: 143-171.
- LEON, A. P. & AGUIRRE, N.  
1953. Amer. J. Publ. Health, 43: 539-541.
- MCCULLOUGH, N. B. & EISELE, C. W.  
1951. A. M. A. Arch. Int. Med., 88:793-802.
- MONTE, L. A. & GARCIA, J. E.  
1949. New Orleans Med. Surg. Journal, 102(4):187-190.
- MOSS, M. J.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 639-648.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P.  
1945. Rev. Bras. Med., 2(11):964-969.  
1945. Med., Cir., Farm. (115):629-632.  
1947. Brasil-Médico, 61(5-7-):35-40.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 63-68.
- PALLARDO, L. F. & COLS.  
1952. Semana Medica, 59(3036):333-346.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucellosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- RUCHELLI, A. P.  
1935. La fiebre ondulante en el Noroeste de la Provincia de Catamarca. Tese. Fac. Med. Buenos Aires: 243 págs.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo. 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.

- SIMPSON, W. M.  
1930-31. *Ann. Int. Med.*, 4:238-259.  
1941. *Ann. Int. Med.*, 15:408-430.
- SODRÉ, L.  
1944. *Brasil-Médico*, 58(30-31):277-279.
- TOVAR MANCERA, R.  
1943. *Medicina*, 23:423-443.
- TRAMBUSTI, A.  
1908. *La Febbre Mediterranea (Setticemia del Bruce)*. Palermo: 98 págs.
- B — *Aparelho respiratório*
- BERNARD, L.  
1934. *Presse Méd.*, 42:1617-1619.
- BETHOUX, L.  
1929. *Press Méd.*, 37:835-836.
- CANTALOUBE, P.  
1911. *La fièvre de Malte en France*. Paris: 225 págs.
- FERNANDES, R.  
1949. *Clín. Tisiol.*, 4(13):217-232.
- FERNANDES, R. & Cols.  
1948. *Clín. Tisiol.*, 3(11):483-488.
- FUNDARÓ, G.  
1937. *Riv. San. Sicil.*, 25:640-653.
- HARVEY, W. A.  
1948. *Ann. Int. Med.*, 28(4):768-781.
- HUDDLESON, J. F.  
1943. *Brucellosis in man and animals*. Rev. Ed., New York: 379 págs.
- IBARRA, G. G.  
1948. *Prim. Reunion Interamer. Bruc.*, México 1946: 485-494.
- JHONSON, R. M.  
1935. *Amer. J. Med. Science*, 189:483-486.
- LIMA, E. E. DE  
1945. *Imprensa Méd.*, 21(377):37-43.
- MAGALHÃES, O.  
1955. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 53(2-4):293-300.
- PACHECO, G.  
1949. *Anais 3.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, Set.*: 307-313.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P.  
1947. *Brasil-Médico*, 61(5-7):35-40.  
1948. *Prim. Reunion Interamer. Bruc.*, México, 1946: 63-68.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. *La Brucelosis Humana*. Barcelona: 251 págs.
- RUIZ-SÁNCHEZ, F.  
1951. *Rev. Invest. Clín.*, 3(3):229-273.

- SIGNORELLI, S.  
1949. *L'Infezione Brucellare nell'Uomo*. 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SANTIS MONALDI, J.  
1932. *Presse Méd.*, 40(47):931.  
1932. *C. R. Soc. Biol.*, 110:378.
- THIAGO DE MELLO, M.  
1954. *Rev. Mil. Rem. Vet.*, 14(4):169-173.
- THOMPSON, V. E. R.  
1951. *Rev. Asoc. Méd. Arg.*, 65:600-613.
- TRAVASSOS, J. & Cols.  
1954. *Ciência e Cultura*, 6(4):199-200.
- VALE, L. A. R. & Cols.  
1953. *Rev. Paul. Med.*, 43(6):518-519.  
1954. *J. Amer. Med. Assoc.*, 154(17):1447.
- VILLAFANE-LASTRA, T.  
1946. *Rev. Méd. Córdoba*, 35:263. Em separata.  
1948. *Rev. Asoc. Argentina*, 62(625):125-137.
- VILLAFANE-LASTRA, T. & BAI, A.  
1948. *Prim. Reunion Interamer. Bruc.*, México, 1946: 361-367.
- WEED, L. A. & Cols.  
1952. *Amer. J. Clin. Path.*, 22(1):10-21.
- C — *Aparelho circulatório. Órgãos hemopoiéticos*
- AJELLO, L.  
1939. *Sett. Med.* 27:246-250.
- AMUCHASTEGUI, S. R.  
1947. *Prim. Congr. Nac. Bruc.*, Montevideo: 381-400.  
1948. *Rev. Asoc. Méd. Arg.*, 62(625):137-153.
- AMUCHASTEGUI, S. R. & HERRERO, J. A.  
1947. *Prim. Congr. Nac. Bruc.*, Montevideo: 368-380.
- BIERING, W. I.  
1929. *J. Amer. Med. Assoc.*, 93:897-901.
- BRITO, M. A. MENA  
1948. *Prim. Reunion Interamer. Bruc.*, México, 1946: 707-709.
- BURNET, E.  
1922. *C. R. Acad. Sci.*, 174:973-975.
- CALDER, R. M. & Cols.  
1939. *J. Amer. Med. Assoc.*, 112:1893-1898.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. *Brucelosis*. México: 253 págs.
- CASTAÑEDA, M. R. & GUERRERO, I. G.  
1946. *J. Inf. Dis.*, 78:43-48.
- FELDMAN, W. H. & OLSON, C. JR.  
1933. *Arch. Path.*, 16:195-210.
- GIRAUD, G. & Cols.  
1953. *Montpellier Méd.*, 44(6):626-630.

- LACAZ, C. S. & COLS.  
1954. Rev. da A.M.B., 1(4):385-389.
- MALDONADO-ALLENDE, I.  
1948. Rev. Asoc. Méd. Arg., 62:151-153.
- MAZZA, S. & HERRERA, J. C.  
1944. Rev. Med. Ci. Afines, 6(11):839-841.
- MIYARA, S.  
1948. 2.º Congr. Interamer. Bruc., Bs. Aires. Mem. não publicadas.
- MORALES-OTERO, P.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 173 págs.
- MUNGER, M. A.  
1941. Tech. Bull. n.º 177, Mich. Agric. Exp. Station: 35-44.
- NICOLLE, C. & CONSEIL, E.  
1910. Em Burnet.
- OLMER, J. & COLS.  
1937. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 53:1069-1073.
- OTERMÍN, F. C. & ANTOLÍN, M. N.  
1953. Medicina, Madrid, 21(3), parte 2:137-156.
- PACHECO, G.  
1952. Brasil-Médico, 62(16-17):227-232.
- PARSONS, P. B. & POSTON, M. A.  
1939. South Med. Journal, 32:7-13.
- PECEGO, O. & COLS.  
1936. Folha Vet., 1(5):70-79.
- PICKETT, M. J. & NELSON, E. L.  
1951. J. Bact. 61:229-237.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- PUIG, R.  
1935. Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 51:1406-1410.
- RAYNAUD, R. & COLS.  
1938. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 54:878-882.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med., 4:238-259.
- SMITH, K. M. & CURTIS, A. C.  
1939. Amer. J. Med. Sci., 198:342-346.
- SPINK, W. W.  
1946. Proc. U.S. Livestock San. Assoc., 55th Ann. Meet. : 274-286.  
1947. Hoard's Dairyman, (July, 10):549.  
1947. Trans. Assoc. Amer. Phys., 60: 126-137.  
1948. Ann. Int. Med., 29(2):238-258.
- SPINK, W. W. & ANDERSON, D.  
1950. J. Lab. Clin. Med., 35:440-445.

- SUNDBERG, D. & SPINK, W. W.  
1947. Blood, J. Hemat., Supp. I:7-32.
- THOMSEN, A.  
1934. Acta Path. Microb. Scand., Supp. 21:253 págs.
- TOVAR MANCERA, R.  
1943. Medicina, México, 23:423-443.  
1946. Rev. Med. Hosp. General, 8(6):511-521.
- VILLAFANE-LASTRA, T.  
1948. Rev. Asoc. Med. Arg., 62(625-626):125-137.  
1950. Third Interamer. Congr. Bruc., Washington: 191-208.
- VILLAFANE-LASTRA, T. & COLS.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 405-417.
- WOOD, E. E.  
1955. Brit. Med. J. (4904):27-28.
- D — *Aparelho uro-genital*
- AVERY, H.  
1942. J. Trop. Med. Hyg., 45:145-153.
- BALZE, F. A. DE LA & COLS.  
1951. Rev. Asoc. Méd. Arg., 65(713-714):616-627.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 54.
- BANG, B.  
1897. Ztschr. Tiermed., 1:241-278.
- BENDIXEN, H. C.  
1944. Maan. Dyrslaeger, 56(1):1-11.
- BENDIXEN, H. C. & BLOM, E.  
1947. Vet. Journal, 103:337-345.
- BOYD, M. L.  
1938. J. Urology, 39:717-721.
- CANTALOUBE, P.  
1911. La Fièvre de Malte en France. Paris: 225 págs.
- CARPENTER, C. M. & BOAK, R.  
1931. J. Amer. Med. Assoc., 96:1212-1216.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 págs.
- CORNELL, E. L. & JOUNG, C. R. DE  
1929. Amer. J. Obst. Gynec., 18:840-844.
- CRISCUOLO, E. & DI CARLO, F. C.  
1954. Rev. Fac. Ci. Méd. Córdoba, 12:1-12.
- DEBONO, J. E.  
1943. Em Huddleson: 115-143.
- DEL VECCHIO, G.  
1938. Arch. Ital. Med. Sper., 2:61. Em Signorelli.
- DIAS DE CASTRO, H.  
1945. Accion Sind., 7(2):91-120.  
1947. Mem. Primer Congr. Nac. Bruc. Montevideo: 308-320.

- FREI, W.  
1929. Schw. Med. Woch., 59:334-336.
- GRAD, P.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 465-476.
- GREENE, L. F. & ALBERS, D. D.  
1950. Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 25(23):638-640.
- GREENE, L. F. & COLS.  
1952. J. Urology, 67(5):765-772.
- HARDY, A. V.  
1937. Med. Clin. North Amer., 21:1747-1748.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant Fever), 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HILLAERT, E. L. & COLS.  
1950. Amer. Vet. Med. Res., 11:84-88.
- HIPOLITO, O. & GIÓVINE, N.  
1943. An. 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte: 250-256.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Erucellosis in man and animals. Rev. ed., New York: 379 págs.
- HUTYRA, F. & COLS.  
1938. Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals, 4th engl. ed., Vol. I. London: 793-824.
- IACAPRARO, G.  
1944. Rev. Med. Ci. Afines, 6(11):864-885.
- IBARRA, G. G.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 485-491.
- JANBON, M. & BERTRAND, L.  
1953. Quarto Congr. Intern. Hig. Med. Mediterraneas, Barcelona: 143-171.
- JANBON, M. & KERLAU, CADERAS DE  
1939. Presse Méd., 47:453-454.
- LOWBEER, L.  
1947. Amer. J. Path., 23:911-912.
- MCNEAL, W. J. & KERR, J. E.  
1910. J. Inf. Dis., 7:469-475.
- MOLINELLI, E. A. & COLS.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 515-562.
- NICOLL JR., M. & PRATT, J. S.  
1915. Amer. J. Dis. Children, 10(3):203-205.
- O'LEARY, J. & SPINK, W. W.  
1950. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 75:41-43.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucellosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- PURRIEL, P. & COLS.  
1942. Arch. Urug. Med. Cir. 21(2):128-152.  
1944. Brucellosis. Montevideo: 407 págs.

- ROGER, H. & POURSIRES, Y.  
1938. Les meningo-neuro-bruceloses. Paris: 248 págs.
- RUCHELLI, A. P.  
1935. La fiebre ondulante en el Noroeste de la Provincia de Catamarca.  
Tese. Fac. Med. Buenos Aires: 243 págs.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.<sup>a</sup> ed., Napoli: 437 págs.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med., 4:238-259.
- SIMPSON, W. M. & FRAIZER, E.  
1929. J. Amer. Med. Assoc., 93:1958-1965.
- SMITH, T. & FABYAN, M.  
1911. Z. Bakt., 61:549-555.
- THOMSEN, A.  
1934. Acta Path. Microb. Scand., Supp. 21:253 págs.
- TOVAR MANCERA, R.  
1943. Medicina, México, 23:436-438.
- E — *Aparelho locomotor*
- BAKER JR., B. M.  
1928. Trans. A. Am. Physicians, 43:285-287.  
1929. Arch. Int. Med., 44:128-141.
- BISHOP JR., W. A.  
1939. J. Bone & Joint Surg., 21:665-673.
- BURNET, E.  
1922. C. R. Acad. Sci., 174:973-976.  
1928. Arch. Inst. Pasteur Tunis, 17(2):128-146.
- CANTALOUBE, P.  
1911. La Fièvre de Malte en France. Paris: 225 págs.
- CARPENTER, C. M. & BOAK, R.  
1936. Med., 15:103-128.
- CHARVET, P.  
1939. Em Michel-Bechet & Cols.
- COVENTRY, M. B. & Cols.  
1949. J. Amer. Med. Assoc., 141:320-325.
- EALES, L.  
1951. South Afr. Med. Journal: 143-145.
- EYRE, J. W. H.  
1908. Lancet, 1:1677-1682.
- FELDMAN, W. H. & OLSON, C. JR.  
1933. Arch. Path., 16:195-210.
- GOLDFAIN, E.  
1943. J. Lab. Clin. Med., 28:1226-1321.
- GOUVÊA, P. G.  
1952. Anais 4.<sup>o</sup> Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro: 121-129.

- GREEN, M. E. & FREYBERG, R. H.  
1941. Amer. J. Med. Sci., 201:495-504.
- GUIBAL, P. & MAS, H.  
1934. Presse Méd., 42:1777-1778.
- HARDY, A. V.  
1937. Med. Clin. North Amer., 21:1747-1748.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant fever), 2nd. ed., rev. New York: 671 págs.
- HERSON, R. N.  
1942. Brit. Med. J., 1:762.
- HUGHES, W. L.  
1897. Mediterranean, Malta or undulant fever. Em Harris.
- JAMES, W. A. & GRAHAM, R.  
1930. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 77:774-782.
- JANBON, M. & COLS.  
1950. Presse Méd., 58(38):678-680.
- JOHNSON, E. W. Jr. & WEED, L. A.  
1954. J. Ecne & Joint Surg., 36-A(1):133-139.
- JULLIEN, J.  
1934. Presse Méd., 42:1930-1931.
- KULOWSKI, J.  
1936. Surg. Gynec. & Obst., 62:759-763.
- KULOWSKI, J. & WINKE, T. H.  
1932. J. Amer. Med. Assoc., 99:1656-1659.
- LAMANSKY  
1911. La fièvre méditerranéenne. Em di Rienzo.
- LÖFFLER, W. & MORONI, D. L.  
1952. Em "Handbuch der Inneren Medizinen. Infektionskrankheiten", 2:  
100-202.
- LOWBEER, L.  
1946. Proc. Staff Meet. Hillcrest Mem. Hosp., 3:7-23.  
1947. Amer. J. Path., 23:911-912.  
1949. Proc. Staff Meet. Hillcrest Mem. Hosp., 6:1-36.
- MARIETTA, S. U.  
1935. Amer. Rev. Tuberc., 32(3):257-284.
- MAROTTOLI, O. R.  
1945. Rev. Med. Rosario, 35:821-840.
- MARTIN, M.  
1926. Les spondylites melitococciques. Em di Rienzo.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ. 10(5):1195-1325.
- MAZZINI, O. F. & CARMANN, D. R.  
1940. Prensa Méd. Arg., 27:517-520.
- MICHEL-BÉCHET, R. & COLS.  
1939. Localisations viscérales et aspects chirurgicaux des brucelloses. Paris:  
168 págs.

- MOLINELLI, E. A. & Cols.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 515-562.
- MONTAGNE, J.  
1926. Presse Méd., 34(2):1242.
- NICOLLE, C.  
1909. C. R. Soc. Biol., 67:267-269.
- OTERMÍN, F. C.  
1949. Medicina, Madrid, 17(1):33-44.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P.  
1945. Rev. Bras. Med., 2:299-308.
- PERRUELO, N. N.  
1953. Rev. Med. Ci. Afines, 15(7-8):79-82.
- PHALEN, G. S. & Cols.  
1942. J. Amer. Med. Assoc., 118:859-862.
- PIANTONI, C. & Cols.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 569-574.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- PRICKMAN, L. E. & Cols.  
1938. Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 13:321-328.
- PRICKMAN, L. E. & POPP, W. C.  
1936. Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 11:506-510.
- PURRIEL, P. & Cols.  
1944. Brucellosis. Montevideo: 407 págs.  
1945. Acción Sindical, 7(2):123-146.  
1947. Mem. Primer. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 279-307.
- RAWAK, F. & BRAUN, R.  
1931. Klin. Woch., 10:776-778.
- RIENZO, S. DI  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 583-603.  
1948. Rev. Asoc. Med. Arg., 62:153-164.
- RIMBAUD, L. & LAMARQUE, P.  
1933. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 49:700-707.
- RIVERA PEREZ, L.  
1952. Rev. Clin. Española, 13,44(4):263-265.  
1952. Medicamenta, 20(238):20-24.
- ROGER, H.  
1926. Presse Méd., 34,II(59):929-930.  
1926-27. Bull. Soc. Sci. Méd. & Biol. Montpellier, 8:10-15.
- ROGER, H. & POURSIINES, Y.  
1938. Les meningo-neuro-brucelloses. Paris: 248 págs.
- SHARPE, J. C.  
1936. Ann. Int. Med., 9:1431-1436.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med., 4:238-259.

- SUNDBERG, R. D. & SPINK, W. W.  
1947. Blood, J. Hemat., Suppl. I:7-32.
- THOMSEN, A.  
1934. Acta Path. Microb. Scand., Suppl. 21:253 págs.
- TOVAR MANCERA, R.  
1943. Medicina, México, 23:423-443.
- VALLEJO SIMON, A. M.  
1950. Medicina, Madrid, P. II, 18:1-20.
- VILLAFANE-LASTRA, T.  
1947. Mem. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 321-356.  
1948. Rev. Med. Cordoba, 36:477-516.  
1948. Rev. Assoc. Med. Arg., 42:125-136.
- VILLAFANE-LASTRA, T. & BAI, A.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 617-630.
- VILLAFANE-LASTRA, T. & COLS.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 441-463.
- WEED, L. A. & COLS.  
1952. Amer. J. Clin. Path., 22(1):10-21.
- F — *Sistema nervoso*
- CANTALOUBE, P.  
1911. La fièvre de Malte en France. Paris: 225 págs.
- DOGLIANI, P.  
1954. Riv. Patol. Nerv. Mentale, 75:302-319.
- EISELE, C. W. & COLS.  
1950. J. Amer. Med. Assoc., 143(17):1473-1474.
- EVANS, A. C.  
1934. J. Amer. Med. Assoc., 103(9):665-667.  
1937. Publ. Health Rep., 52(32):1072-1077.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant Fever). 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HARRIS, H. J. & KEMPLE, C.  
1954. Psychos. Medicine, 16(5):414-425.
- JANBON, M. & COLS.  
1954. Bull. Mem. Soc. Méd. Hôp. Paris, 70(28-29): 1059-1065.
- KYGER, E. R., JR. & HADEN, R. L.  
1948. Amer. J. Med. Sci., 216:689-693.
- NUNNO, R.  
1914. Deut. Arch. Klin. Med., 116:275-294.
- PACHECO, G. & COLS.  
1955. WHO/Bruc. Inform. Series, March, n.º 109.
- PUIG, R.  
1949. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 65(30-31):1291-1299.
- ROGER, H.  
1932. Presse Méd., 40(37):735-738.

- ROGER, H. & COLS.  
1951. Rev. Neurol., 84:245-246.
- ROGER, H. & POURSIINES, Y.  
1938. Les meningo-neuro-brucelloses. Paris: 248 págs.  
1950. L'Encéphale, 39:120.
- SPICKNALL, C. G. & COLS.  
1950. J. Amer. Med. Assoc., 143(17):1470-1473.
- VALENTÍ, P. F.  
1943. Neurobrucelosis. Barcelona: 116 págs.
- VILLAFANE-LASTRA, T.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946:441-463.
- VILLAFANE-LASTRA, T. & BAI, A.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 617-630.
- G — *Pele e anexos*
- AVERY, H.  
1942. J. Trop. Med. Hyg., 45:145-153.
- DESMONTS, T.  
1951. Bull. Soc. Franç. Derm. Syph., 58:34-35.  
1952. Path. Gén. (Rev. Path. Comp. Hyg.) (641):590-592.  
1953. Reunion Soc. Dermat. Toulouse, Juin.  
1954. Bull. Soc. Franç. Derm. Syph., 64(1):21-22.
- DESMONTS, T. & COLS.  
1950. Soc. Franç. Derm. Syph. Marseillaise, Oct.: 365-366.  
1953. Bull. Soc. Franç. Derm. Syph., 63(5):444-445.
- DESMONTS, T. & LIEB, MME.  
1954. Bull. Soc. Franç. Derm. Syph., 64(4):334-335.
- DURAN DE COTTES  
1911. Fiebre de Malta, 1.<sup>a</sup> ed. Madrid. Em Pons & Valentí.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant fever), 2nd. ed., rev. New York: 671 págs.
- HAXTHAUSEN, H. & THOMSEN, A.  
1931. Arch. Derm. Syph., 163(3):483-491.
- IBARRA, G. G.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 485-491.
- JORDAN, C. F. & BORTS, I. H.  
1946. J. Amer. Med. Assoc., 130:72-75.
- KLEIMMANN, G. N. & JAMPOLSKY, L. D.  
1938. Em Signorelli.
- MAZZA, S. & COLS.  
1936. 8.<sup>a</sup> Reunion Soc. Arg. Pat. Reg. Norte (1933):734-736.
- MICHEL-BÉCHET, R.  
1939. Localisations viscérales et aspects chirurgicaux des brucelloses. Paris:  
168 págs.
- MORONES, S.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 563-568.

- MÜLLER, L. R.  
1944. Em Pons & Valentí.
- NÉKÁM, L.  
1938. Delib. Congr. Derm. Intern. Budapest, 1935, Vol. V — Corpus iconum morb. cutan., Part II:153.
- PACHECO, G.  
1950. Rev. Bras. Med., 7:651-655.  
1954. Rev. Bras. Med., 11(7):466-469.  
1955. Mem. Inst. Osw. Cruz, 53(1):31-40.  
1955. Der Hautarzt, 6(7):304-306.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P.  
1946. Rev. Bras. Med., 3(6):485-487.
- PIULACHS, P. & VIDAL-BARRAQUER, F.  
1951. Rev. Clin. Española, 12, 42(6):388-393.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- RIMBAUD, L. & Cols.  
1937. Arch. Soc. Sci. Méd. Biol. Montpellier, 18(11):647-648.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med. 4:238-259.
- TOVAR MANCERA, R.  
1946. Rev. Med. Hosp. General, 8(6):511-521.
- H — *Aparelho ocular*
- ABREU FIALHO, S.  
1945. Rev. Bras. Oftalm., 4(4):189-200.
- AUBARET & ROGER  
1929. Em Roger & Poursines.
- BERENS, C. & Cols.  
1942. Amer. J. Ophthalm., 25(3):295-301.
- BOULAKIA, S. C.  
1926. Ann. d'Oculist., 163:702. Em Green.
- BURKY, E. L. & Cols.  
1939. Amer. J. Ophthalm., 22(11):1210-1217.  
1945. Amer. J. Ophthalm., 28(10):1147-1148.
- CANTALOUBE, P.  
1911. La Fièvre de Malte en France. Paris: 225 págs.
- CREMONA, A. C.  
1951. Rev. Asoc. Méd. Arg., 65(713-714):613-616.
- EISELE, C. W.  
1947. Med. Clin. North Amer., 31(1):182-197.
- GREEN, J.  
1939. Arch. Ophthalm., 21(1):51-67.  
1943. Amer. J. Ophthalm., 26(5):491-498.

- HARRIS, H. J.  
1945. Arch. Ophthalm., 33:56-61.  
1950. Brucellosis (Undulant fever), 2nd. ed., rev. New York: 671 págs.
- KRAUSE, A. C.  
Em Eisele.
- MAZZUCONI, M.  
1927. An. Med. Nav. Col., 1(1-2):14-22.
- MORELLI  
1921-26. Em Mazzuconi.
- OLIVEIRA, D. BRITO  
1943. 5.<sup>a</sup> Jornada Oftalm. Bras., Campinas, Setembro. Resumo em "Arq. Inst. Penido Burnier, Campinas, 1949, 8:132-133".
- PACHECO, G. & Cols.  
1943. Brasil-Médico, 57:433-438.
- RIZZO, A.  
1906. Riv. San. Sicil., 24:1352. Em Green.
- ROGER, H. & Cols.  
1951. Rev. Neurcl., 84:245-246.
- ROGER, H. & POURSIRES, Y.  
1938. Les meningo-neuro-brucelloses. Paris: 248 págs.
- ROSSI, F. A.  
1941. Rev. Med. Ci. Afines, 3(12):862-872.
- RUTHERFORD, C. W.  
1935. J. Amer. Med. Assoc., 104: 1490-1492.
- SOLANES, M. PUIG & Cols.  
1953. Amer. J. Ophthalm., 36(5):675-689.
- SWAN, M. M. & Cols.  
1951. Arch. Int. Med., 88:258-261.
- WOODS, A. C.  
1946. Arch. Ophthalm., 35:490-508.
-



## CAPÍTULO IX

---

### Brucelose na infância

Até poucos anos admitia-se que as crianças eram relativamente poupadas pela brucelose. Atribuía-se a pouca freqüência de casos à particularidade de ser uma doença eminentemente profissional.

Na estatística de TORRES, citada por CASTAÑEDA, e realizada na cidade do México, entre 8.610 reagentes positivos a provas diagnósticas de alergia e de sôro-aglutinação para brucelose, não encontrou êle nenhum da 1.<sup>a</sup> infância, entre 3 meses a 3 anos. Entretanto, em 9 ou 2,1% de 422 crianças em idade pré-escolar e em 48 ou 0,85% de 5.630 em idade escolar, as provas foram positivas. O índice geral dos 1.980 adultos de sua estatística fôra de 8,2%.

Ainda no México, em 625 casos registrados em 1945, MARIOTTE encontrou 10 entre 1-4 anos, 45 de 5-9 e 70 de 10-14 anos de idade. Haveria uma analogia com o que se observa na tuberculose, cujo índice de reagentes à tuberculina vai subindo com a idade, partindo praticamente do zero, como se vê nos dados de TORRES, acima referidos.

O conceito da pouca freqüência ou inexistência da brucelose na infância não pode continuar a ser admitido com tanta facilidade, a começar considerando o mecanismo da infecção, atualmente bem conhecido. Sabendo-se que o leite é um dos fatores importantes da disseminação da brucelose, só aí estaria um elemento a ser considerado, quanto à contaminação das crianças, atentando-se aos aspectos examinados nos capítulos da Epidemiologia e da Brucelose Uro-genital.

Realmente, a eliminação de germes pelo leite, que é a base quando não o alimento exclusivo da infância, torna possível a contaminação infantil. SEDWICK & LARSON, em 425 crianças que bebiam leite de plantéis infectados, encontraram 17% de reações positivas, pela técnica de fixação de complemento com antígeno bruceloso. Dos sangues examinados, alguns grupos, como o proveniente de certa Instituição, deram mais de 48% de resultados positivos. De outro lado, em 42 sangues do cordão umbelical de crianças recém-nascidas, nenhum deu fixação de complemento positiva. Uma destas recém-nascidas, alimentada, depois, com leite de vaca, teve febre e deu reação positiva, aos 21 dias de idade.

Em 247 brucelosos HARRIS contou 29 crianças, entre 2-15 anos. Para êle, muitos casos de pielite, gastro-enterite, febres de origem obscura, emagrecimento, anemia, em crianças, têm sua causa brucelosa. Assinala, ainda, uma estatística de MACBRIDE & Cols., de 200 crianças de uma Instituição, que haviam consumido leite cru e das quais 14 deram provas para brucelose positivas.

HILL & MONGER dizem ter encontrado uma criança brucelosa, de 7 meses de idade.

Em 4 anos de observações em crianças, DEGOY catalogou 219 casos de brucelose infantil, cujo estudo realizou detalhadamente. Assinalou como sintomas freqüentes: suores profusos, epistaxe, languidez até estupor, dores articulares e ósteo-articulares, inapetência, obstipação, dores abdominais simulando apendicite, meteorismo e cefaléia.

Em 8.337 brucelosos, ROCA & BARAJAS encontraram 20 com idades entre 4 e 9 anos.

Nas crianças de tenra idade são mais encontradas perturbações gastro-intestinais, com diarréia e vômitos.

Na observação de HUBBARD, duma criança de 6 anos, houve febre, cefaléia, vômitos, fadiga, dores abdominais, sopro sistólico discreto, hepatoesplenomegalia, faringite e manchas róseas na pele do abdômen.

SIMPSON contou 9 casos de brucelose infantil entre 90 dentes que acompanhou.

Um extenso estudo em 34 crianças entre 2 a 14 anos é o de ROCA. A doença começou com febre, a princípio elevada, depois tornando-se irregular, intermitente, acompanhada de dores articulares, tumefação de amígdalas com formação de amigdalite críptica pouco intensa. Alguns casos apresentaram processos pulmonares, chegando a simular tuberculose; outros, tiveram lesões mais discretas. Alterações do aparelho digestivo com vômitos e diarréia muco-sanguinolenta foram também assinaladas.

CRISCUOLO & Cols. investigaram a alergia cutânea em 7.378 crianças de Cordoba, 440 das quais deram reações positivas ou sejam 5,69%. Houve predominância dessas reações nas crianças residentes na zona rural. Em crianças de dispensários da mesma cidade MAUBECIN encontrou 11,4% com reações cutâneas positivas.

Sendo a brucelose uma doença congênita, traz possibilidades de freqüência de contaminação para o recém-nascido. Acontece que, apresentando a sintomatologia das doenças infecto-contagiosas na infância, particularidades justificativas da existência da pediatria, isto é, de uma especialização médica para a infância, com a brucelose, então, essas particularidades são muito mais encontradas. Isto porque, sendo ela a "doença dos mil sintomas", como se viu antes, na criança apresenta-se também muito variável.

Começa por confundir-se com muitos dos sinais peculiares a outras doenças observadas nessa idade. Assim aparecem diarréia e disenterias (síndromes disenteriformes), vômitos, inapetência, emaciação, anemia aguda ou crônica, febre ou febrícula, quebrantamento. Num ou noutro caso predomina este ou aquêlê sintoma, anima-se ou apaga-se um ou outro dêles, permanecem ou desaparecem rápido como vieram, ou renova-se o quadro primitivo com a superveniência de novos sinais de doença. Seja como fôr, há um caráter que, levado em linha de conta, tem valor de certa importância, quando associado a uma boa anamnese orientadora diagnóstica: é a permanência da doença no tempo. Tôda a afecção infantil com sintomas pouco ruidosos mas prolongados e resistentes à terapêutica, inclusive climática, fará pensar em brucelose.

Em conjunto, a brucelose infantil apresenta muitos dos sintomas análogos aos dos adultos, com ressalva de exibição de quadros sintomáticos menos nítidos, se é possível falar assim, com referência a essa enfermidade.

Em geral, a criança vai perdendo as características da constante morbidade peculiar aos organismos jovens, exigentes de ginástica permanente para seu desenvolvimento físico. Começa a enlanguescer, a perder as côres, chora com freqüência, mostra-se insatisfeita, não progride no pêso, não tem apetite. A temperatura vespéral pode estar aumentada.

Esse quadro instala-se lentamente, quase imperceptível; permanece com aumento progressivo, ou se associa a outros sintomas de caráter transitório, sobretudo a perturbações gastro-intestinais. A remoção de amígdalas, o uso de vacinas, o tratamento revigorante, podem trazer melhoras por algum tempo, mas sempre seguidas de reaparecimento dos sintomas.

ANGLE & ALGIE catalogaram as alterações encontradas em 642 ou 9% de 7.122 escolares que reagiram positivamente à prova alérgica brucelosa, dos quais excluíram 132 que também eram tuberculino-positivos; ao mesmo tempo cotejaram crianças com outros males:

	Nos reagentes às brucelas %	Em crianças com outros males %
Alterações nervosas (depressão, irritabilidade, instabilidade emocional, alterações psicomotoras) . . . .	44	26
Cefaléia . . . . .	35	15
Reumatismo (artrite, nevrites, algias) . . . . .	34	6
Obstipação . . . . .	15	2
Febre . . . . .	5	1

Dos reagentes, 116 não apresentavam sinais de doença, 167 apresentavam somente um sintoma, 80 — dois, 43 — três, 34 — quatro e 25 — cinco sintomas, simultaneamente.

Salientam os pesquisadores a predominância dos fenômenos nervosos, e a pouca freqüência de febricitantes, quando o aumento de temperatura é um dos mais corriqueiros dos sintomas de doença infecciosa na infância, se não o mais comum.

Em observações anteriores, ANGLE & Cols. verificaram que o maior percentual de reações positivas fôra por eles encontrado em distritos de menor densidade de população, mas onde havia animais domésticos, (vacas, cabras, galinhas, porcos) e nos indivíduos que bebiam leite cru não sujeito a contrôle higiênico. Em outro distrito, habitado por pretos, e onde não havia animais nos domicílios, o índice de reações positivas nos escolares era muito baixo (2,7%), sendo o leite ali consumido sujeito a contrôle higiênico.

Acentuamos, antes, que a febre não comparece na forma crônica, que é a predominante na doença. Mostraram as verificações de ANGLE & ALGIE que a brucelose é essencialmente crônica na infância, tal qual se observa no adulto.

A sintomatologia apresentada pela criança é, às vezes, inexpressiva ou inexistente, na maioria das observações.

O caso de GIBSON é ilustrativo neste sentido. Relata êle que uma criança, de 20 meses de idade com excelente desenvolvimento, apresentou-se inapetente e febril. A temperatura manteve-se irregular, com ataques de piroxia durando 10 dias, não excedendo de 39° e acompanhada de diarréia, seguida de obstipação, quando caía a febre. O exame físico apenas revelava adenite do triângulo posterior do pescoço. Apresentava sempre boa disposição e aparência, mesmo durante os acessos febris. A sôro-aglutinação com brucela foi positiva a 1/250.

Mais rumorosa é a observação de HILL & MONGER. Criança de 7 meses, bem nutrida (7.800 g), com amamentação natural, estacionou o pêso nessa idade. Atribuindo isso a uma deficiência alimentar, concedeu-se-lhe uma dieta suplementar, sem resultado. Ao cabo de alguns meses tornou-se apática; por fim, caiu em estado letárgico, com agitações intervaladas. Pele úmida e fria, suores, pulso 140. Líquor normal, com baixa pressão. Lues ausente. Hemograma: 16.650 leucócitos com 65% de segmentados e 35% de linfócitos. Widal para brucelose positivo a 1/650. Curada com transfusões repetidas de sangue paterno.

ANDERSON & POHL contam 3 casos que transcrevemos em resumo:

1.º) Criança de 3 anos de idade; dois e meio meses antes iniciara uma febre diária, de 38°-41°, sem apresentar nenhum sofrimento. Ao exame físico apenas notaram amígdalas um pouco intumescidas e vermelhas, com certa mucosidade. Pirket negativo, urina normal, Widal para febre tifóide e Wassermann negativos. Não perdeu pêso, embora o aumento ponderal fôsse lento. Tivera, havia pouco, dois ataques de otite média, dispensando intervenção cirúrgica. Não passando a febre, procedeu-se à tonsilectomia na 6.ª semana dêsse estado. Decorridos 10 dias, houve diminuição da febre mas a temperatura não chegou a normalizar-se. Com o tempo, a febre tornou-se ondulante. Repetiram-se as pesquisas, inclusive radiológicas, inútilmente. Por fim, seu estado agravou-se, sobrevieram vômitos, diarréia e sinais de laringite aguda, numa crise febril igual à do começo da doença, e da qual melhorou, embora permanecesse a febre por mais de 4 meses, quando desapareceu, por um período idêntico. Continuava sem sinais clínicos de doença, mas voltara a febre. Baço impalpável e ausência de suores durante os acessos febris. Por fim, queixou-se de dor do lado esquerdo do abdômen e, ocasionalmente, dor na perna esquerda. A anamnese provou que bebia leite cru de uma granja com vacas brucelosas e a sôro-aglutinação foi positiva a 1/320.

2.º) Criança sofrendo de freqüentes afecções catarrais das vias aéreas e por isso foi mandada a um clima quente, tendo-se apresentado febril no dia seguinte ao da chegada àquele local. O médico assistente diagnosticou faringite aguda, mas a temperatura permaneceu elevada (38°C), apesar da boa aparência da enfôrma. Passado um mês, retor-

nou à casa. A febre persistia, não obstante a inexistência de queixas da criança, da ausência de sinais físicos de doença e apesar de a paciente alimentar-se bem. A sôro-aglutinação foi positiva, com brucelas, a 1/640. A febre durou seis meses e meio, com períodos ondulatórios. A anamnese mostrou que consumira, durante muito tempo, leite cru, de uma granja infectada.

3.º) Aspecto análogo aos dois outros, sempre com boa aparência física da criança, exceto esplenomegalia presente. Contaminara-se na mesma fonte do 2.º caso.

Na brucelose infantil a febre se eleva de ordinário pela tarde, mas pode exalçar-se também pela manhã. Em geral tem mais aspecto de febrícula diária.

Na urina aparecem pus e traços de albumina, como alterações mais freqüentes, as quais são vistas mais vêzes que no adulto.

São comuns as perturbações gastro-intestinais, sobretudo dores no abdômen, sob forma difusa ou localizada, pouco intensas mas repetidas amiúde. MACHADO & DA LA CRUZ acrescentam-lhe hépato e esplenomegalia, também vistas nos doentes de Roca: 25 vêzes aumento do fígado e 16 do baço, em 34 pacientes.

Surtos epidêmicos de brucelose infantil foram relatados no Canadá, nos Estados Unidos e na Inglaterra, referem CRUICKSHANK & STEVENSON. Estes investigadores ajuntam mais um, observado por êles em 54 meninas, retiradas da cidade por causa da guerra, das quais 3 tiveram forma aguda. Uma apresentou febre de 38°C, calafrios, mal-estar, sem outros sintomas. Seu estado normalizou-se em uma semana. A hemocultura e a sôro-aglutinação foram positivas para *Br. abortus*. Outra, teve sintomas um pouco mais discretos e a sôro-aglutinação também foi positiva para *Br. abortus*. Tôdas as meninas bebiam leite cru, de um estábulo da propriedade rural onde foram recolhidas e onde houvera abôrto nas vacas, sendo a sôro-aglutinação destas positiva para brucelas.

Encontradiças são as manifestações reumáticas na brucelose infantil, conforme assinalam ANGLE & ALGIE.

PIANTONI & Cols. verificaram-nas em 53 de 56 crianças observadas em Córdoba, afetando principalmente as grandes articulações, na seguinte freqüência:

	Artrose inicial dolorosa	Artrite inflama- tória
Articulação dos membros inferiores.....	14	0
Articulação coxo-femural.....	11	2
Articulação do joelho.....	7	5
Articulação tíbio-társica.....	3	1
Articulações dos 4 membros.....	3	0
Articulação do braço direito.....	1	0
Articulação do ombro esquerdo.....	1	1
Articulação do ombro direito.....	1	1
Articulação sacro-ílfaca.....	1	0
Articulação da coluna.....	0	1
Articulação têmporo-maxilar.....	0	1

Não foram encontradas as espondilites com deformação da coluna, tão freqüentes no adulto. Tratava-se, nos casos estudados, de formas de brucelose aguda ou subaguda, evoluindo em algumas semanas a meses. As afecções articulares terminaram aparentemente sem deixar seqüelas, mesmo as de manifestações artríticas graves.

A idade dos doentes variou de 3 a 12 anos. Nenhum deles apresentou a forma crônica. Relataram 4 de suas observações, das quais destacamos certos dados interessantes: leucopenia, quando na 1.<sup>a</sup> infância a taxa de leucócitos é próxima dos 10.000 por mm<sup>3</sup>; taxa de hemoglobina inferior a 100; neutrofilia ou linfocitose discreta (esta é, normalmente elevada, na infância).

	1.º caso	2.º caso	3.º caso	4.º caso
Leucócitos (global)...	4 800	7 800	9 300	4 800
Segmentados %.....	60	46	42	60
Linfócitos %.....	35	52	56	35
Hemátias.....	3 900 000	4 900 000	5 300 000	3 900 000
Hemoglobina %.....	69	79	94	69

Ao lado da anemia, o quadro hemático sofreu uma variante, explicada pela superveniência dos estados inflamatórios articulares. Esses dados são ilustrativos para se interpretar um hemograma em certas formas de brucelose infantil. Em dois dos casos o líquido articular recolhido por punção, continha brucelas.

Alterações do aparelho respiratório, têm sido vistas. Roca assinala a existência de coriza e outros sintomas em alguns dos seus 34 casos. Eis duas de suas observações: menina de 3 anos apresentou o quadro de uma broncopneumonia com infiltração do tipo miliar, ao exame radiológico, fazendo pensar em tuberculose. A pesquisa de bacilos de Koch foi negativa, mas a prova com alérgeno bruceloso foi positiva bem como a sôro-aglutinação com brucelas. A outra era de uma menina de 13 anos, que apresentava tosse sêca e reação intradérmica positiva à tuberculina. Melhorou com a medicação sintomática mas retornou ao hospital, passado um mês, afetada de processo infiltrativo pleuro-pulmonar em todo o hemitórax direito. O exame microscópico para bacilos de Koch foi negativo, até em material retirado por aspiração brônquica. A hemocultura foi positiva para *Br. melitensis*. O tratamento específico melhorou o estado e a radiografia mostrou campo clarificado.

DEGOY descreveu, em seus estudos, vários doentinhos com síndromes asmáticas curadas com vacinoterapia específica.

POSTON & THOMPSON referem um caso de meningite brucelosa em menina de 7 anos. Tivera, anteriormente, dores abdominais durante 6 semanas. Depois, súbitamente, sobreveio congestão de garganta, vômitos, e, com mais de 3 dias, violenta cefaléia frontal e sintomas meningíticos. A punção raqueana deu líquido com brucelas. Curou-se com vacina autógena.

Encontrou HARDWICK 8 casos de brucelose em crianças de 6 a 14 anos. Em todos a doença começara por ataque às vias aéreas superio-

res e temperatura elevada. Suores profusos, em 2 casos; outro, com fadiga acentuada. Não observou calafrios nem dores pelo corpo. Em todos a sôro-aglutinação e a prova intradérmica foram positivas.

Interessante é a observação de VALLEDOR & HERNANDEZ, de uma menina de 11 anos que se apresentou febril durante 5 dias, com poliadenia, abdômen e baço ligeiramente crescidos, língua saburrosa, rubefação da faringe, amígdalas aumentadas. Não tinha calafrios, nem suores e apresentava bom aspecto físico. Este estado durou 5 meses.

Em verdade, a brucelose infantil precisa ser mais esmiuçada, para melhor conhecimento da sua sintomatologia. Até agora, pelo visto, o diagnóstico não é nada fácil e deve-se pensar nela sempre que outras afecções possam ser afastadas ou quando a terapêutica não confirme diagnósticos aparentemente seguros, isto é, quando os enfermos não se curam com o tratamento apropriado ao diagnóstico firmado.

Nas crianças da 1.<sup>a</sup> infância, em face de sintomatologia enquadrável na brucelose, deve-se proceder como na sífilis: pesquisar a doença na genitora, porque a transmissão congênita é uma possibilidade. Convém não esquecer que o diagnóstico bacteriológico esbarra na dificuldade de execução da hemocultura, nem sempre viável pela recusa dos pais à punção venosa e na carência ou pobreza de anticorpos aglutinantes nessa idade. A prova alérgica pode prestar bons serviços, sobretudo quando se acompanha de reação geral e focal.

---

#### BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, E. D. & POHL, J. F.  
1931. Amer. J. Dis. Children, 42:1103-1108.
- ANGLE, F. E. & ALGIE, W. H.  
1939. J. Int. Med., 12:1189-1193.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 págs.
- CRISCUOLO, E. & Cols.  
1948. 2.º Congr. Inter-Amer. Bruc. Memórias não publicadas.
- CRUICKSHANK, J. C. & STEVENSON, G. A.  
1942. Brit. Med. J., 1(4242):522-523.
- CRUZ, F. M. DE LA  
1946. Bol. Col. Méd. Camaguey, 9(9):14-15.
- DEGOY, A. P. H.  
1948. Rev. Méd. Cordoba, 36:145-166.
- HARDWICK, C.  
1938. Proc. Royal Soc. Med., 31:353-370.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant Fever), 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HILL, O. W. & MONGER, R. H.  
1931. J. Amer. Med. Assoc., 97:176-177.

- HUBBARD, J. P.  
1932. J. Pediatrics, 1:464-469.
- MARIOTTE, C. O.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 169-185.
- MAUBECIN, R. A.  
1948. 2.º Congr. Inter. Amer. Bruc. Memórias não publicadas.
- PIANTONI, C. & COLS.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946:569-574.
- POSTON, M. A. & THOMASON, R. H.  
1936. Amer. J. Dis. Children, 52:904-906.
- ROCA, R. P.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 575-581.
- ROCA, R. P. & BARAJAS G., G.  
1945. Bol. Méd. Hosp. Inf., 127. Em Bol. Of. San. Panamer., 1947, 26:70.
- SEDGWICK, J. P. & LARSON, W. P.  
1915. Amer. J. Dis. Children, 10:197-200.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med., 4:238-259.
- VALLEDOR, R. G. & HERNANDEZ, A.  
1942. Bol. Soc. Cubana Ped., 14:76-78.
- WILLIAMSON, B. & GIBSON, A. J.  
1931. Brit. Med. Journal, 1:748-749.
-

## CAPÍTULO X

---

# Diagnóstico

### A — INTRODUÇÃO

Não há dúvida que o diagnóstico da brucelose apresenta dificuldade e, muitas vezes, exige do clínico discernimento e senso crítico. No capítulo da Patologia foi vista a universalidade de localizações do germe que traz, como decorrência, a possibilidade das alterações mais variadas no funcionamento dos órgãos ou sistemas atacados. De outro lado, foi visto que as brucelas representam o tipo ideal de parasito, isto é, instalam-se no organismo sem ameaçar-lhe a vida, mormente as do porco e do boi. Com isto as modificações provocadas são mais vezes pouco intensas mas persistentes, com a permanência do germe. Acrescente-se que as brucelas são do grupo piogênico, restando como infecção focal, provocando reações locais ou gerais, no ponto lesado ou com reflexos à distância. E mais ainda, que as alterações provocadas podem aparecer e desaparecer para reaparecerem tempos mais tarde.

Temos, assim, um complexo sintomático ou possibilidades sintomáticas tão grandes que se chegou a dizer que a brucelose não tem sintomas próprios porque pode ter todos. Neste particular muito se assemelha ela à sífilis cujo germe, tal como as brucelas, penetra nas células dos tecidos os mais diversos, onde é capaz de viver e restar perenemente enquanto durar a célula, e passar desta para outras.

Se muitas vezes a anamnese e uns tantos sintomas, como na forma febril, particularmente da brucelose de origem caprina, e certos detalhes de patologia regional permitem um diagnóstico clínico quase de certeza, em outras, que aliás representam a maioria, o diagnóstico é realmente difícil. Diante apenas de uma cefaléia, de uma dor de cadeiras, de uma perda de peso, de uma dispepsia, de uma síndrome nervosa, ou de outros sofrimentos análogos, durante meses e anos, sem perturbar gravemente a vida do paciente mas tornando desajustada sua permanência no meio social, a se queixar de males sem remédio (como acontece aos gotosos, aos reumáticos), o clínico achará dificuldades não pequenas para o diagnóstico, enquanto outras causas para explicar aqueles males não forem afastadas.

Passamos em revista, nos capítulos referentes às diversas formas ou localizações da brucelose, os sinais indicativos bastantes para levar à suspeita de sua existência ou para orientar o diagnóstico clínico. Decorrerá êste da visão conjunta dos fenômenos e das alterações apresentadas pelo caráter proteiforme dessa doença, que se mostra com aspectos os mais diversos, e não raro desnorteantes para o clínico. Particularmente interessante para êste, mormente pelas dificuldades diagnósticas

com que se exhibe na prática, é a forma crônica, aliás a mais freqüente em nosso meio.

Mais importam, no esmiuçar os sintomas e no desentranhar a suspeita de brucelose, a multidão das formas clínicas, a aberração dos sinais, o capricho da marcha do processo infectuoso, a irregularidade dos conjuntos sintomáticos, a multiplicidade dos sintomas, a freqüência de recidivas e a tendência à cronicidade. É justamente nesta abundância de aspectos a considerar que se mostra a argúcia clínica e se avanta a esta no sucesso diagnóstico.

A brucelose não poupa órgãos e aparelhos e se manifesta por lesões locais (ósseas, viscerais, cutâneas e mucosas) ou em processos generalizados. Em ambos há possibilidades de influência na reprodução, tornando inférteis ou interrompendo a gestação nas mulheres, pouco se sabendo a respeito do futuro das crianças que conseguem vir a termo.

A brucelose terá de invadir a prática clínica para se verificar bem até que ponto concorre ela com aquêles dois outros flagelos, tuberculose e sífilis, nos males prolongados de que sofrem muitas pessoas. Quando não se apura a etiologia, mais do que nunca o aforismo de Oswaldo Cruz *Causae aestimatio morbum soepe solvit* tem cabimento para o doente e para quem dêle cuida.

Assentado o conceito pluriforme da brucelose e sabendo-se das múltiplas possibilidades de contágio, da existência de formas a bem dizer silenciosas de penetração do germe, ou da forma protraída ou pouco ruidosa dos casos agudos, que na maioria das vêzes se tornam crônicos, e tendo em vista que as brucelas são mais molestas que provocadoras de doenças graves, fica-se na situação de pensar na brucelose em todos os casos sem etiologia bem definida ou determinada, como se deve pensar na sífilis e na tuberculose ou em outras causas.

Muitas vêzes uma anamnese bem conduzida descobre uma fase da vida pregressa, passada numa fazenda, em época recente ou remota, um hábito de beber leite cru, uma profissão ligada a contactos com carnes cruas ou produtos de matadouro, trato com animais e assim por diante. Apreciando a rigor, todo mundo está sujeito a se contaminar em qualquer tempo, mesmo afastadas aquelas possibilidades, porque o leite com que se preparam queijos não é, no Brasil, pasteurizado; as fôrmas das queijarias não são esterilizadas, a manteiga e o creme não são pasteurizados e, nem ao menos, êstes últimos são fermentados (o que facilitaria esterilização espontânea) e isto os inferioriza comercialmente; o nosso produtor de laticínios ignora essas conseqüências para sua indústria. Ajunte-se a multidão que vive em sítios e fazendas, manuseia o gado, cavalga até por esporte, cria galinhas e outros animais domésticos, acarícia cães e redistribui alimentos de origem animal, não pasteurizados.

Acrescente-se que, muitas vêzes, a localização do germe se faz em mais de um órgão ou aparelho e, então temos sinais múltiplos ou entrelaçados, resultantes dessa situação. Expliquemos: um paciente sofre de uma dermatose e uma síndrome neurastênia, ambas decorrentes da brucelose. A um clínico menos avisado a neurastenia preocuparia e a afecção cutânea seria passada aos cuidados do dermatologista. Em am-

bos os casos qualquer dêles não resolveria a situação se não lhe ocorresse a hipótese de brucelose. Felizmente, no caso desta, melhor e mais ricamente do que para a tuberculose e a sífilis, existem provas diagnósticas que permitem fácil confirmação de suspeitas clínicas.

Tal qual sucede com a tuberculose e a sífilis, a brucelose implanta-se permanentemente no organismo, localiza-se nos mais diversos órgãos, promove as mais diferentes alterações e exhibe quadros clínicos os mais variados. Análoga a essas outras duas infecções, provoca lesões tróficas influentes na nutrição e nos diversos aparelhos.

Com certa facilidade descobre-se a brucelose nas formas agudas, nas quais a febre ou a febrícula, os suores abundantes e a adinamia, as dores e alterações neuropsíquicas levam à suspeita clínica de doença infectuosa, que as provas de laboratório ajudam a diagnosticar etiologicamente. Nessa forma a brucelose pode confundir-se com muitas doenças infectuosas: febre tifóide, reumatismo articular agudo, septicemias, gripe, impaludismo, agranulocitose, tularemia, endocardite e, particularmente, a tuberculose. Com esta última, o diagnóstico clínico diferencial é quase impossível em certos casos, sem as provas complementares de laboratório.

Contudo, bem apurados os sintomas presentes, sempre se encontram elementos ou caracteres mais frisantes, peculiares a cada um daqueles males, para se pender a qualquer dêles. Na febre tifóide, por exemplo, a febre é mais elevada ou irregular, conforme o estado da evolução, as perturbações cardíacas e a falta de correlação entre temperatura e pulso são mais freqüentes, a intoxicação supera a adinamia, a leucopenia e a esplenomegalia são mais acentuadas; no reumatismo, as lesões articulares e cardíacas são predominantes; na malária, a febre obedece ao tipo do hematozoário em ação, e assim por diante.

Ninguém se fie, entretanto, no fato de qualquer delas não poder confundir-se com a brucelose aguda e vice-versa, que ostenta sintomas parciais ou totais de cada uma. Há que considerar, ainda, a possibilidade de infecções associadas, com as doenças acima ou com outras mais, modificando os sintomas de jeito a despistar o diagnóstico ou a perturbá-lo a ponto de torná-lo duvidoso. Imaginemos uma tuberculose de forma tórpida, na qual se enxerta uma brucelose, ou vice-versa. Os sinais clínicos e radiológicos confundem-se, as provas da tuberculina e as de laboratório para brucelose são tôdas positivas. Em presença dos dois males o espírito do clínico se debaterá na dúvida para definir a qual delas cabem os sintomas observados e qual o caminho certo para a terapêutica, ainda porque a orientação do tratamento é completamente diferente para as duas doenças. Podia-se apelar para a prova da cultura, que, se positiva, demonstra a presença das brucelas no sangue circulante, tirando as dúvidas, mas nem sempre esta prova é positiva.

Se a diferença é relativamente fácil na forma aguda ou subaguda, em que estão presentes quase sempre a febre e os outros sinais componentes dessa forma clínica, outro tanto não acontece na forma crônica. Esta não é bem conhecida e está mal delineada; seu conheci-

mento apenas começa a esclarecer-se. Com efeito, a forma crônica é a forma normal ou pelo menos a mais freqüente da doença em nosso meio e nos capítulos anteriores acentuamo-lo reiteradas vêzes. Quem se aprofundar no estudo dessa curiosa doença, ou perlustrar os capítulos anteriores ficará compreendendo os motivos da predominância dessa forma crônica ou das diversas formas clínicas, circunscritas a um ou mais órgãos, aparelhos ou departamentos orgânicos. Só assim será capaz, não de diagnosticar clinicamente a brucelose, porque isto é, a bem dizer, impossível apenas com o jôgo dos sintomas observados, mas de pensar nela, o que é meio caminho para o diagnóstico. O laboratório se encarregará do resto e, quase sempre, com inteiro êxito, felizmente para a clínica.

Muito interessante, a propósito da combinação dos critérios clínico e laboratorial no diagnóstico da brucelose, é o trabalho de GRIGGS. Tendo tido oportunidade de lidar com um grande número de doentes, muitos dêles com brucelose crônica, declara que, evidentemente, o diagnóstico emerge da combinação de dados, em qualquer caso, e não de um ou dois critérios isolados. Dez critérios básicos foram seguidos nos seus casos; matematicamente, segundo o autor, os 10 critérios poderiam ocorrer em 967 combinações diferentes de 3 ou mais. Em uma série de 100, apenas 37 combinações eram capazes de levar ao diagnóstico. Em 60% o diagnóstico pôde ser feito com as seguintes 10 combinações, em ordem de sua freqüência:

1 — Histórico (sintomatologia, duração, fonte de infecção e evolução da doença), prova intradérmica, febre, exclusão de outras doenças e resposta favorável ao tratamento com vacinas.

2 — Histórico, prova intradérmica, febre, exclusão de outras doenças, quadro hematológico (relativa linfocitose, às vêzes ativa e absoluta; relativa leucopenia; anemia discreta com índice colorimétrico elevado), resposta à vacinoterapia.

3 — Histórico, prova intradérmica, quadro hematológico e resposta à vacinoterapia.

4 — Histórico, prova intradérmica, exclusão de outras doenças, quadro hematológico, prova opsonocitofágica, resposta à vacinoterapia.

5 — Histórico, prova intradérmica, febre, resposta à vacinoterapia.

6 — Histórico, prova intradérmica, febre, exclusão de outras doenças, quadro hematológico, prova opsonocitofágica e resposta à vacinoterapia.

7 — Histórico, prova intradérmica, febre, exclusão de outras doenças, prova opsonocitofágica e resposta à vacinoterapia.

8 — Histórico, prova intradérmica, febre, quadro hematológico, prova opsonocitofágica.

9 — Histórico, prova intradérmica, febre, quadro hematológico e resposta à vacinoterapia.

10 — Histórico, prova intradérmica, exclusão de outras doenças e resposta à vacinoterapia.

Poderíamos resumir a marcha a seguir para o diagnóstico da brucelose no quadro adiante mas convém não esquecer que as provas de laboratório, contanto sejam bastante importantes, não podem ser consideradas isoladamente. A clínica deve sempre acompanhar a presença duma ou diversas provas diagnósticas positivas.

A imensa literatura a respeito do diagnóstico da brucelose impede que este capítulo seja detalhadamente tratado mesmo porque fugiria ao escopo desta obra que é o de servir de orientação prática para os clínicos e os laboratoristas clínicos. Por isto, serão vistos os recursos diagnósticos atualmente levados em consideração pelos especialistas em brucelose do mundo inteiro, não sendo feita revisão de métodos menos utilizados, a não ser, em alguns casos, como simples referência.

<i>Diagnóstico clínico</i>	Sintomas e evolução clínica
	Sinais físicos
	Epidemiologia
<i>Diagnóstico de laboratório</i>	Isolamento de brucelas
	Prova de aglutinação
	Prova intradérmica
	Prova opsonocitofágica
	Prova de fixação em superfície de papel de filtro
	Prova de fixação de complemento
	Prova de perda do poder bactericida do sangue
Outras provas	

## B — DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Embora repetindo o que já foi dito anteriormente, muito se tem falado a respeito do critério a ser considerado para o diagnóstico clínico da brucelose.

Inicialmente, esbarra-se com a discussão sobre a brucelose aguda e a brucelose crônica. Em todo caso, parece mais ou menos estabelecido que duas formas da doença humana são observadas:

- a) *Brucelose aguda*: febre aguda, de duração limitada, seguida de cura aparente;
- b) *Brucelose crônica*: doença prolongada, caracterizada por períodos de exacerbação.

É claro que muitas vezes a invasão das brucelas pode ser insidiosa, tornando-se a doença prolongada; também os germes podem permanecer por muito tempo no organismo sem provocar manifestações clínicas. Conforme foi assinalado anteriormente, ainda neste ponto, a

semelhança da brucelose com a tuberculose e a sífilis, permite pensar nas diferenças entre infecção e doença.

A chamada brucelose aguda é de diagnóstico clínico mais fácil quer pela sintomatologia apresentada quer pelos comemorativos. O mesmo não acontece com a forma crônica. No dizer de SPINK esta forma é verdadeiramente decepcionante. O quadro clínico é caracterizado frequentemente por uma multiplicidade de sofrimentos vagos e mutáveis, de tal forma que não raro o paciente fica atacado de uma psiconeurose; não existe, pois, um sintoma característico. Nas formas crônicas, além disso, o isolamento do germe é um problema, pela raridade de sua presença no sangue.

A epidemiologia, muitas vezes, auxilia enormemente o diagnóstico da brucelose, conforme foi exposto no capítulo respectivo.

Embora a brucelose seja a doença dos mil nomes e que "se caracteriza pela ausência de sintoma característico", certos departamentos do organismo parecem particularmente mais atacados e, por isso, alguns sintomas podem ser considerados mais frequentes.

PACHECO & VEIGA, em 416 casos de brucelose, diagnosticados por provas de aglutinação e intradérmica, além da clínica, verificaram que, em 89% dos casos, não existia febre. As manifestações nervosas e digestivas predominavam: algias diversas, adinamia, náuseas e diarreia (Fig. 85).

SPINK relaciona os seguintes sintomas e alterações somáticas mais encontradiços na brucelose, os quais são importantes para o nosso meio porque observados em 94 casos de infecção por *Br. abortus*.

<i>Sintomas</i>	<i>%</i>	<i>Alterações somáticas</i>	<i>%</i>
Fraqueza .....	91,5	Febre .....	97,9
Suores .....	76,5	Linfadenopatia .....	45,7
Calafrios .....	75,5	Baço palpável .....	44,7
Anorexia .....	70,0	Fígado palpável .....	25,5
Dores generalizadas .....	69,0	Hiperestesia abdominal .....	8,5
Dor de cabeça .....	63,8	Lesões cutâneas .....	8,5
Contraturas espasmódicas .....	56,3	Alterações neuropatológicas .....	7,5
Nervosismo .....	52,0	Alterações cardíacas .....	7,5
Dores nas costas .....	51,0	Hiperestesia da coluna vertebral .....	6,4
Dores nas articulações .....	43,1	Alterações no fundo do olho .....	3,2
Depressão .....	40,0	Orquite .....	2,1
Insônia .....	38,3	Hiperestesia da articulação do joelho .....	2,1
Dor na nuca .....	36,1	Icterícia .....	1,0
Tosse .....	30,0	Hiperestesia da região sacro-iliaca .....	1,0
Dor abdominal .....	21,0		
Obstipação .....	11,6		
Perturbações visuais .....	11,6		
Náuseas e vômitos .....	9,6		
Diarreia .....	9,6		
Perturbações gênito-urinárias ..	7,4		
Nevralgia .....	5,3		

Diz EISELE que enquanto na forma aguda há certa facilidade diagnóstica, na forma crônica faltam sintomas precisos ou mesmo quaisquer sintomas, donde o cepticismo de certo número de clínicos em acei-

tar o diagnóstico ou os resultados de provas de laboratório. Muitas vezes, apenas comparece a fadiga, a fraqueza, dificultando qualquer trabalho. Outras, é uma sensação de mal-estar, de insatisfação. Ora dores difusas, mal localizadas, ou em local determinado. Outras vezes, são sintomas abdominais que chegam a indicar intervenção cirúrgica. Anorexia com perda de peso é quase completa. Obstipação freqüente; às vezes diarréia. Estado emocional, falta de coragem, depressão. Irritabilidade, agitação, estado de apreensão; insônias freqüentes. Tremores e cefaléia persistente. Tudo isto torna o paciente incapacitado para viver em boas condições, por meses e anos.

Convém acentuar mais uma vez que devem ser excluídos os seguintes estados mórbidos confundíveis com a brucelose: tuberculose, sífilis, reumatismo, malária e amebiose; também hiper e hipotiroidismo, sinusites, alergia, colecistite, hiperglicemia e neuroses, desde que motivadas por outras causas.

Não insistiremos nos aspectos do diagnóstico clínico porque em diversos capítulos foram os mesmos apresentados.

---

### C — DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO

O diagnóstico de laboratório da brucelose tem sido submetido às mais calorosas controvérsias. A falta de padronização das provas, resultante da evolução dos estudos em curso, concorre para aumentar a confusão. Por esses motivos procuraremos assinalar apenas as técnicas mais recentes e aquelas que mereceram a consagração da maioria dos especialistas em brucelose, nas últimas reuniões do Grupo de Peritos da Organização Mundial de Saúde.

As provas de laboratório podem ser classificadas nos seguintes grupos:

#### *Provas específicas para brucelose*

- 1 — *Isolamento de brucelas* do paciente, por cultura ou por inoculação em animal:
  - I — Sangue:
    - Sangue venoso
    - Sangue arterial, após injeção de epinefrina;
  - II — Gânglios linfáticos:
    - Biópsia
    - Aspiração
  - III — Aspiração da medula óssea
  - IV — Peças cirúrgicas e de necrópsia
  - V — Fezes
  - VI — Urina
  - VII — Suor
  - VIII — Outros líquidos orgânicos e materiais diversos

2 — *Prova de aglutinação*

## I — Com sôro sanguíneo:

- Em tubo
- Em lâmina

## II — Com sangue total

- 3 — *Prova intradérmica*
- 4 — *Prova opsonocitofágica*
- 5 — *Prova de fixação de complemento*
- 6 — *Prova de perda do poder bactericida do sangue*
- 7 — *Prova de precipitação*
- 8 — *Provas de floculação*
- 9 — *Provas de reação à injeção de antígeno bruceloso*
- 10 — *Prova de fixação em superfície de papel de filtro*

*Provas inespecíficas*

- 1 — Hemograma e contagem de glóbulos
- 2 — Sedimentação sanguínea

---

## 1. ISOLAMENTO DE BRUCELAS

### 1-A — ISOLAMENTO EM MEIOS DE CULTURA

Desde os primeiros trabalhos de BRUCE e de BANG, o cultivo de brucelas a partir de materiais os mais diversos tem sido objeto de estudos intensos. O assunto está em plena evolução. A medida que se aperfeiçoam os métodos, mais facilmente se conseguem isolar os germes causadores da brucelose; particularmente a *Br. abortus*, a de cultivo inicial mais difícil, vai sendo cada vez mais encontrada nos laboratórios.

É possível que a crescente melhoria dos métodos de isolamento de brucelas dê origem a um problema bastante sério que, até dois ou três anos absolutamente não constituía nem motivo para cogitações. Trata-se do isolamento de brucelas de indivíduos sem quaisquer sintomas de brucelose e sem outras provas diagnósticas positivas. Em suma, um novo tipo de portadores de germes. Foram os trabalhos de PICKETT & NELSON que parecem ter revelado, pela primeira vez, a possibilidade de isolarem-se brucelas de indivíduos clinicamente normais. Conforme assinala SPINK, é impossível estabelecer, no momento, a significação desses achados de PICKETT & NELSON, já que a confirmação dos mesmos ainda não foi feita por outros autores. Não deixa de ser extraordinário, contudo, que brucelas não lisas tenham sido isoladas do sangue de pacientes febricitantes que provavelmente não tinham brucelose, e, ainda do sangue de 100 pessoas normais. A observação de PICKETT & NELSON não é totalmente nova pois HUDDLESON & MUNGER já haviam observado

culturas positivas em indivíduos que nunca apresentaram sintomas de brucelose; estes autores então declararam: “uma pessoa pode estar infectada com brucela e nunca apresentar sintomas clínicos da doença”.

O isolamento de brucelas de pacientes suspeitos de brucelose, pode ser feito a partir de cultivo direto em meios de cultura adequados e por inoculação em animais sensíveis, inclusive embriões de pinto. É esse o meio mais satisfatório de estabelecer o diagnóstico e todos os esforços devem ser feitos, com hemoculturas repetidas, por exemplo, para atingir esse fim. Os resultados das hemoculturas, entretanto, não têm sido uniformes. Quando a infecção é devida a *Br. melitensis*, tem sido possível, freqüentemente, mais cedo ou mais tarde, descobrir o germe infectante, se o sangue é colhido durante os períodos febris da doença e, particularmente, quando a temperatura é mais elevada. Por isso, os pesquisadores que trabalham em zonas de infecção por essa espécie dão grande importância ao isolamento dos germes, para firmar o diagnóstico. Apesar disso, Tovar declara que a porcentagem de positividade das hemoculturas diminui em relação com a cronicidade da doença e a negatividade das mesmas, num caso clínico determinado, não exclui a possibilidade de existência de brucelas. Na infecção por *Br. abortus*, o isolamento não é tão fácil; nem sempre os germes são isolados.

Apesar dos progressos feitos, ainda tem pleno cabimento, principalmente para o isolamento de *Br. abortus*, a frase de HARRIS:

“A cultura de brucelas exige métodos muito especiais — meios especiais, condições especiais, condições especiais de aerobiose e paciência especial”.

MOLINELLI e colaboradores, mesmo examinando pacientes com formas febris em plena atividade, tiveram que repetir as hemoculturas até 10 vezes, para conseguir resultados positivos, em alguns casos.

Para o bom êxito do isolamento é necessário não só dispor de meios de cultura adequados como, também, utilizar técnicas apropriadas, conforme o material utilizado (sangue, gânglios linfáticos, medula óssea, etc.), as condições em que o mesmo se encontra e os recursos de que dispõe o laboratório. Por isso, além das técnicas mais aperfeiçoadas, descreveremos, em alguns pontos, modificações simples que permitirão os trabalhos mesmo em laboratórios dotados de menores recursos.

#### I — SANGUE \*

No tocante às hemoculturas para brucelas, além das investigações mais recentes sobre o assunto, levamos em conta as pesquisas de THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA que efetuaram, recentemente, mais de mil hemoculturas, comparando diversos meios e técnicas, no sentido de isolar *Br. abortus*, justamente a de cultivo mais difícil.

---

\* Parte do tópico relativo às “Hemoculturas para brucelas” foi publicada em “Brasil-Médico”, 1954, 68(32-52):451-464, por MILTON THIAGO DE MELLO e NÍBER PAZ M. SILVA.

No capítulo referente à Bacteriologia da brucelose foram discutidos muitos aspectos da evolução dos meios de cultura aconselháveis para o cultivo de brucelas. Focalizaremos, primeiramente, os meios recomendados e aceitos pela maioria dos pesquisadores em brucelose, bem como detalhes de técnica que facilitarão o trabalho no assunto. A seguir, a maneira de colher o sangue e as técnicas para o isolamento.

#### MEIOS DE CULTURA

*Meio de Albimi* — Atualmente é o meio que reúne as preferências da maioria dos especialistas em brucelose. É desidratado, preparado por “Albimi Laboratories”, Brooklin 15, N. York. Pode ser usado o meio sólido (“Albimi Brucella Agar”) ou o líquido (“Albimi Brucella Broth”).

A composição e o modo de preparar são os seguintes:

Meio sólido: Peptona M .....	20,0 g
Dextrose .....	1,0 g
Autolisado de levedo .....	2,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Bi-sulfito de sódio .....	0,1 g
Agar .....	15,0 g
pH 7.0	

Modo de preparar: Suspender 43 gramas em 1 litro água destilada; deixar embeber durante 2 a 3 minutos; aquecer lentamente até ferver, para dissolver o meio; distribuir e esterilizar durante 20 minutos a 121°C.

Meio líquido: Igual ao anterior, sem agar. Modo de preparar: Dissolver 28 gramas em 1 litro água destilada; distribuir e esterilizar durante 20 minutos a 121°C.

*Meios com tripticase* — As três espécies de brucelas crescem muito bem nesses meios, principalmente quando adicionados de fitona, constituindo o meio de tripticase-soja (“Trypticase soy”). São meios desidratados e preparados por “Baltimore Biological Laboratory Incorporated”, 1640 Gorsuch Avenue, Baltimore 18, Maryland.

A composição e o modo de preparar são os seguintes:

Meio sólido (“trypticase soy agar”):

Tripticase .....	15,0 g
Fitona .....	5,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Agar .....	15,0 g
pH 7.3	

Modo de preparar: Suspender 40 gramas de pó em um litro água destilada, deixar embeber durante 5 minutos misturando constantemente; aquecer brandamente agitando de vez em quando e ferver durante 1

ou 2 minutos até dissolução completa; distribuir e esterilizar a 118°-121°C durante 15 minutos (tubos) e por maior tempo se os recipientes forem grandes.

Meio líquido ("trypticase soy broth"):

Tripticase .....	17,0 g
Fitona .....	3,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Fosfato di-potássico .....	2,5 g
Dextrose .....	2,5 g
pH 7.3.	

Modo de preparar: Suspender 30,0 gramas do pó em 1 litro água destilada; agitar e aquecer brandamente até dissolução completa; distribuir e autoclavar a 118°-121°C durante 15 minutos. Conservar à temperatura ambiente e usar antes de 30 dias de preparado (recomendação idêntica para o meio sólido).

*Meios de triptose* — Nem sempre dão bons resultados, principalmente os líquidos. São desidratados e preparados por "Difco Laboratories Incorporated", Detroit, Michigan. HUDDLESON e seus colaboradores recomendam muito o meio de bacto-triptose agar ("Bacto-tryptose agar") para isolamento, cultivo e diferenciação de brucelas. A composição e o modo de preparar são os seguintes:

Bacto-triptose .....	20,0 g
Dextrose .....	1,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Agar .....	15,0 g

Modo de preparar: Suspender 41,0 gramas de bacto-triptose agar em 1 litro água destilada fria e aquecer até fervura, para completa dissolução; distribuir e esterilizar em autoclave durante 15 minutos a 121°C; a reação final do meio deverá ser de pH 6.9.

*Outros meios* — Uma infinidade de outros meios tem sido proposta para o isolamento de brucelas. Dentre êles convém referir, como um dos mais práticos e fáceis de preparar em qualquer laboratório, o feito com infuso de carne de vitela, adicionado de 5% a 10% de líquido ascítico ou de sôro normal de cavalo; deve ser glicosado a 1% e a peptona de boa qualidade, por exemplo a peptona bacteriológica Parke, Davis. Convém, igualmente, adicionar tiamina, embora nem sempre isto seja necessário. Diversos autores aconselham, também, juntar 0.01% de cistina.

Muito interessantes são as recentes observações de HUDDLESON de que certas amostras de *Br. abortus*, que exigem CO<sub>2</sub>, são mais facilmente isoladas do sangue se ao meio é adicionado um extrato de brucelas desintegradas com ultra-som. O mesmo efeito é obtido com estafilococos e salmonelas; êsse fator de crescimento pode ser demonstrado em placas (Fig. 134-A).

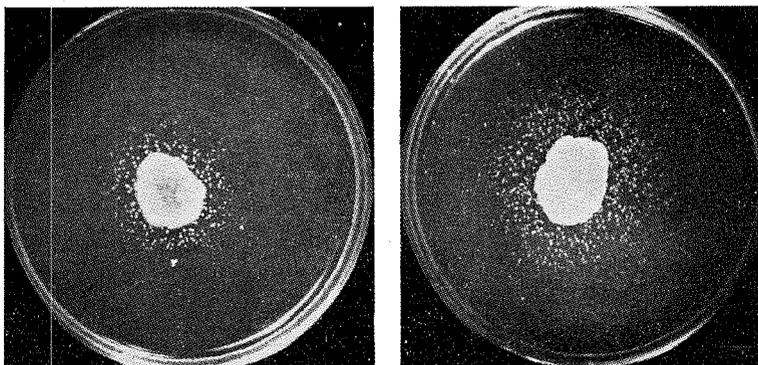


Fig. 134-A — Crescimento de colônias de *Br. abortus*, tipo II, em tórno de crescimento de *Br. suis* (esquerda) e *Micrococcus aureus* (direita). Segundo HUDDLESON.

#### COLHEITA DO SANGUE

Quase sempre o sangue colhido é o venoso, pela facilidade de obtenção. Contudo, em alguns casos, é feita a coleta do sangue arterial, após a injeção de epinefrina, para observar-se a chamada “contração esplênica”.

A quantidade a colher pode ser de 5 a 20 ml havendo quem aconselhe quantidades maiores.

Para a retirada do sangue venoso usam-se as precauções comuns de assepsia do local da colheita (dobra do cotovelo). O sangue pode ser colhido com seringa, com vênulas ou diretamente para frascos que contêm meio de cultura.

**COLHEITA EM CIRCUITO FECHADO** — O mais prático, evidentemente, quando se pode dispor de tal recurso, é a colheita diretamente para o frasco onde está o meio de cultura, sem nenhuma outra manipulação, sem possibilidade de contaminação do material. Atualmente, frascos desse tipo são preparados pela “Baltimore Biological Laboratories, Inc.”, para Becton, Dickinson & Co., Rutherford, N. Jersey. Têm o nome de “B-D Vacutainer Culture Bottle”. O meio é composto de caldo tripticase-soja; a atmosfera já contém a proporção de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) adequada e pressão reduzida para facilitar a aspiração; uma tubuladura terminada por agulha para punção venosa completa o aparelho. Segundo CONNER & MALLERY, este sistema fornece bons resultados para o isolamento de germes exigentes, inclusive *Br. abortus* (Fig. 135).

**VÊNULA** — O melhor coletor de sangue, principalmente quando este deverá ser enviado a distância, é a vênula. Esta pode ser adquirida no comércio, com os nomes de Vênula (Behring) ou Sângula (Glasco), ou feita em laboratório.

As vênulas do comércio apresentam, quase sempre, anticoagulante e nelas é rarefeito o ar. Quando a veia é puncionada, uma ligeira inclinação da agulha faz com que o sangue seja aspirado para o interior

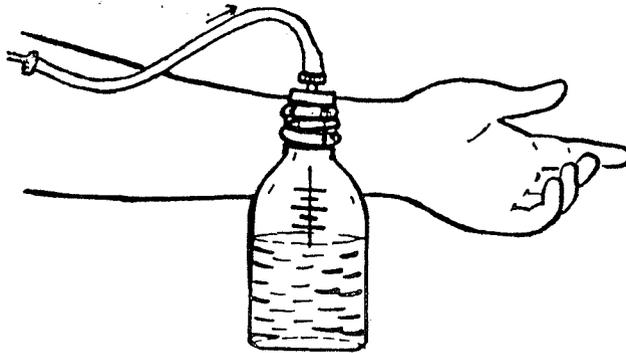


Fig. 135 — Colheita de sangue em circuito fechado. Adaptado de CONNER & MALLERY, segundo THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA.

da vênula (Fig. 136). Este sistema dá muito bons resultados quando as coletas são numerosas, dispensando o emprêgo de seringas e com a vantagem de poder o sangue ser conservado durante vários dias no próprio tubo da coleta.

As instruções fornecidas pelo serviço de brucelose do Instituto Malbrán, de Buenos Aires, organizadas por MOLINELLI & Cols., são bastan-

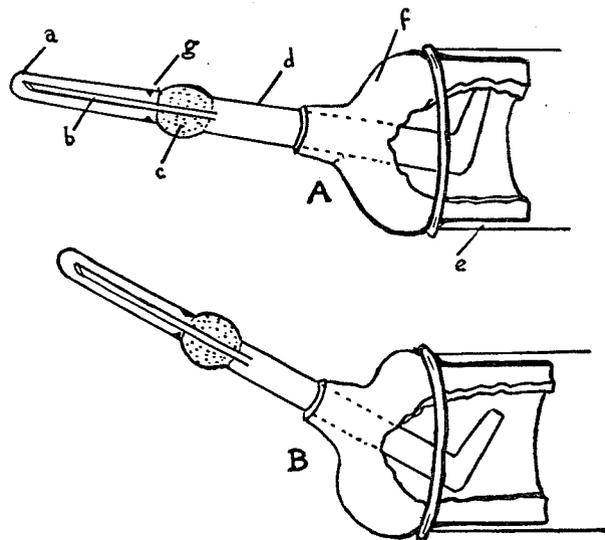


Fig. 136 — Esquema de funcionamento da vênula. A: fechada; B: em posição para coletar o sangue. a-tubo protetor; b-agulha; c-soldadura da agulha; d-tubo de vidro; e-corpo da vênula; f-rólha de borracha; g-ponto em que o tubo protetor deve ser serrado. Adaptado de Ithurrat, segundo THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA.

te explícitas e, por isto, as transcrevemos, na parte relativa aos pedidos de hemoculturas:

*“Pedido de hemocultura — Senhor Diretor do Instituto Bacteriológico: De acôrdo com o solicitado pela Secção de Estudos Epidemiológicos, remeto uma vênula n.º ... com sangue pertencente a ..... (nome completo do enfermo) ..... colhido no dia ... de ..... de 19..., às ... horas, na ocasião em que a temperatura axilar (ou retal) do paciente era de ...°C, a fim de investigar .....*”

Instruções relativas a êsse pedido:

“Senhor Colega. O desenvolvimento de brucelas exige, normalmente, um período de mais ou menos duas semanas de permanência na estufa a 37°C, para seu isolamento inicial, de modo que qualquer contaminação do material semeado, com germes banais do meio ambiente ou da pele, pode fazer fracassar a tentativa de cultura. Portanto, para evitar a dita contaminação e obter um material em boas condições, será conveniente que o profissional que recolher a amostra observe as precauções seguintes: *Antes da extração do material:* a) Eliminar as correntes de ar no ambiente em que se opera; b) desinfetar com álcool o tubo de vidro que protege a agulha da vênula e a lima que será utilizada para seccioná-lo, ou então, passar ambos duas ou três vezes numa chama de álcool; c) fazer com álcool iodado uma antisepsia prévia abundante da pele do paciente e dos dedos do operador. *Depois da extração do material:* d) quando tiverem sido empregadas as vênulas n.º 0 ou n.º 7 (sem anticoagulante), esperar que tenha se processado totalmente a coagulação do sangue extraído, antes de mover a vênula. *Notas importantes:* 1 — O uso da vênula pode estender-se aos casos em que se julga necessária a realização do estudo físico-químico, citológico e microbiológico (microscopia, cultivo e inoculação) de líquidos normais ou patológicos (exsudatos ou transudatos), para os quais deve ser empregada a vênula n.º 3 (com solução anti-coagulante de citrato de sódio). Há casos nos quais a colheita do material pode ser feita diretamente com a vênula mas, em geral, é mais prático recolher previamente tais líquidos num recipiente estéril e depois transvasá-los para a vênula, seja aspirando-os diretamente com a agulha desta, seja injetando na vênula através de sua rôlha de borracha (préviamente desinfetada com tintura de iodo) com a mesma agulha adaptada à seringa (esta esterilizada em autoclave) com a qual foi efetuada a extração. 2 — O remetente não deve esquecer, em caso algum, de calçar abundantemente com papel, algodão ou gaze, tanto o frasco de vidro como o seu recipiente metálico a fim de impedir a quebra da vênula durante seu transporte ulterior”.

**COLETORES ESPECIAIS** — Diversos tipos de aparelhos, improvisados ou não, podem ser utilizados para a colheita de sangue.

Durante algum tempo THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA usaram na rotina de hemoculturas para isolamento de *Br. abortus*, um tipo especial de coletor improvisado, fácil de preparar em qualquer laboratório e que dá bons resultados. Num tubo de ensaio de 18 x 150 mm coloca-se 1 ml de solução de citrato de sódio a 5% ou outro anticoagulante. No tubo é marcada externamente a capacidade desejada, por exemplo, 15 ml. Uma rôlha de borracha, do tipo usado em frascos de plasma, é adaptada justa à boca do tubo. Uma agulha apropriada para punção ve-

nosa é introduzida previamente através da rôlha, ficando prês a esta pelo canhão (a agulha também pode ser adaptada a um tubo de borracha, sendo êste o que penetra na rôlha). No outro orifício da rôlha adapta-se uma tubuladura qualquer, tendo um chumaço de algodão, e que vai servir para a saída do ar durante a coleta (uma peça intermediária para seringa, por exemplo). A extremidade livre da agulha é coberta com o protetor metálico e êste, por sua vez, com pequeno tubo de vidro (Fig. 137). O conjunto é convenientemente protegido com papel de filtro e gaze, e esterilizado no autoclave, em posição vertical. Dezenas dêsse coletores improvisados podem ser preparados duma só vez. No momento de usar, basta remover a proteção de papel de filtro e gaze, retirar os tubos de vidro e metálico protetores da agulha e introduzir esta na veia. O vácuo é desnecessário porque a própria pressão do sangue na veia convenientemente apertada por um garrote, como nas coletas com seringas, é suficiente para fazer com que êle corra livremente para o interior do tubo; êste não deve ficar em posição horizontal, já que o sangue deve correr, em parte, por gravidade e, também, para que a solução anticoagulante não molhe a rôlha, o que poderia obstruir o tubo de saída do ar. Como não é feita aspiração, a agulha não deve ser muito fina. Atingindo o sangue a marca externa do tubo, retira-se a agulha da veia, colocam-se os tubos protetores, o de vidro e o metálico, e procede-se à mistura do sangue com o anticoagulante, por meio de movimentos de rotação do tubo. Se houver receio de os tubos virarem durante o transporte para o laboratório, a rôlha pode ser substituída por outra de borracha, não perfurada, e previamente esterilizada em autoclave.

**SERINGAS** — A coleta de sangue por meio de seringas apresenta o inconveniente de exigir diversas manipulações, com a possibilidade de contaminar o material pelos germes do ar. Isto porque, ao contrário das técnicas precedentes, não é possível dispor, com elas, dum circuito completamente fechado. Além disso, quando muitas coletas devem ser feitas, é necessário um grande número de seringas, tôdas esterilizadas em autoclave, numa embalagem conveniente (quase sempre no interior de um tubo de vidro grosso). Em todo caso, para colheitas isoladas e tomando-se precauções especiais para evitar contaminação, conseguem-se bons resultados. Um dos cuidados consiste em deixar o sangue refluir na seringa; não aspirar o sangue. A seringa já pode conter o anticoagulante estéril, que é aspirado imediatamente antes da punção venosa (mais uma operação possibilitando contaminações). Em seguida o sangue é

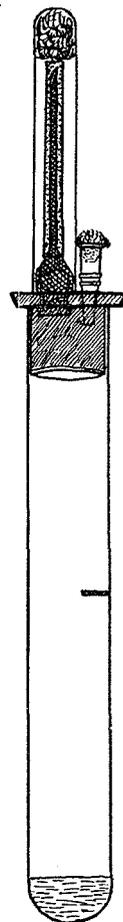


Fig. 137 — Esquema dum coletor de sangue, improvisado. Segundo THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA.



passado para o recipiente com o meio de cultura ou para um tubo, onde será conservado até a semeadura.

**ANTICOAGULANTES** — Em geral, o sangue para hemoculturas deve ser colhido em anticoagulante contido na própria seringa ou no recipiente para o qual será transvasado. O meio de cultura é, muitas vezes, provido do anticoagulante.

Quando não se usa anticoagulante na seringa, o sangue é passado desta para um tubo que o contenha; o que quase sempre se emprega é o citrato de sódio; também podem ser usados o oxalato de potássio, o "liquoid", a heparina e outros.

Usa-se o citrato de sódio dissolvido em solução salina fisiológica, na proporção de 2% a 4% ou mais; assim, por exemplo, 1 ml de solução a 5% para 10 ml de sangue. Se os tubos são preparados em grandes quantidades e com antecedência, a água evapora-se e ficam somente os cristais no fundo, o que não prejudica, para os fins em vista. É preferível, contudo, fazer com que os cristais se distribuam mais ou menos uniformemente pelas paredes.

SPINK & ANDERSON, citando HALL, julgam que as brucelas não sobrevivem por mais de 4 horas, quando o sangue citratado é incubado a 37°C; se a mistura fôr adicionada a meios de cultura, não se verifica o mesmo, a essa temperatura. Segundo SHAFFER, esta noção é errônea, pois as brucelas desenvolvem-se tão bem no simples sangue citratado como naquele adicionado a meios de cultura, o que está de acôrdo com as observações de CASTAÑEDA & Cols. Na geladeira, as brucelas mantêm-se viáveis, em sangue citratado, por vários meses, conforme o demonstraram SPINK & ANDERSON. ITHURRAT & Cols. conseguiram isolar brucelas de sangue colhido havia 4 anos e conservado numa vênula com citrato, na geladeira. Daí o perigo das transfusões por meio de bancos de sangue, desde que os doadores não sejam devidamente examinados quanto à possibilidade de brucelose; para o fato chamaram a atenção, entre outros, SPINK & ANDERSON, e PACHECO, embora os primeiros não julgassem isto muito provável.

#### TÉCNICAS PARA O ISOLAMENTO

Vários destinos pode ter o sangue colhido, conforme a técnica a seguir. É preferível transvasá-lo diretamente para o meio de cultura, daí a vantagem dos frascos que permitem a colheita em circuito fechado.

**CULTIVO COMUM** — Pode ser seguida a técnica que HUDDLESON aconselha: Preparar um meio composto de 2% de bactotriptose, 0,5% de cloreto de sódio e 1% de citrato de sódio; distribuir no volume de 20 cm<sup>3</sup> em frascos de capacidade para 50 ml, fechados com rôlhas de borracha; êstes são autoclavados durante 15 minutos a 121°C; em seguida, adicionar através da rôlha, por meio de agulha, uma quantidade de gás carbônico que substitua aproximadamente 10% da atmosfera normal no interior do frasco. Introduzir, através da rôlha, 2 a 5 ml de sangue do paciente, agitar bem o frasco e incubar a 37°C, fazendo repiques pe-riódicos para meios sólidos, de 4 em 4 dias.

**CONTAMINAÇÕES** — Após a colheita, um dos principais problemas a resolver nas hemoculturas é o das contaminações. Realmente, embora todos os requisitos tenham sido seguidos para a colheita do sangue, frequentemente os meios de cultura aparecem contaminados por germes banais. Estes podem ser originários da própria pele; por isso, a solução antisséptica, geralmente a tintura de iodo, deve ficar em contacto com a pele durante algum tempo antes e, em seguida, retirado o excesso com álcool. Outra causa de contaminações é a presença no próprio sangue, de germes banais, de infecção secundária, os chamados "microbes de sortie" de NICOLLE, que surgem sobretudo durante a digestão e nos estados pré-agônicos. Também não devem ser esquecidos os germes do ar que podem penetrar nos frascos de hemocultura durante a inoculação.

As bactérias banais, crescendo vigorosa e rapidamente nos meios bastante ricos destinados ao isolamento de brucelas, impedem o crescimento destas, que são muito vagarosas no seu desenvolvimento. BURDORFF & HUNTER verificaram contaminações em cerca de 25% dos 2.287 sangues cujos coágulos foram semeados para isolamento de brucelas; nos restantes, não contaminados, conseguiram isolamento em 1,33% dos casos (23 culturas em 1.720 amostras, sendo 20 *Br. abortus* e 3 *Br. suis*).

Para evitar os inconvenientes da contaminação dos meios de cultura por germes comuns do ar, da pele ou existentes no próprio sangue do paciente, as mais diversas substâncias têm sido incorporadas aos meios de cultura. De todas elas, a mais usada é o cristal violeta. É preferível juntar logo esse corante, sempre, na rotina, aos meios de cultura expressamente destinados ao isolamento de brucelas, a fim de evitar perda de tempo e de material. Recentemente, têm sido empregadas, também, a penicilina e a bacitracina; estas substâncias inibem eficientemente apenas os germes gram positivos, aliás os mais importantes no caso; só se desenvolvem os gram negativos e os cogumelos, que são relativamente raros como contaminantes banais desde que a colheita tenha sido feita cuidadosamente.

A concentração final de cristal violeta mais aconselhada tem sido a de 1/700 000. Sendo a concentração uma função do meio, às vezes é preferível utilizar, também, outras menores, por exemplo, 1/1 000 000. Quanto à penicilina e à bacitracina, as opiniões são muito variáveis. Podem ser usadas, por exemplo, nas seguintes concentrações finais: penicilina — 5 unidades por ml; bacitracina — 25 unidades por ml. A mistura de cristal violeta e bacitracina é, em geral, suficiente para o isolamento. Não convém usar doses maiores de antibióticos porque algumas amostras de brucelas são muito sensíveis aos mesmos.

Para os sangues extremamente contaminados, colhidos sem nenhuma precaução de assepsia, é preferível utilizar meios mais eficientes, como o de KUZDAS & MORSE (Fig. 141) ou a modificação de RENOUX, em que o cristal violeta é substituído por etil-violeta. Misturando quantidades conhecidas de *Br. melitensis* a fezes de cobaias, suspensas na proporção de 1/10 em solução salina fisiológica, e semeando em três meios semelhantes ao de KUZDAS & MORSE, RENOUX obteve 60%, 70% e 70% do número inicial de brucelas semeadas, enquanto no meio de KUZDAS

& MORSE apenas 20% foram isoladas. Nos outros meios comuns, a contaminação maciça não permitiu o crescimento de brucelas.

Os meios de RENOUX permitiram isolar *Br. melitensis* de fezes de cabras naturalmente infectadas, colhidas nos estábulos em que se encontravam os animais; obter culturas puras sem contaminações, de leites colhidos sem precauções especiais de assepsia; obter culturas puras, sem contaminações, a partir de colheitas originais contaminadas; isolar *Br. melitensis* de tecidos de cabras mortas um dia antes da colheita, em culturas praticamente puras, enquanto em agar Albimi as contaminações maciças não permitiram observar uma só colônia de brucela.

Os meios de RENOUX apresentam as seguintes composições:

	Meio WE	Meio PWE	Meio WE/5
Agar Albimi.....	100 ml	100 ml	100 ml
Actidione.....	10 mg	10 mg	10 mg
Polimixina B.....	600 unidades	0	300 unidades
Bacitracina.....	2 500 unidades	2 500 unidades	1 250 unidades
Circulina.....	1 500 unidades	1 500 unidades	1 500 unidades
Etil-violeta.....	1/800 000	1/800 000	1/800 000

ENRIQUECIMENTO — O problema seguinte a resolver nas hemo-culturas para brucelas é o da pequena concentração em que se encontram os germes no sangue, muitas vezes. Isto faz com que elas não se desenvolvam nos meios sólidos, se o sangue é semeado diretamente nêles, daí serem usados somente meios líquidos. Por outro lado, um número diminuto de germes no sangue circulante exige que maior volume de material seja colhido, para aumentar as possibilidades de isolamento. Mesmo assim, raramente o crescimento é visível no meio líquido, que continua límpido e é desprezado como negativo, por laboratoristas menos avisados. É imprescindível fazer semeaduras periódicas do meio líquido para os meios sólidos.

Um recurso lógico para aumentar o número de germes é o da semeadura nos meios chamados de enriquecimento e que nada mais são do que meios bastante ricos, contendo inibidores de contaminações, e dos quais são feitos repiques periódicos para meios sólidos. Praticamente, as culturas iniciais em meios líquidos são sempre de enriquecimento.

THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA utilizaram para o enriquecimento, visando a isolar *Br. abortus*, o método abaixo, adaptado de DAMON & GAY, mas usando sangue citratado e colhido à distância.

*Meio TrCvCO<sub>2</sub>* — Suspender 30 gramas de tripticase-soja em 1 litro d'água destilada; misturar bem e aquecer cuidadosamente, devagar, agitando de vez em quando, até que se complete a dissolução; verificar se o pH final está a 7.3; adicionar solução aquosa de cristal violeta a 0,1% de modo que a concentração final seja de 1/700.000 (1,4 ml de solução de cristal violeta a 0,1% para 1 litro de meio); distribuir 10 ml em frascos de penicilina, de 20 ml de capacidade, de bôca larga, arrolhados com algodão. Se os sangues não vão ser colhidos em citrato e sim se-

meados diretamente nos frascos, o meio deverá conter 1% a 2% de citrato de sódio; autoclavar durante 20 minutos a 118-121°C (não ultrapassar esta temperatura). Ao saírem os frascos do autoclave, depois de resfriados, borbulhar assépticamente e com rapidez, gás carbônico filtrado. Logo depois, tampar hermêticamente com rôlha de borracha prèviamente esterilizada; a seguir, colocar a proteção metálica, para que a rôlha não saia. Controlar a esterilidade durante 48 horas na estufa a 37°C e mais 48 horas à temperatura ambiente, que é a mais adequada para a conservação do meio. No momento de usar, esterilizar a superfície da rôlha com tintura de iôdo e introduzir aproximadamente 2 ml de sangue com anticoagulante; o sangue é aspirado da seringa, ao penetrar a agulha no frasco, porque a pressão no interior dêste fica diminuída com a junção de gás carbônico. Pelo menos uma vez por semana, durante 1 mês, colhêr aproximadamente 0.5 ml com agulha e seringa estéreis, através da rôlha de borracha, e semear em meios sólidos.

Apesar de terem sido isoladas brucelas, em alguns casos, com esta técnica, quando por outros meios não foram isoladas, a mesma não é prática, se grande número de culturas devem ser trabalhadas, por exigir numerosas seringas para os repiques periódicos, tôdas esterilizadas em autoclave. Também, em muito maior número de casos, as amostras foram isoladas por outras técnicas e não o foram com esta. Além disso, precauções especiais devem ser tomadas para evitar a formação e o espalhamento de aerossóis, durante êsses repiques, colocando chumaços de algodão ou pano embebido em álcool, em tórno da ponta da agulha, no momento em que esta é retirada do interior do frasco através da rôlha de borracha.

**SEMEADURA DA CAMADA LEUCOCITÁRIA** — Tôdas as técnicas de hemoculturas em meios líquidos exigem repiques periódicos para meios sólidos, como vimos acima. Êsses repiques, contudo, são feitos às cegas, sem que o meio apresente evidência alguma de crescimento. A explicação para o fato foi fornecida de modo muito ilustrativo por TOVAR, em uma série de trabalhos, a partir de 1942, culminando com uma revisão geral do assunto, em 1953, após isolamento de cêrca de 800 amostras de brucelas. Transcrevemos do autor a técnica detalhada mas frisando que 97,5% dessas amostras pertenciam à espécie *Br. melitensis*, a mais fácil de ser isolada:

“O meio mais recomendável é o infuso de fígado citratado descrito por Tovar, ou a solução de triptose a 2% com citrato de sódio a 4%. Ambos os meios, uma vez esterilizados, são adicionados de solução a 0,1% de bicarbonato de sódio, distribuindo-se em quantidades de 5 a 10 ml em frascos de penicilina que são arrolhados hermêticamente com rôlha de borracha e esterilizados a 115°C durante 20 minutos. A adição de bicarbonato de sódio, recomendada por TOVAR GUERREIRO, determina a produção de gás carbônico durante a esterilização, em concentrações que variam de 5 a 10%. Essa concentração de CO<sub>2</sub> é indispensável para o fácil isolamento de *Br. abortus*, como o demonstraram HUDDLESON & ABELL, não interferindo com o desenvolvimento de *Br. melitensis* e *Br. suis*. Utilizam-se 2 frascos de meio de cultura líquido para cada paciente,

inoculando-se cada frasco com 5 a 10 ml de sangue, obtido por punção venosa com seringa esterilizada em autoclave. Os frascos são incubados a 37°C, observando-se depois de 72 horas a formação de 3 camadas em cada frasco: a) uma superior, amarela, mistura do meio de cultura com o plasma sanguíneo; b) outra intermediária, branca, constituída por leucócitos e plaquetas; c) e outra inferior, formada pelas hemátias sedimentadas.

O desenvolvimento das brucelas nas hemoculturas apresenta detalhes característicos que permitem estabelecer sua identidade, diferenciando-as facilmente dos outros germes que com freqüência produzem processos septicêmicos. As colônias de brucelas aparecem depois de 72 horas de incubação, na camada leucocitária, sob a forma de pequenos flocos esbranquiçados, de 2 a 3 mm de diâmetro e que contrastam nitidamente com a transparência do sobrenadante e com a uniformidade da superfície da camada leucocitária. As brucelas nas hemoculturas nunca turvam o sobrenadante e a formação de colônias na camada leucocitária está relacionada com a concentração de aglutininas no sobrenadante e com a ausência de motilidade das brucelas. O número de colônias de brucelas nas hemoculturas está em relação direta com a intensidade da septicemia e sua contagem tem importância prognóstica, já que os casos graves de brucelose sempre apresentam um número incontável de colônias na camada leucocitária e, por sua vez, os casos benignos ou subclínicos caracterizam-se por apresentar número reduzido de colônias de brucelas, observando-se em algumas ocasiões apenas uma colônia”.

A técnica de TOVAR não prescinde da sementeira em meio sólido, após 7 a 10 dias de incubação, mas aí o repique não é feito às cegas, como nas outras técnicas. Por meio de pipeta estirada estéril, aspiram-se as colônias macroscópicamente visíveis ou a maior parte da camada leucocitária.

**MEIO DE FASE DUPLA (CASTAÑEDA)** — Apesar da sua aparente simplicidade, a técnica de TOVAR exige certa habilidade manual para pescar as colônias ou a camada leucocitária; a abertura dos frascos, para isso, quase sempre agita o líquido, levantando o depósito. Ainda mais, as manipulações dos frascos possibilitam infecções do pessoal do laboratório, pelos aerossóis formados durante a abertura dos mesmos.

Baseado nos trabalhos de TOVAR, foi que CASTAÑEDA imaginou uma técnica que, até o momento, é a melhor que existe para o isolamento de qualquer das espécies de brucelas por hemoculturas. Publicada em 1947, é extremamente simples e engenhosa. É a que deve ser preferida para hemoculturas, em quaisquer condições, longe ou perto do laboratório, e com qualquer tipo de meio.

Descreveremos a técnica de CASTAÑEDA de acôrdo com as pequenas modificações feitas por THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA, para o isolamento de *Br. abortus*. O meio de cultura básico usado é o TrCvCO<sub>2</sub> (tripticase-soja com cristal violeta), descrito anteriormente, na parte do enriquecimento. A cerca de metade do meio é adicionada suficiente quantidade de agar para torná-lo sólido, em geral 2,5%-3% (meio AgTrCv).

O meio sólido assim preparado é distribuído no volume de 15 ml, em pequenos frascos de capacidade para cêrca de 100 ml (podem ser usados outros, de maior capacidade), retangulares, achatados, de faces bem planas; tampa-se com rôlha de gaze e algodão e esteriliza-se no autoclave a 118-121°C durante 20 minutos. Retirados os frascos do autoclave, com o meio ainda líquido, são êles colocados horizontalmente até solidificar o agar numa das faces largas. Em seguida, adicionam-se assèpticamente cêrca de 15 ml do meio TrCvCO<sub>2</sub> líquido, prèviamente esterilizado. O meio está pronto para ser usado. Conservar à temperatura ambiente e usar antes de 1 mês de preparado.

Como nem sempre é possível dispor de instalações para incubação em atmosfera contendo 10% de CO<sub>2</sub> ou para os casos em que a sementeira é feita longe do laboratório, é necessário colocar o gás carbônico nos próprios frascos. Para isso, borbulhar assèpticamente CO<sub>2</sub> filtrado estéril dentro do frasco e imediatamente depois tampar com rôlha de borracha. Para evitar que esta saia, colocar proteção metálica ou de baquelite, quando se usam frascos tendo rôscas no gargalo. O aspecto final é o que pode ser visto esquemáticamente na figura (Fig. 138).

Êsse dispositivo é especialmente útil para o isolamento de *Br. abortus* mas quando há suspeitas de outras duas, é preferível utilizar as rôlhas de algodão e incubar em presença de gás carbônico, que normalmente não as inibe, desde que haja oportunidade da mistura com a atmosfera normal; algumas amostras das outras espécies são muito sensíveis a quantidades maiores de gás carbônico e à falta de aeração do meio.

No momento de usar, desinfetar a rôlha de borracha com tintura de iôdo e introduzir cêrca de 5 a 10 ml de sangue, logo que colhido, diretamente no frasco, fazendo a agulha atravessar a rôlha de borracha.

Se as colheitas de sangue forem feitas sem anticoagulantes, é necessário acrescentar ao meio, durante o preparo, citrato de sódio a 4%. Também pode ser adicionada bacitracina (25 unidades por ml) ou penicilina (5 unidades por ml), ao meio líquido, imediatamente antes da sementeira do sangue, para maior segurança contra as contaminações.

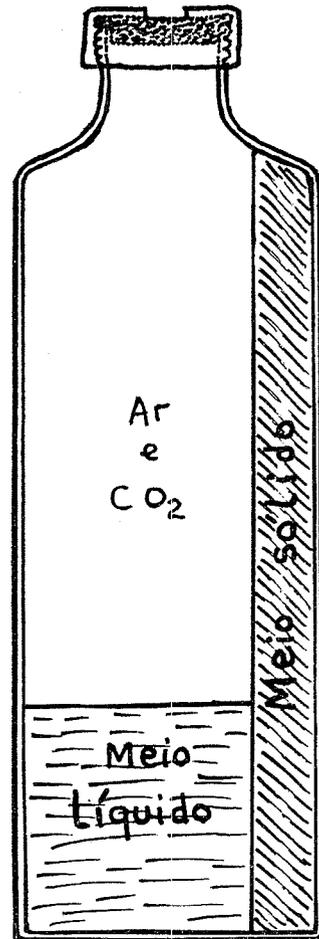


Fig. 138 — Aspecto final dum frasco de Castañeda (meio de fase dupla); arrolhamento com borracha e baquelite. Segundo THIAGO DE MELLO & NÉBER SILVA.

A incubação é feita em posição vertical. Os resultados são os mesmos observados com a técnica de TOVAR mas não são necessários os repiques periódicos para meios sólidos pois estes são feitos de modo muito simples, apenas banhando a superfície da parte sólida, pelo menos uma vez por semana, durante 1 mês, bastando inclinar o frasco, para isso.

As colônias de brucelas destacam-se nitidamente na superfície do meio sólido, como pequenos pontos salientes, parecendo gotículas de orvalho na superfície do agar. Para identificá-las, basta retirar a rôlha (com as precauções já vistas para evitar o espalhamento de aerossóis) e repicá-las para tubos de AgTrCv inclinados, ou para outros meios, daí seguindo-se as técnicas já vistas para a diferenciação, das espécies. No momento da sementeira em agar inclinado é conveniente, quando a quantidade de germes é escassa, inclinar o tubo para banhar a superfície do meio com a água de condensação existente no fundo.

O processo de cultivo no meio de fase dupla é tão eficiente que CARILLO CÁRDENAS & Cols. acreditam, mesmo, poder ser feito um cultivo quantitativo semeando-se quantidade determinada de sangue e contando o número de colônias que se desenvolvem no agar. A evolução dos casos é, via de regra, desfavorável, quando o número de colônias é maior, com raras exceções.

**ELIMINAÇÃO DO PLASMA** — A técnica de CASTAÑEDA, tal como é feita na maioria dos laboratórios, embora tenha simplificado de modo notável os trabalhos de isolamento de brucelas por hemoculturas, não leva em consideração um fato que, muitas vezes, é de importância para o bom êxito da operação: a presença, no sangue, de substâncias inibidoras do desenvolvimento de brucelas. Destas substâncias, as principais são os anticorpos do próprio paciente. PICKETT & NELSON referem-se, também, aos bacteriófagos para brucelas, como presentes no plasma.

É claro que o recurso mais lógico seria retirar o plasma e semear apenas os glóbulos, principalmente os leucócitos, pois as brucelas estão de preferência localizadas nestes, intracelularmente.

O máximo conseguido neste sentido foram os trabalhos de PICKETT & NELSON. Retiram-se 5 ml de sangue da veia, misturam-se com 5 ml de solução salina fisiológica citratada a 2% e centrifuga-se a 2 500 rotações por minuto durante 30 minutos; em seguida, despreza-se o plasma e ressuspende-se o sedimento em 20 ml de água destilada estéril, centrifugando-se novamente durante 30 minutos; repete-se a operação e do sedimento final semeia-se 0,1 ml em placa de agar Albimí. Maior número de brucelas é isolado com essa técnica do que com as técnicas até agora usadas, segundo os autores.

Esse processo, entretanto, dá em resultado isolamento de brucelas em fase de variação não lisa, até de indivíduos aparentemente normais. Isto envolve um problema a considerar. Segundo SPINK, faltam maiores observações confirmatórias desses achados. PICKETT & NELSON atribuem a falta de isolamentos de brucelas, quando o inóculo contém plas-

ma, sobretudo à presença de bacteriófagos (que são removidos com as lavagens sucessivas), e não à presença de anticorpos, embora êstes não sejam para se desprezar. Acreditam, também, que a adição de cristal violeta inibe a ação dêsses bacteriófagos.

**SEMEADURA DOS COÁGULOS SANGUÍNEOS** — Antes dos trabalhos de PICKETT & NELSON, sendo conhecidas as propriedades inibidoras do plasma sanguíneo, devidas a substâncias nêle existentes, imaginou-se semear apenas os coágulos. Além disso, uma tal prática tornaria possível o aproveitamento dos coágulos que sobram nos tubos de sangue dos quais se retirou o sôro para a prova de aglutinação.

Os trabalhos de diversos pesquisadores norte-americanos: WEST & BORMAN, JORDAN & BORTS, DAMON & Cols., são os mais importantes nesse sentido. O coágulo, livre do sôro, é colocado assêpticamente numa seringa estéril e forçado pelo êmbolo a sair pelo bico da seringa. DAMON & Cols. ainda aumentam a divisão do coágulo colocando-o em frascos com pérolas de vidro e meio de cultura ou fragmentando-o previamente, ainda no tubo, por meio de pipetas especiais. Em seguida, o coágulo assim dividido é semeado nos meios para hemocultura de brucelas, já vistos. As pérolas de vidro e as pipetas especiais, no entanto, formam abundante espuma e conseqüentes aerossóis; por isso não é aconselhável esta prática pelos perigos que acarreta. Mesmo porque resultados idênticos são obtidos apenas com a técnica da passagem pela seringa.

WEST & BORMAN, no trabalho inicial mais importante sôbre o assunto, em 1946, descrevem a maneira simples pela qual um grande número de coágulos pode ser trabalhado de uma só vez. Dum total de 4.051 amostras de sangue, recebidas para reações de aglutinação, isolaram dos coágulos 40 amostras de *Br. abortus* e 2 de *Br. suis*; assinalam que durante o mesmo período em que foram isoladas estas amostras, foram praticadas 6.487 reações de sôro-aglutinação, com apenas 19% de resultados positivos mostrando títulos de 1/320 ou mais, embora cêrca de 25% apresentassem títulos menores. Muito interessante, também, foi o fato de 16% das amostras terem sido isoladas de indivíduos com reações de aglutinação negativas.

BRIM & Cols. também utilizaram a semeadura de coágulos para isolamento de brucelas mas inoculando-os em frascos de Castañeda.

**CULTIVOS EM LARGA ESCALA** — Nos laboratórios de grande movimento ou para pesquisas especiais é necessário, muitas vêzes, semear dezenas de sangues numa só vez. Para isto, os processos correntes são extremamente dispendiosos.

Na rotina de trabalho para o isolamento de *Br. abortus*, THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA empregaram a semeadura de coágulos sanguíneos em frascos de Castañeda, com os detalhes que veremos a seguir.

O sangue é colhido em tubos de 10 x 130 mm, estêreis, com rôlha de borracha. Em seguida, são arrolhados e enviados ao laboratório, ficando à temperatura ambiente pelo menos durante 2 dias; eventualmente podem ficar por mais 1 ou 2 dias na geladeira. O coágulo fica bem retraído e o sôro é todo colhido assêpticamente, com pipeta

estirada. O coágulo é transferido para uma seringa estéril, de 5 cm<sup>3</sup> e forçado, através do orifício da mesma, diretamente para um frasco de meio de Castañeda, preparado conforme foi descrito anteriormente e adicionado de bacitracina. Durante esta operação a boca do frasco e a seringa são protegidas com um pano embebido em álcool, para evitar o espalhamento de aerossóis. Os frascos são providos apenas de rôlhas de algodão. Depois da sementeira, o coágulo fragmentado e o meio líquido são misturados e banhada a superfície do meio sólido com essa mistura. A seguir, os frascos são colocados em posição vertical numa grande lata, do tipo das de biscoitos. Esta apresenta uma tampa que dá bom fechamento mas não hermético e é provida de pequena tubuladura metálica na qual se adapta um tubo de borracha trazendo CO<sub>2</sub> de uma bala ou bombona metálica. O fluxo de gás deve ser bem lento para proporcionar gradual substituição de parte da atmosfera pelo gás; deixa-se durante 20 a 30 minutos, conforme a capacidade da lata. Em seguida, a vedação da lata é tornada mais eficiente passando-se uma fita de esparadrapo em tórno da tampa. As latas construídas com fôlhas de aço inoxidável são mais econômicas porque são mais resistentes e não enferrujam com o elevado grau de umidade da atmosfera interna da mesma. A vedação incompleta da lata permite lenta porém eficiente aeração do ambiente interno, evitando que certas amostras muito sensíveis ao CO<sub>2</sub> deixem de crescer. Dezenas de coágulos podem ser sementeados de uma só vez. Numa única lata podem ser incubadas dezenas de frascos, em 2 ou 3 camadas, conforme a altura da lata e dos frascos (Fig. 139). A possibilidade de a mistura com o ar atmosférico diminuir

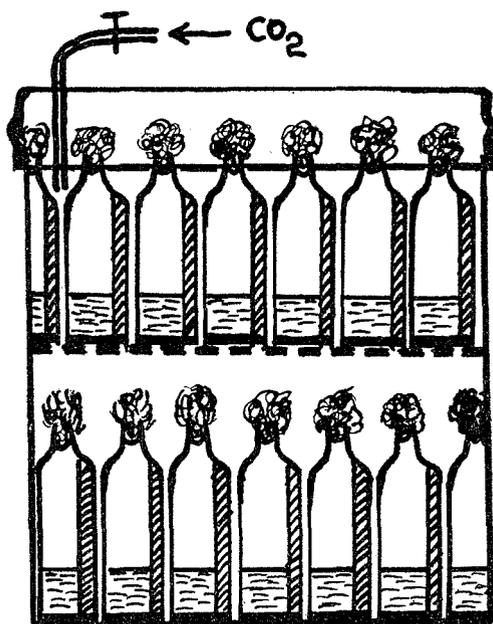


Fig. 139 — Esquema da disposição de numerosos frascos de Castañeda numa lata, prontos para incubação. Segundo THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA.

muito a proporção de CO<sub>2</sub> não tem grande importância porque o gás não desaparece totalmente da atmosfera da lata e esta deve ser aberta pelo menos uma vez por semana (de preferência 2 vezes) para exame e banhamento da superfície do meio sólido dos frascos. Nesse momento repete-se a operação de substituição de parte do ar por CO<sub>2</sub>. A incubação a 37°C é feita colocando a lata numa estufa grande.

A falta de gás carbônico em bombonas, vários artifícios podem ser usados para produzi-lo. Um deles, o mais simples, consiste em utilizar grandes latas de conserva ou de biscoitos, ou vidros de boca larga, com tampas de rêsca; depois de arrumados os frascos ou outros recipientes, queima-se uma vela no interior das latas ou dos vidros, de preferência das que não dão fumaça. Afirmam WEST & BORMAN que de modo geral este método para cultivar brucelas a partir de coágulos é relativamente simples e barato e pode ser utilizado em qualquer laboratório. Outros autores acham que o CO<sub>2</sub> gerado pela chama duma vela não é suficiente para permitir o crescimento de *Br. abortus*.

Em vez de latas ou vidros, podem ser usadas estufas especiais para incubação em atmosfera de gás carbônico, muito dispendiosas, ou, então, dessecadores de vidro, que só dão para poucos frascos.

Uma outra vantagem do emprêgo dos coágulos consiste na possibilidade de serem os mesmos guardados em geladeira enquanto se processam as provas de sôro-aglutinação. Nos inquéritos em massa, nas sementeiras em grande escala, isto é vantajoso porque permite semente-se apenas os coágulos de sangues cujos soros apresentarem títulos positivos. Embora em certos casos os isolamentos se façam a partir de coágulos cujos soros são negativos, esse número é relativamente muito pequeno. Diversos pesquisadores, como BRIM & COLS., afirmam que mesmo fazendo várias tentativas, jamais conseguiram isolamentos a partir de sangues cujas provas de sôro-aglutinação eram negativas ou mostravam baixos títulos. Examinaram, ao todo, 3.600 sangues, isolando 454 amostras de brucelas, dum total de 366 indivíduos, das quais 345 *Br. suis* (de 273 indivíduos) e 108 *Br. abortus* (de 92 outros); uma amostra não chegou a ser identificada.

**REMOÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS** — Um dos problemas a resolver no isolamento de brucelas por hemoculturas é o da presença de antibióticos (cloromicetina, aureomicina e terramicina) no sangue do paciente, em concentrações suficientemente bacteriostáticas para brucelas. A falta de substâncias que neutralizem o efeito *in vitro* dos antibióticos sobre o germe, o melhor processo a empregar é o da lavagem dos glóbulos. Com efeito, sendo raras as brucelas extracelulares e não tendo os antibióticos, de modo geral, a capacidade de penetrar nas células onde se abrigam as brucelas, é suficiente colher o sangue com anticoagulante, centrifugar, desprezar o plasma sobrenadante, novamente suspender os glóbulos em solução salina fisiológica citratada a 4% e semear o sedimento em meio líquido ou diretamente em meio sólido. TOVAR repete as centrifugações por 4 vezes tendo obtido culturas em muitos casos em que as técnicas comuns não revelavam positividade.

**CONCENTRAÇÃO COM DISCOS FILTRANTES** — O uso de discos filtrantes de colóidio, em bacteriologia, é de generalização recente, embora largamente empregados pelos alemães durante a última guerra. Em síntese consiste em filtrar certa quantidade de suspensão de material suspeito, através um disco especial de ésteres de celulose, parecendo uma folha de papel "couché"; o disco é retirado do suporte, semelhante a um filtro Seitz montado em frasco de Kitasato, e depositado sobre a superfície do meio seletivo especial para o isolamento que se deseja fazer. Os ingredientes do meio atingem, por capilaridade, a superfície do disco onde está o resíduo da filtração. Os germes desenvolvem-se, então, com as mesmas características que teriam se fossem diretamente semeados no meio. A grande vantagem, como se vê, consiste em semear numa só placa de meio, apenas o que interessa de grandes volumes de material suspeito; em suma, obtém-se grande concentração do material.

Ora, sabida que é a pobreza em brucelas, no sangue, em certas ocasiões, BRAUN & KELSH, em 1954 imaginaram aplicar o processo dos discos filtrantes para o cultivo das mesmas, com resultados satisfatórios; utilizaram sangue hemolisado, filtrado como foi explicado acima. Os discos foram depositados sobre o meio de agar 2:1 de Braun. Os resultados foram semelhantes aos obtidos com os melhores métodos mas com a vantagem de eliminar a incubação em meio líquido.

**IDENTIFICAÇÃO DAS CULTURAS SUSPEITAS** — Depois de crescida a amostra em meio sólido, quer em frascos de Castañeda, quer em placas ou tubos semeados com o crescimento em meio líquido, as primeiras etapas da identificação consistem no exame do aspecto das culturas, nem sempre característico, pois germes existem que dão aparência muito semelhante à das brucelas. Em geral o crescimento destas é bastante lento. É raro que as colônias sejam visíveis antes de 4 dias; quase sempre são mais nítidas no fim de 1 semana.

É necessário examinar as hemoculturas durante 1 mês, antes de desprezá-las como negativas.

As colônias (ou o crescimento suspeito) são examinadas microscòpicamente, fazendo-se esfregaço corado pelo Gram. As brucelas são muito pequenas, bacilares ou cocobacilares e gram-negativas.

Ao mesmo tempo, executa-se uma prova de sôro-aglutinação em lâmina, utilizando um sôro antibrucela preparado em coelho. Uma colônia (ou parte do cultivo) é emulsionada numa gota de solução salina fisiológica; em seguida, adiciona-se uma gota de sôro cujo título não deve ser inferior a 1/1.000.

Por meio desses três exames (aspecto da cultura, microscopia e soro-aglutinação em lâmina) é possível chegar-se à conclusão de estar em presença de *Brucella*. A identificação final da espécie é feita de acôrdo com as provas clássicas: exigência inicial de CO<sub>2</sub>, cromobacteriostase, prova da urease e produção de H<sub>2</sub>S. Não confiar numa única prova para o diagnóstico genérico ou específico. Maiores detalhes foram vistos no capítulo da Etiologia.

## II — GANGLIOS LINFÁTICOS

Depois da hemocultura, o isolamento de brucelas de gânglios linfáticos é a técnica mais recomendável. Alguns autores afirmam que a porcentagem de isolamentos é muito maior do que por hemocultura, o que é lógico, pois os gânglios linfáticos são importantes órgãos de defesa contra êsses germes.

A maior experiência no assunto parece estar com os autores franceses, do grupo de pesquisadores do Centro de Brucelose de Montpellier, chefiados por JANBON. Comentando os métodos de diagnóstico bacteriológico da brucelose, declara JANBON que o cultivo de material da medula óssea é um método superior ao da hemocultura; por sua vez, o cultivo de gânglios linfáticos é superior aos 2 outros. Segundo êsse autor, a hemocultura leva até 20 dias para revelar-se positiva e dá 70% de bons resultados; a medulocultura demora até 13 dias e fornece 80% de resultados positivos, enquanto a gangliocultura dá positividade de 90% e apenas em 3 dias. Convém acentuar que a adenopatia é presente em pelo menos 50% dos casos de brucelose. Segundo JANBON, é indispensável a biopsia, retirada do gânglio, para o diagnóstico. Não deve ser esquecido que a experiência dos autores franceses, é com brucelose produzida por *Br. melitensis*. Ainda mais, o próprio JANBON, com BERTRAND e QUATREFACES, declaram que a cultura de gânglios é valiosa sobretudo nos casos agudos, recentes, quando existe enfartamento ganglionar.

Segundo SPINK & Cols., o melhor processo para cultivar brucelas a partir de gânglios linfáticos consiste em retirar de preferência gânglios cervicais, quase sempre aumentados durante as recaídas febris. O processo é particularmente útil em pacientes com doença muito prolongada e nos quais as hemoculturas ou medulo-culturas foram negativas.

Em certos casos pode ser feita a aspiração do conteúdo ganglionar.

O material recolhido por biopsia ou por aspiração deve ser triturado em gral, com areia lavada e estéril, feita a suspensão em salina e semeada em meios adequados, de preferência com a técnica de CASTAÑEDA, tal como nas hemoculturas. Processo mais expedito consiste em cortar o gânglio assépticamente e esfregar as superfícies de corte sôbre meios sólidos, em placas (Fig. 140).

## III — MEDULA ÓSSEA

A aspiração da medula óssea é um processo que tem sido muito recomendado, principalmente pelos autores europeus. Baseia-se, como no caso dos gânglios, no fato de que as brucelas tendem a localizar-se em pontos do organismo com abundância de tecido retículo-endotelial.

SIGNORELLI, desde 1935, o aconselha e, atualmente, tem sido muito empregada essa técnica por tóda a parte.

JANBON & Cols. recomendam a punção esternal. Outros autores, a da medula da crista ilíaca.

Podem ser colhidos de 2 a 3 ml de medula óssea; o local em que vai ser feita a aspiração deve ser anestesiado previamente com novocaína e faz-se a retirada por meio de agulha grossa, adaptada a uma seringa.

LACAZ & Cols. conseguiram isolamento de *Br. suis* de material obtido por aspiração de medula óssea.

A colheita deve ser feita em rigorosas condições de assepsia e o material semeado preferentemente em frascos de CASTAÑEDA, procedendo-se como nas hemoculturas.

#### IV — PEÇAS CIRÚRGICAS E DE NECRÓPSIA

Esporadicamente, no decorrer de intervenções cirúrgicas, têm sido isoladas brucelas de diversos órgãos, na maior parte de lesões ósseas.

Um bom trabalho sobre o assunto é de WEED & Cols., da Clínica Mayo, publicado em 1952. Foram isoladas 13 amostras das 3 espécies de brucelas, dos seguintes órgãos ou materiais: tecidos e pus de lesões articulares e ósseas (9 casos), rim, baço, gânglio e pulmão (1 caso cada um).

O material deve ser colhido assépticamente, pelo cirurgião, no momento da operação, e colocado em frascos estéreis; triturar em gral estéril, juntar solução salina fisiológica e semear em meios sólidos ou em frascos de CASTAÑEDA. Para certos órgãos, presumivelmente ricos em brucelas, pode ser feito esfregaço da superfície de corte, em placas de meio sólido (Fig. 140).

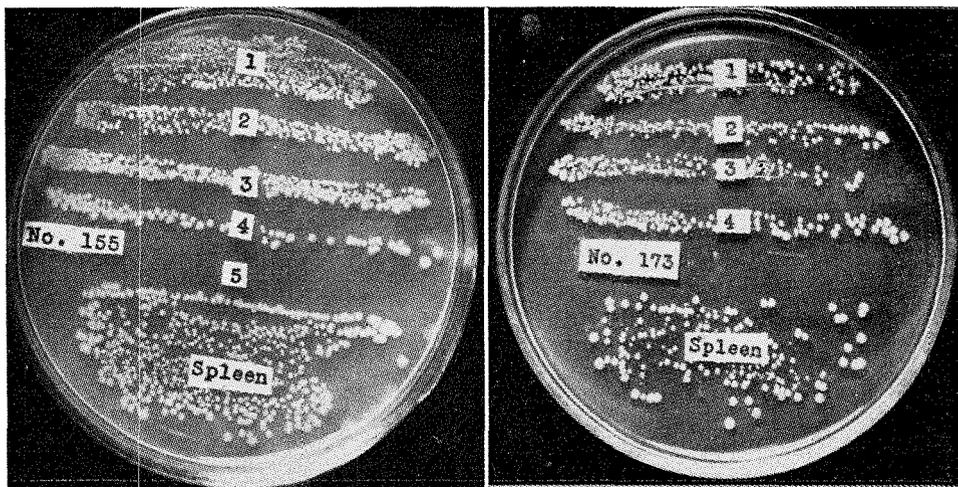


Fig. 140 — Aspecto de colônias de brucelas obtidas por esfregaço da superfície de órgãos em placas de agar. Gânglios linfáticos e baço. Segundo Bol. Ofic. San. Panam., 1950.

Isolamentos com relativa freqüência têm sido feitos a partir de material obtido em intervenções odontológicas e de sinusites. Na lite-

ratura nacional alguns casos de cultivos de brucelas de granulomas dentários têm sido registrados, como os de ASSIS, LEME JR. e VIGNOLI.

De doentes suspeitos de brucelose e que venham a falecer, sendo necessário fazer culturas para esclarecimento *post mortem* do diagnóstico, é aconselhável semear material dos seguintes órgãos: medula óssea, gânglio linfático, baço, fígado e rins.

TOVAR isolou brucelas de peças de autópsia dos seguintes órgãos: baço, fígado, rim, supra-renais, miocárdio e endocárdio, cérebro, gânglios linfáticos, endométrio, ovários, mucosas gástrica e intestinal, testículos, e raspados de lesões vertebrais. Também em autópsia de fetos, em casos de aborto bruceloso, cultivou *Br. melitensis* do conteúdo gástrico, baço, fígado, cérebro, rim e pulmão, obtendo sempre cultivos muito abundantes, geralmente confluentes e livres de contaminação externa.

#### V — FEZES

O isolamento a partir de fezes oferece enormes dificuldades, pelo fato de as brucelas serem suplantadas pelos outros germes encontrados no material.

Raramente têm sido feitas pesquisas nesse sentido. O processo clássico para tal isolamento é o do AMOSS & POSTON. Estes autores observaram um caso de brucelose diagnosticada pelas provas de aglutinação e hemocultura, tendo havido desaparecimento aparente do germe do sangue, em consequência de soro e vacinoterapia, embora persistisse a febre. Como havia sintomas intestinais, foi tentada a coprocultura, sem resultado. Resolveram, então, tratar suspensões de fezes com soro antibrucela (o que já havia sido sugerido pela Comissão Inglesa para o Estudo da Febre Mediterrânea, da Ilha de Malta, para materiais muito contaminados). A massa aglutinada era semeada em meios de cultura; depois de 22 pesquisas diárias, conseguiram isolamento de brucelas, enquanto o método comum pela sementeira das fezes, sem tratamento pelo soro, deu resultados negativos. Também obtiveram culturas, da mesma forma, dum outro indivíduo, com 6 meses de doença. A técnica, em resumo, é a seguinte: suspender 1 grama de fezes em 50 ml de solução salina fisiológica, filtrar em gaze e algodão e centrifugar em baixa rotação; tomar o sobrenadante e adicionar soro-aglutinante antibrucela de modo a ter uma diluição a 1/100; misturar e deixar 2 horas na estufa a 37°C; centrifugar novamente em baixa rotação, para sedimentar as brucelas aglutinadas, desprezar o sobrenadante e ressuspender o depósito; nova centrifugação e semear o sedimento em meio de Teague (azul de metileno-eosina). Incubar em aerobiose e em semi-anaerobiose, com atmosfera de 10% de gás carbônico. Dizem os autores que nas fezes semeadas sem esse artifício de enriquecimento o aparecimento de colônias nas placas de meio de Teague é muito demorado, enquanto com o material tratado pelo soro, é muito rápido.

É claro que essa técnica, pelo grande número de manipulações que exige, não pode ser usada em grande escala, embora os autores sugerissem seu emprêgo para pesquisas epidemiológicas.

Com o aparecimento de substâncias bacteriostáticas eficientes contra diversos germes, em concentrações que não impedem o crescimento de brucelas, outras técnicas foram propostas, das quais citaremos as 3 mais importantes. É necessário frisar, no entanto, que o uso de tais meios seletivos não tem sido generalizado à pesquisa de brucelas nas fezes sendo esporadicamente empregado para o isolamento dos germes de outros materiais grosseiramente contaminados.

ELBERG & COLS. empregaram uma combinação de tirotricina e azida sódica; êste último composto é muito eficiente para impedir o crescimento de proteus e outros germes gram negativos da flora intestinal, sem ter ação sobre as brucelas, em concentrações adequadas. Usaram fezes de cobaias normais e de cobaias infectadas com brucelas, bem como misturas de fezes normais e culturas de *Br. suis*. As fezes eram suspensas em solução salina e a mistura filtrada, empurrando uma rôlha de algodão não absorvente pelo tubo contendo a suspensão. Semeavam 0.1 ml de suspensão assim filtrada, na superfície do seguinte meio, que se revelou o melhor, permitindo o crescimento de *Br. suis* das fezes e com inibição total da flora normal:

Agar triptose .....	1	litro
Glucose .....	10	gramas
Tiamina .....	0,1	mg
Sulfato de ferro .....	10	ppm
Tirotricina (em solução alcoólica) ...	25	mg
Azida sódica .....	12,5	mg

Das fezes de cobaias infectadas o isolamento foi irregular, denotando que o animal não excreta os germes permanentemente e sim com intermitências.

KUZDAS & MORSE, recentemente, prepararam um meio que permite isolamento de brucelas a partir de fezes, quase em cultura pura. A composição é a seguinte.

Agar Albimi .....	1	litro
Sulfato de polimixina B .....	6.000	unidades
Actidione .....	100	mg
Bacitracina .....	25.000	unidades
Circulina .....	15.000	unidades
Cristal violeta .....	1,4	mg

As soluções de antibióticos são adicionadas assépticamente, depois da esterilização do meio básico a 120°C durante 20 minutos e já contendo cristal violeta. Fizeram misturas de cultivos de *Br. abortus* (amostra 2308 U.S.D.A.) e fezes de cobaias ou amostras de terra. Em seguida, a mistura foi suspensa em solução salina fisiológica na concentração aproximada de 1/100. Depois, 0.1 ml da suspensão era semeado diretamente em placas desse meio e em outras de agar Albimi contendo cristal violeta, como testemunhas. O resultado demonstrou a nítida superioridade do meio (Fig. 141). O tamanho das colônias de *Br. abortus* nesse meio é pequeno (1 a 2 mm, em 5 dias); as colônias são mais elevadas e convexas e apresentam cor cinza azulada. Um bom

crescimento é obtido somente ao fim de 5 a 7 dias após a sementeira. A mesma amostra de *Br. abortus* semeada em agar triptose e agar Albimi, deu crescimento idêntico ao obtido no meio proposto, quanto ao número de colônias. Um fato interessante observado nesse meio é que *Br. suis* exige CO<sub>2</sub> para nêle crescer.

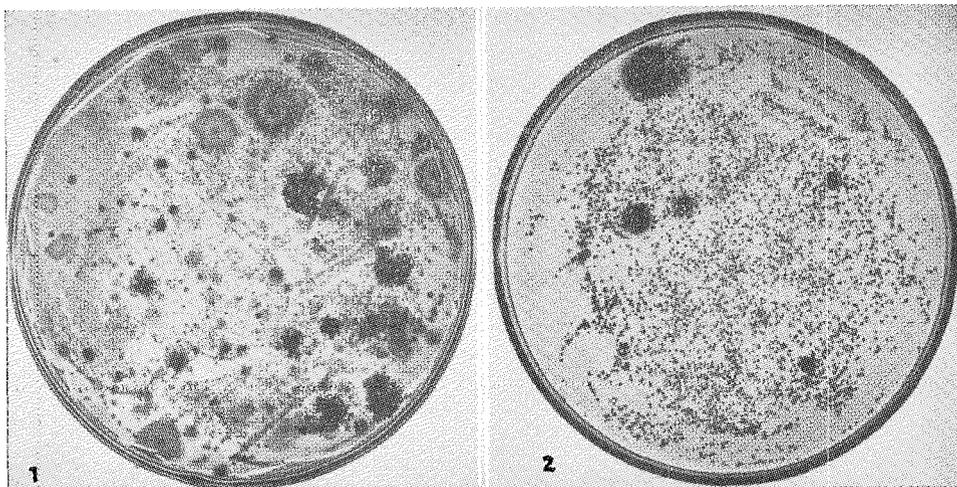


Fig. 141 — Placas semeadas com misturas de fezes e *Brucella abortus*. 1 — Agar Albimi com 1/1 milhão de cristal violeta; contaminação total, sem colônias visíveis de brucelas. 2 — Meio W, de KUZDAS & MORSE; as colônias pequenas são de brucelas. Segundo KUZDAS & MORSE.

RENOUX modificou o meio de KUZDAS & MORSE substituindo o cristal violeta por violeta de etila (“ethyl violet”), além de outras alterações. Os detalhes sobre o mesmo foram apresentados anteriormente, na parte de hemoculturas.

Êsses meios que citamos acima são aconselháveis para as sementeiras de materiais extremamente contaminados, quando fracassam os isolamentos naqueles contendo apenas cristal violeta, e vistos no capítulo das hemoculturas .

## VI — URINA

A cultura de urina apresenta dificuldades semelhantes às das fezes. O isolamento tem sido feito com bom êxito quer com a urina da micção normal, quer com a urina colhida por meio de cateterismo vesical ou renal. Foi assim que, entre outros, conseguiram amostras do germe, GREENE & COLS., e SPINK.

A técnica de preparo do material consiste em centrifugar a urina, em alta velocidade e semear o depósito em placas dos meios indicados anteriormente ou, então, em frascos de Castañeda. Sempre que possível, fazer a colheita assêpticamente. Caso contrário, tomar os cuidados aconselhados anteriormente para material contaminado.

## VII — SUOR

São relativamente raros os trabalhos indicando o isolamento de brucelas a partir do suor. Duas técnicas são principalmente aconselháveis: a) embebimento de algodão estéril no suor e suspensão posterior em solução salina fisiológica, que é centrifugada, semeando-se o depósito; b) raspagem da superfície cutânea recolhendo o suor e procedendo como anteriormente.

## VIII — OUTROS LÍQUIDOS ORGANICOS

De toda a sorte de líquidos orgânicos, normais ou patológicos, têm sido isoladas as brucelas.

Vejamos alguns desses materiais. TOVAR, por exemplo, nas 800 brucelas isoladas (das quais 97,5% *Br. melitensis*), incluiu aquelas obtidas de exsudatos sinoviais, ósteo-articulares e osteocondrais; raspados ou punções de lesões cutâneas como eritema simples, eritema nodoso, exantema e lesões purpúricas por endoteliose brucelosa; exsudato purulento de abscesso subcutâneo, de líquido ascítico, pericárdico e amniótico; de líquido céfalo-raquiano; de exsudato de abscesso ósseo, de fístula osteocondral; de exsudato cérvico-vaginal; de conteúdo de quisto ovariano; de parênquima testicular obtido por punção; de líquido espermático; de bile; de leite materno; de placenta e membranas fetais.

Do escarro, de vez em quando, são citados isolamentos de brucelas. PACHECO isolou *Br. abortus* do escarro duma paciente com diagnóstico anterior de tuberculose. RENOUX também conseguiu isolamento a partir desse material.

O cultivo de brucelas de líquido não é raro.

SPINK refere ter isolado germes de urina e de líquido de sinusite. Por sua vez, GRICHENER obteve de líquido ascítico e de articulação do joelho.

Não nos estenderemos em outras citações. Os exemplos dados acima servem para mostrar claramente que de quaisquer pontos de organismo é possível obterem-se culturas de brucelas. Isto é lógico, visto como esses germes têm uma distribuição generalizada pelo organismo, podendo localizar-se nos mais diversos pontos do mesmo e aí causar lesões locais ou produzir as substâncias responsáveis pelas manifestações à distância.

Em veterinária, a cultura do leite é de grande importância; utilizam-se, principalmente, os meios distribuídos em placas e contendo inibidores de contaminações. Deve ser semeado o creme, de preferência, porque aí se acumulam as brucelas em maior quantidade (é bastante deixar um tubo, contendo leite, na geladeira, de um dia para outro, e se-mear o creme sobrenadante).

## 1-B — ISOLAMENTO POR MEIO DE INOCULAÇÕES EM ANIMAIS

Ainda na parte relativa ao isolamento das brucelas, convém referir os resultados que podem ser obtidos pela inoculação em animais de laboratório.

Até bem pouco tempo essa operação diagnóstica tinha uma importância considerável. Havia, mesmo, quem achasse ser impossível fazer um diagnóstico perfeito de brucelose sem a inoculação em cobaias, o animal de escolha.

Contudo, a evolução dos meios de cultura, veio demonstrar ser dispensável o emprêgo de animais de laboratório para o isolamento de brucelas, pois os meios de cultivo funcionam melhor que a inoculação, sem os inconvenientes desta. RUTH GILBERT é também de opinião que o exame cultural é preferível à inoculação em animais, para o isolamento a partir do sangue.

De todos os animais testados é inegavelmente a cobaia o melhor dêles. Todos os outros animais de laboratório, e muitas outras espécies domésticas, silvestres, e, mesmo, de sangue frio, já foram utilizadas em infecção experimental mas sem emprêgo prático para o diagnóstico.

A inoculação em cobaias, com finalidades diagnósticas, exige uma série de requisitos, para o isolamento propriamente dito ou para a segurança do pessoal do laboratório, dos quais citaremos os principais.

a) A criação das cobaias deve ser isenta de brucelose espontânea, pois já foram observadas epidemias entre êsses animais conforme pode ser visto no trabalho de Rossi. Por isso, antes de cada inoculação, o animal deve ser verificado quanto à presença ou não de aglutininas anti-brucelas, colhendo-se o sangue por punção cardíaca; mesmo que os títulos sejam muito baixos, o animal deve ser rejeitado. Também pode utilizar-se a prova opsônica, desde que obedecidas as regras para essa prova, vistas adiante.

b) O local destinado à criação ou manutenção de cobaias normais deve ser completamente separado daquele em que ficarão as cobaias inoculadas com material suspeito. Além disso, cada cobaia inoculada deve estar convenientemente isolada de suas companheiras do mesmo setor, de preferência nas gaiolas com ventilação artificial controlada, do tipo das usadas por WEDUM, em Camp Detrick. Isso porque está bem provada a possibilidade de infecções cruzadas devidas aos aerossóis contendo brucelas. Se bem que a simples deposição das brucelas nos pêlos dos animais não seja suficiente para determinar a infecção, conforme, demonstraram ROSEBURY & Cols., pesquisadores norte-americanos, também de Camp Detrick, a inalação de poeiras contendo brucelas é infectante. (ELBERG & HENDERSON; PHILLIPS & Cols.).

c) O pessoal que vai trabalhar com as cobaias inoculadas deve fazê-lo com grandes precauções, sob pena de infectar-se fatalmente, quer pela inalação de poeiras contendo brucelas, quer pelo contacto direto da superfície cutânea com os materiais contaminados, pois é sabido que as brucelas atravessam a pele com muita facilidade. Os cuidados a observar nos trabalhos com brucelas não devem ser diferentes dos que se

tomam em tuberculose. Para outros detalhes sôbre essas precauções ver as recomendações de RUTH GILBERT, no livro de WADSWORTH.

d) O material a semear não deve conter outros germes patogênicos para as cobaias; se isto acontecer, é conveniente tratá-lo com penicilina ou outros antibióticos, em concentrações não prejudiciais às brucelas. A inoculação, por isso mesmo, deve ser subcutânea, evitando-se a via peritonial que quase sempre causa a morte dos animais. Quando o material estiver extremamente contaminado como, por exemplo, quando se deseja o isolamento de brucelas de fezes ou solo, convém adotar o sistema usado para o diagnóstico de peste, que consiste em escarificar a pele da cobaia e sôbre o local depositar o material suspeito (método de PAGNINI, segundo SIGNORELLI). A morte em curto prazo não pode ser atribuída às brucelas. Convém ressaltar êsse fato para evitar diagnósticos errôneos baseados na morte do animal.

e) As cobaias devem ser pesadas antes da inoculação. É preferível utilizar animais adultos, de pêso médio, em tôrno de 400 a 500 gramas. Os animais inoculados com material contendo brucelas, em geral não apresentam sintomas aparentes; raramente diminuem de pêso. Quando isto acontecer, fiscalizar a alimentação ou a possibilidade de infecções intercorrentes.

f) É necessário que as cobaias estejam aclimatadas ao ambiente em que vão permanecer, isto é, ambientadas em gaiolas, previamente. Do contrário morrem, sem que tenham sido as brucelas os responsáveis pelo acidente. Isto é tanto mais necessário porque é comum os animais saírem de grandes alojamentos e serem colocados em gaiolas apertadas, metálicas, expostas às variações de temperatura, etc.

g) Inoculado o material, um primeiro indício da existência de brucelas consiste no aparecimento de aglutininas no sangue das cobaias. Para sua evidenciação é suficiente retirar um pouco de sangue por punção cardíaca, separar o sôro e fazer uma prova de aglutinação. A presença de aglutininas em título elevado é evidência de infecção. Contudo, se o material inoculado contiver aglutininas em título elevado, há sempre a possibilidade de provas positivas nas cobaias, embora em títulos baixos, poucos dias após a inoculação.

h) A prova definitiva da presença de brucelas no material inoculado só é obtida com o isolamento dos germes da cobaia. Isso pode ser conseguido com hemoculturas procedidas a partir de 2 ou 3 semanas da inoculação, com as técnicas já vistas anteriormente.

i) Em geral as cobaias são mantidas em observação durante 4 a 6 semanas. Conforme já foi assinalado, a infecção evolui praticamente sem sintomas. Podem ser observadas, porém, adenopatias, orquite e artrites (Figs. 42, 43, 44).

j) De qualquer modo, ao fim de 6 semanas, as cobaias devem ser sacrificadas e os órgãos examinados, quer por simples inspeção visual, quer bacteriológicamente. A inspeção visual, além de adenopatias, orquites e artrites, o que é até certo ponto característico da infecção é a presença de focos necróticos no fígado e no baço. Essas lesões, quase sempre muito pequenas, destacam-se nitidamente contra a superfície

escura dêesses órgãos (Figs. 45, 46). As zonas em que se apresentam devem ser as preferidas para a sementeira. É preciso não considerar a presença de focos necróticos no fígado como certeza de infecção brucelosa, isto porque diversos germes podem produzi-los e, até, partículas inertes, conforme acentuou PACHECO.

Mesmo que nenhuma lesão seja aparente, deve ser tentada cultura pelo menos de fígado, baço e gânglios.

O preparo do material para sementeira pode ser feito de duas maneiras principais: a) triturando-se os órgãos ou fragmentos dos mesmos, principalmente fígado, baço e gânglios e suspendendo o triturado em solução salina fisiológica, sendo esta semeada; b) esfregando diretamente sobre os meios de cultura, em placas, as superfícies de corte dos órgãos. As colônias, neste último caso, aparecem em linhas, em número variável de acôrdo com a riqueza em bruceias do órgão seccionado (Fig. 140).

Devem ser utilizados meios contendo substâncias impeditivas de contaminações. Em geral a sementeira é feita em placas mas podem ser utilizados os frascos de Castañeda. É conveniente fazer a necrópsia com os maiores cuidados possíveis de assepsia, para evitar contaminações prejudiciais.

k) É preciso que o operador esteja bem ciente dos perigos que representa a necrópsia de animais infectados com brucelas. Em primeiro lugar, deve usar luvas. Em segundo, é aconselhável operar em câmaras especialmente construídas para evitar o espalhamento dos aerossóis infectantes pelo ambiente. Conforme ficou bem demonstrado com os trabalhos feitos pelos autores mexicanos e ingleses, o corte de pulmões de animais determina a produção de considerável quantidade de aerossóis que, no caso de animais brucelosos, terão como núcleo infeccioso as próprias brucelas. Câmaras bem simples e completamente vedadas podem ser construídas para a finalidade de necropsiar com segurança os animais, como as de TRAVASSOS & VALLEJO-FREIRE, de SHEPARD & Cols. de VAN DEN ENDE. Câmaras apropriadas já são vendidas prontas, em aço inoxidável (Fig. 66). (Kewaunee Mfg. Co., Adrian, Michigan) mas podem ser feitas em madeira e, mesmo, em matéria plástica (Fig. 66-A). O material colhido é colocado em frascos fechados; a seguir, a câmara é esterilizada internamente com formol ou outro desinfetante volátil (glicóis, etc.), e os frascos retirados para manipulação posterior. *O simples uso de máscaras não é suficiente para proteger o operador e, muito menos, o ambiente.*

A trituração dos materiais também forma grandes quantidades de aerossóis. Por isto, deve ser feita ou na câmara isolada em que se procedeu à necrópsia, ou em gral envolvido em papel celofane estéril, sendo a colheita do material feita com seringa, através do papel.

Para outras informações ver o tópico de infecções de laboratório, no capítulo da Epidemiologia.

*Conclusão:* Conforme pôde ser visto, uma série de precauções existem para o diagnóstico bacteriológico da brucelose utilizando cobaias. Se ao menos os resultados fôssem nitidamente superiores aos conseguidos

com meios de cultura, seria razoável aconselhar êsse recurso. No entanto, os meios atuais permitem fácil e cômodamente o isolamento. Mesmo para os casos em que os materiais estejam grosseiramente contaminados o que constituía a maior indicação para o emprêgo de cobaias, é possível, com os meios seletivos de ELBERG & COLS., KUZDAS & MORSE, e de RENOUX, obter cultivos praticamente puros, de brucelas.

### 1-C — ISOLAMENTO POR MEIO DE INOCULAÇÕES EM OVOS EMBRIONADOS

Como uma espécie de transição entre os meios de cultura e os animais de laboratório ficam as inoculações em ovos embrionados, para o isolamento das brucelas de materiais suspeitos. Atualmente estão em moda, principalmente na Argentina e nos Estados Unidos.

Os primeiros trabalhos de inoculação de brucelas em ovos embrionados foram citados no capítulo relativo à colonização intracelular das brucelas; contudo, nenhum dêles fazia referência às possibilidades diagnósticas dêsse método.

Aparentemente, a primeira publicação sôbre o uso dos ovos embrionados especificamente para o isolamento de brucelas deve-se a METZGER & BEAUDETTE que, em 1939, propuseram tal método para o isolamento de *Br. abortus* do leite. Inicialmente, inocularam suspensões de brucela e de estreptococo em leite, na membrana córioalantóide; obtiveram culturas de brucelas de diversas partes do embrião e suas membranas. A seguir, usaram o método para o exame de leite duma vaca infectada com *Br. abortus* e que também estava altamente infectada com *Streptococcus agalactiae*. De cada vez eram colhidos 35 ml do leite infectado, destinados à inoculação de 4 ou 5 ovos. O creme e o sedimento eram inoculados no volume de 0,6 ml, nas membranas de cada ôvo. No 18.º dia de incubação os embriões eram mortos e semeavam-se em agar batata as membranas, o baço, o fígado e o cérebro dos mesmos. Os autores conseguiram isolar *Br. abortus* em cultura pura de um ou dois ovos, de cada 6 ou 7 tentativas. METZGER & BEAUDETTE terminam seu trabalho dizendo que julgavam ter encontrado, dessa forma, um meio mais econômico e mais rápido para estudar a ocorrência de *Br. abortus* no leite.

Apesar dos fatores essenciais para o uso dos ovos embrionados terem sido seguidos nessa pesquisa de METZGER & BEAUDETTE, bem como o fato de terem sido os resultados publicados em revista de grande circulação, o trabalho parece não ter sido levado em conta e, mesmo atualmente, os que redescobriram o método nem o citam.

Onze anos depois, GAY & DAMON conseguiram o crescimento de uma amostra de *Br. melitensis* quando esta era injetada em quantidade diminuta no caso vitelino de embriões de pinto, de 1 a 6 dias de idade. A melhor idade para obterem cultivos de brucelas das 3 espécies era de 5 dias. Os autores sugerem que essa deveria ser a ocasião ótima para o isolamento de brucelas do sangue porque: a) dava os resultados mais constantes, em tôdas as experiências; b) essa idade dos embriões oferecia melhores condições para os trabalhos de rotina; c) os embriões podiam ser conservados em desenvolvimento durante vários dias, possi-

bilitando o gradual crescimento dos germes. Foram inoculadas brucelas misturadas com sangue mas não foram feitas tentativas de isolamento diretamente do sangue de pacientes, ficando apenas a sugestão.

Foi assim que, sabedor dêsse trabalho, RAMACCIOTTI, na Argentina, experimentou inocular no saco vitelino amostras de sangue de 10 indivíduos doentes. Utilizou ovos embrionados de 5 a 6 dias inoculando 0,5 ml de sangue desfibrinado ou citratado, no saco vitelino. Dessa forma conseguiu isolar e identificar brucelas ao fim de 72 a 120 horas semeando diretamente a gema nos meios de cromobacteriostase de Hudleson. Pelos processos de rotina, somente conseguiu isolar brucelas de 6 dêsses pacientes.

A seguir, GAY & DAMON publicaram a continuação de seus trabalhos, relatando que obtiveram resultados perfeitamente concordantes com os de RAMACCIOTTI. Descrevem a técnica detalhadamente. Em vez de sangue citratado ou desfibrinado, usaram como rotina os coágulos sanguíneos. Em resumo, consiste em fragmentar os coágulos, misturar com meio de cultura líquido, aumentar a fragmentação por meio de pérolas de vidro e inocular 0,5 ml no saco vitelino de ovos embrionados com 3 a 5 dias. Fazer duas ou três subculturas com 4 ou 5 dias de intervalo, para placas de agar triptose e incubar com CO<sub>2</sub>. Comparando o processo com a semeadura nos meios de rotina para brucelas e com a inoculação em cobaias, verificaram melhores resultados com ovos embrionados. As contaminações podem determinar a morte dos embriões rapidamente. Conseguiram 14 isolamentos sendo 1 de *Br. melitensis*, 4 de *Br. suis* e 9 de *Br. abortus*; ao mesmo tempo, dos mesmos materiais conseguiram apenas uma amostra com inoculação em cobaia e 6 por semeadura em meios de cultura.

Mais tarde, DAMON & Cols. estudaram ainda comparativamente os 3 métodos para o isolamento de brucelas: inoculação em cobaias, semeadura em meio de cultura e inoculação em embriões de pinto. Concluem, ainda, pela superioridade dêste último.

CRISCUOLO & RAMACCIOTTI publicaram, em 1953, resultados de maior número de culturas em ovos embrionados. Afirmam que nenhum método empregado até então pareceu-lhes mais eficiente para isolar *Br. melitensis*. Obtiveram culturas em casos agudos e crônicos, injetando sangue citratado, desfibrinado ou somente a camada leucocitária. É interessante assinalar que de alguns casos as provas intradérmica e de aglutinação haviam sido inteiramente negativas, bem como as culturas diretas em meios de agar fígado. Os autores concluem da seguinte maneira: "Demonstra-se a eficiência excepcional que apresenta o cultivo em ovos embrionados para o isolamento de brucelas nos casos de brucelose aguda. A cultura do germe causal é abreviada para cerca de 5 dias, enquanto que com o agar fígado a média do prazo para isolamento é de 15 dias. A semeadura no ovo embrionado equivale também à inoculação num animal de laboratório, sem os riscos que êstes representam para o pessoal do mesmo. Descreve-se o achado de brucelas em 12 casos crônicos, em 5 dos quais a prova rápida de soro-aglutinação era negativa, apresentando em outros 6, títulos inferiores a 1/100. Recomenda-se a revisão da brucelose crônica utilizando êsse meio de inves-

tigação bacteriológica.” Ao todo, isolaram 46 amostras, na maioria *Br. melitensis*, quer do material de saco vitelino, quer de órgãos do embrião.

Em conseqüência desses trabalhos iniciais, a inoculação de ovos embrionados tem sido aconselhada para materiais suspeitos de conterem brucelas, principalmente sangue. O método foi recomendado, ultimamente, pelo Comitê de Peritos em Brucelose da FAO/WHO, e por diversos autores.

THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA, trabalhando com sangue citratado ou com coágulos sanguíneos de bovinos com infecção natural por *Br. abortus*, não conseguiram isolar brucelas utilizando a técnica dos ovos embrionados, embora seguissem os detalhes aconselhados pelos autores norte-americanos e argentinos. Dêses mesmos materiais, fazendo semeaduras paralelas em meios de cultura (frascos de Castañeda com meios de tripticase-soja), conseguiram diversos isolamentos de brucelas; também de muitos dêses animais obtiveram brucelas a partir do leite e nenhuma do sangue. Não pôde ser precisada a causa do insucesso, não devendo correr a mesma por conta de defeito da técnica porque em condições idênticas obtiveram desenvolvimento abundante nos ovos embrionados, inoculando nêles quantidades mínimas de brucelas misturadas com sangue citratado de bovinos normais e infectados. Também NORONHA PÉRES, segundo informação pessoal, num caso de infecção humana por *Br. suis*, não conseguiu isolar brucelas semeando sangue em ovos embrionados, enquanto as obteve facilmente em meios de cultura.

Por êses motivos, e por exigir precauções especiais para o manuseio dos ovos, a técnica deve restringir-se aos laboratórios que disponham de maiores recursos, tal como tem sido aconselhado por diversos autores.

---

## 2. PROVA DE AGLUTINAÇÃO

Depois do isolamento das brucelas, é a prova de aglutinação a mais importante e a que mais comumente se utiliza para o diagnóstico da brucelose. Um de nós (G.P.) propôs, há tempos, a inclusão das brucelas, como rotina, em a prova de sôro-aglutinação de Widal, para melhor conhecimento das infecções em pacientes febricitantes.

A êsse respeito é interessante a opinião de JORDAN & BORTS, para os quais a prova de sôro-aglutinação segue-se, em importância, à hemocultura, como auxiliar da confirmação do diagnóstico. Todos os relatórios oficiais sôbre brucelose, nos Estados Unidos, na maioria, senão em todos os 48 Estados, são baseados principalmente nos dados da sôro-aglutinação, para confirmar o diagnóstico clínico. Segundo os autores, tanto o método rápido como o lento podem ser usados. Quando a prova é inicialmente negativa, deve ser repetida com uma semana ou com 10 dias de intervalo. Embora uma prova negativa não exclua a doença, as aglutininas em título diagnóstico (1/40, 1/80 ou mais), podem estar presentes numa ou noutra ocasião, em cerca de 90% dos casos que mostram manifestações clínicas. O título de aglutinação tende a diminuir

durante os meses seguintes à doença aguda e geralmente fica negativo. Por outro lado, aglutininas para brucelas, em títulos considerados diagnósticos, podem persistir durante vários anos no soro de alguns pacientes, às vezes, mesmo, até 10 anos depois de cura clínica aparente.

Um outro fato, e é este de enorme interesse prático, consiste em que, dos doentes tratados com antibióticos, em geral não se isolam brucelas do sangue e o indivíduo continua doente. Nestes casos a prova de soro-aglutinação passa para o primeiro plano, conforme assinalam SPINK & COLS.

A prova de soro-aglutinação de brucelas deve ser feita de preferência com o soro sanguíneo. Entretanto, tem sido usada e feita com sangue total, com plasma sanguíneo e com outros líquidos orgânicos: leite e líquidos ascítico, pericárdico, pleurítico, espermático, céfalo-raquiano, sinovial, hidrocélico, etc.

### I — PROVA LENTA PADRONIZADA

Mais recomendável é a prova lenta, feita em tubos, com leitura após 48 horas de incubação a 37°C. Em muitos casos, contudo, praticam-se as chamadas provas rápidas, em lâminas, com sangue total, soro sanguíneo ou leite, cujos resultados estão sujeitos a grandes falhas, desde que não sejam rigorosamente seguidos os detalhes para sua execução.

Depois de muitos anos de desorientação, os pesquisadores norte-americanos também resolveram adotar a prova lenta como a de escolha para o diagnóstico da brucelose humana. Para isto, recentemente, reuniu-se o Comitê de Brucelose do Conselho Nacional de Pesquisas dos Estados Unidos, recomendando normas para o preparo do antígeno e para a realização da prova. Em consequência, já em setembro de 1954 os Laboratórios Lederle anunciavam e punham à venda um antígeno para a prova lenta, em tubos, seguindo as especificações do Comitê de Brucelose.

Devido à multiplicidade de técnicas e de antígenos, não existindo, até o momento, uma técnica padrão internacional, iniciaremos o capítulo da prova de aglutinação transcrevendo a técnica mais recomendável, bem como a forma de preparar o antígeno. Em outros tópicos assinalaremos uma série de aspectos interessantes da prova, bem como as outras modalidades que podem ser úteis na prática.

As instruções que transcrevemos foram elaboradas por nós, em 1953, quando fizemos parte da Comissão Nacional de Brucelose, do Ministério da Agricultura. Deveriam ter sido publicadas e amplamente difundidas, para uniformização dos trabalhos futuros em brucelose, no Brasil, mas, por motivos que desconhecemos, isso não foi feito. Elas constituem adaptação do trabalho recomendado pelo Comitê de Peritos em Brucelose da FAO/WHO: "Standardized *Brucella abortus* agglutination concentrate and standardized *Brucella abortus* agglutination suspension", preparado pelo Laboratório Veterinário do Ministério de Agricultura e Pesca da Inglaterra ("Veterinary Laboratory, Ministry of Agriculture and Fisheries, Weybridge, Surrey, Great Britain"). Nessa repartição do governo inglês, podem ser conseguidas, com o Dr. A. W. Stableforth, amostras

liofilizadas da cultura padrão de *Brucella abortus* e respectivo soro aglutinante.

a) *Preparação do antígeno* — É utilizada a amostra aeróbia de *Brucella abortus* (amostra 99), do Laboratório Veterinário do Ministério de Agricultura e Pesca, da Inglaterra. Suspensões dessa amostra, mantida em fase lisa, são feitas em soro de coelho e dessecadas ao vácuo, depois de congeladas (liofilizadas). Conservam-se as ampólas na geladeira. A cultura seca é reconstituída com adição de algumas gotas de caldo, misturando-se bem e cuidando-se de evitar os aerossóis durante a abertura da ampóla, bastando abri-la quebrando-se a extremidade, depois de serrada, com o auxílio de um chumaço de algodão impregnado levemente de álcool a 70%.

Com a suspensão obtida semeiam-se tubos ou garrafas contendo agar glicosado (1%) e soro normal (5%), incubando-se a 37°C durante 72 horas.

O crescimento resultante é recolhido com solução salina (cloreto de sódio a 0,85%) e usado para semeadura da quantidade necessária de garrafas de Roux.

As garrafas contêm agar batata (ver preparo adiante) e cada uma é semeada com cerca de 2 ml da suspensão; esta é espalhada sobre a superfície do agar inclinando a garrafa para um lado e para outro, diversas vezes.

As garrafas são incubadas horizontalmente na estufa a 37°C durante 72 horas, com o agar para cima (em posição invertida). No fim desse prazo, são cuidadosamente inspeccionadas, desprezando-se as que se mostrarem grosseiramente contaminadas. Retira-se o líquido excedente que é encontrado em cada uma.

Despejam-se, em cada garrafa, 20 ml da solução salina a 0,85%, previamente esterilizada, juntamente com algumas pérolas de vidro ou pequeno bastão de vidro, também estéreis. As garrafas são agitadas até que todo o crescimento seja removido da superfície do meio. A suspensão resultante de cada garrafa é examinada microscopicamente (coloração de Gram) desprezando-se as que mostrarem contaminação. Recolhem-se as suspensões e filtra-se em algodão de vidro.

Os germes são mortos pelo aquecimento a 60°C durante 1 hora em banho-maria. Deixa-se esfriar e filtra-se em gaze e algodão. Junta-se ácido fênico de maneira a ser obtida a concentração final de 0,5%.

Esta suspensão concentrada é conservada na geladeira pelos menos durante uma semana, antes de ser padronizada.

b) *Padronização do antígeno* — Ampólas de soro padrão dessecado (liofilizado) contendo a matéria seca de 1 ml de soro anti-*Br. abortus* de título conhecido, são mantidas na geladeira. Reconstitui-se o soro de uma ampóla adicionando ao mesmo 1 ml de água destilada estéril.

Com o soro reconstituído fazem-se diluições em salina fenicada (0,85% de cloreto de sódio e 0,5% de ácido fênico), por exemplo: 1/160,

1/200, 1/240, 1/280, 1/320. As diluições de sôro reconstituído são conservadas na geladeira, prontas para o uso e renovadas pelo menos de 3 em 3 meses.

No momento de padronizar o antígeno, agita-se a suspensão concentrada, para misturar bem e dilui-se 1 ml da mesma com salina fenicada, até a turvação correspondente ao tubo N.º 4 de Brown (cêrca de 6.500.000.000 de brucelas por ml) ou à opacidade produzida pela mistura de 4 ml da solução a 1% de cloreto de bário e 96 ml de solução a 1% de ácido sulfúrico (tubo n.º 4 de McFarland) ou a 0,2% de células, em tubos de Hopkins, ou sejam, 0,2 ml de corpos bacterianos em 100 ml de suspensão. Por exemplo: 1 ml de suspensão mais 19 ml de solução salina, isto é, 1/20. Fazer outras diluições da suspensão concentrada, a partir desse título, por exemplo: 1/22, 1/24, 1/26, 1/28.

Em 5 (cinco) séries de tubos apropriados (uma série para cada diluição da suspensão concentrada) colocar 0,5 ml de cada uma das diluições de sôro, seguidas de 0,5 ml duma diluição da suspensão concentrada, misturando bem. Isso dobrará as diluições de sôro, por exemplo, para 1/320, 1/400, 1/480, 1/560, 1/640.

Incubar a 37°C durante 20 horas e examinar contra um fundo escuro. A diluição da suspensão que é escolhida é a que der 50% de aglutinação (++) na diluição final de 1/480 do sôro dessecado.

#### Exemplo:

Diluição do sôro...	1/160	1/200	1/240	1/280	1/320
Diluição final do sôro na mistura sôro + suspensão.....	1/320	1/400	1/480	1/560	1/640
Suspensão concentrada diluída:					
1/20	+++	++	±	—	—
1/22	+++	++	+	—	—
1/24	+++	+++	++	±	—
1/26	+++	+++	++	+	—
1/28	+++	+++	+++	++	+

Nesse exemplo, uma diluição a 1/22 do concentrado deu aglutinação 1+ na diluição final de 1/480 do sôro reconstituído + suspensão, e a diluição a 1/24 deu 2++ na mesma diluição e ± na de 1/560. Foi escolhida, portanto, a diluição do concentrado a 1/24, que constitui a *suspensão padronizada de Brucella abortus, para aglutinação*.

Para facilitar a conservação na geladeira e o transporte, a suspensão é mantida concentrada (suspensão concentrada padronizada de *Brucella abortus*, para aglutinação). No exemplo acima, cada ml do concentrado não padronizado (isto é, a suspensão original recolhida das garrafas), é diluído a 1/24 com salina fenicada e isto constitui o *concentrado padronizado de Brucella abortus, para aglutinação*. Antes de usar, um volume desse concentrado é diluído com 9 volumes de salina fenicada, constituindo a *suspensão padronizada de Brucella abortus, para aglutinação*.

c) *Técnica para a realização da prova lenta* — Embora muitas das técnicas utilizadas para a realização da prova lenta possam ser empregadas, recomenda-se a seguinte:

Fazer diluições em série, do sôro a examinar, bastando 4 ou 5 diluições, para finalidades diagnósticas. Por exemplo: 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, ou começar de 1/20 e diluir até 1/640. Quando se desejar conhecer o título final, serão feitas diluições maiores e intermediárias. É conveniente utilizar tubos de 13 x 75 mm de 13 x 100 mm, bem limpos e esterilizados. Pode-se dispensar o tamponamento dos tubos, desde que êstes sejam conservados embrulhados nos pacotes em que foram esterilizados.

Toma-se uma série de 6 tubos, por exemplo, e distribuem-se no primeiro 1,9 de solução salina fenicada e nos restantes 1 ml dessa mesma solução. Ao primeiro tubo junta-se, então, 0,1 ml do sôro a examinar, ficando o título a 1/20. Mistura-se bem e retira-se 1 ml que é transferido para o segundo tubo, misturando-se bem. A operação é repetida até o último tubo, retirando-se dêste, depois da mistura, 1 ml que é desprezado. Os títulos, em cada tubo, serão os seguintes: 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 e 1/640.

Em cada tubo, contendo as diluições de sôro, e em mais um, contendo apenas 1 ml de salina (testemunha), pingam-se 2 gôtas da *suspensão padronizada de Brucella abortus, para aglutinação* ou 1 gôta do *concentrado padronizado de Brucella abortus, para aglutinação*, diluído a 1/5. Para cada série aglutinante deixar sempre um tubo com solução salina pura, sem sôro, para testemunha da estabilidade do antígeno e para comparar com a formação dos grumos de aglutinação.

A incubação é feita na estufa a 37°C durante 48 horas porque, tendo as brucelas apenas antígeno tipo O, é êsse o prazo mais adequado, findo o qual se faz a leitura contra um fundo negro podendo-se recorrer ao auxílio de uma lente que forneça 4 ou 5 aumentos, para facilitar a observação, visto como os grumos resultantes da aglutinação de brucelas são extremamente pequenos. Às vêzes podem ser empregados dispositivos bastante engenhosos, com iluminação indireta, como o de VIEGAS, inicialmente destinado à leitura das reações de Kahn. Êsse aparelho é de fabricação nacional. (D. F. Vasconcellos, Av. Indianópolis 4.254, São Paulo).

Nas aglutinações totais (+++) os germes aglutinados ficam depositados completamente no fundo e o líquido sobrenadante se mantém límpido e transparente. Nas aglutinações parciais (++, + e ±), os germes aglutinados em maior ou menor quantidade ficam depositados nos fundos dos tubos mas o líquido sobrenadante apresenta quantidades variáveis de germes não aglutinados que o turvam parcialmente. Na ausência de aglutininas os germes não se aglutinam e permanecem em suspensão no líquido; alguns dêles podem depositar-se mas a agitação do tubo evidencia que os mesmos não estão aglutinados. A mesma agitação, nos tubos em que houve aglutinação, revela os grumos de brucelas que, ao serem agitados vigorosamente, não se desfazem, embora sejam muito pequenos, pois formados às custas do antígeno O, a ponto de passarem despercebidos por um observador inexperiente. Em caso

de dúvida, na presença de grumos, ou para julgamento dos títulos finais das aglutinações parciais (++, + e ±), comparar com o tubo testemunha.

Um fator que pode perturbar as leituras das aglutinações é a presença de contaminações grosseiras no sôro. A incubação prolongada necessária à prova permitirá o crescimento dos contaminantes. Para evitar isso tem sido aconselhado empregar solução salina fenicada ou mertiolatada. THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA, estudando comparativamente o assunto, verificaram que a aglutinação com salina fenicada (0,5%) tende a ser ligeiramente mais nítida e, em alguns casos, o título pode ser mais elevado do que com o mertiolato (0,01%); com este último, contudo, os grumos desfazem-se com mais facilidade sendo necessária bastante cautela para não confundir as leituras finais, depois de agitação dos tubos, com as provas negativas.

d) *Interpretação dos resultados* — Consideram-se positivas as provas em que o sôro diluído a 1/80 ou mais aglutina totalmente as brucelas. Provas suspeitas são aquelas em que o título é de 1/40 ou as que derem aglutinação parcial ao título de 1/80. Negativas as que não apresentarem aglutinação em qualquer título, ou abaixo de 1/40.

e) *Preparo do meio de agar batata destinado ao crescimento de brucelas para antígeno padronizado* — Lavar batatas inglesas cuidadosamente. Descascar. Pesar 250 gramas e cortar em fatias muito finas colocando-as, em seguida, num litro de água destilada, com a menor exposição possível ao ar.

Deixar a mistura num recipiente tampado, de um dia para outro, na temperatura de 60°C aproximadamente. Depois dêse prazo, filtrar em papel de filtro.

Reconstituir o volume do filtrado para 1.000 ml com água destilada. Adicionar os seguintes ingredientes: cloreto de sódio — 5 g; bactopeptona ou peptona equivalente (Parke Davis, Witte, etc.) — 10 g; extrato de carne Liebig ou equivalente — 5 g; dextrose — 10 g; agar lavado — 20 g (quando se tratar de tubos para culturas estoque) ou 30 g (para sementeiras e garrafas para produção de antígeno).

Aquecer a mistura à fervura ou em vapor fluente, para dissolver o agar.

Adicionar 20 ml de glicerina e ajustar o pH a 7.4 (depois da autoclavagem o pH baixa para 6.8). Se fôr usada outra água em vez de água destilada, o ajustamento do pH deverá ser feito por tentativas, de maneira que o produto final tenha reação de pH 6.8. A solução quente é passada num funil de Buchner contendo 2 camadas finas de algodão absorvente.

Distribuir em garrafas de Roux em quantidade suficiente para formar uma camada de 1/4 de polegada (meio centímetro) de espessura quando a garrafa estiver colocada em posição horizontal. As garrafas são arrolhadas com algodão em rama, autoclavadas durante 30 minutos a 15 libras de pressão (1 atmosfera) e deixadas em posição horizontal até que o meio se solidifique.

f) *Meio de agar glicosado* — Agar nutritivo comum, a pH 7.5 é pôsto a fundir e esfriado em seguida a 50°C. Adicionam-se 5% de sôro normal e 1% de dextrose prèviamente esterilizada por tindalização ou filtração. Deixam-se resfriar os tubos ou garrafas. E' essencial que o sôro utilizado (em geral sôro normal de cavalo) não contenha anticorpos aglutinantes para brucelas.

Em vez de sôro normal, pode ser usado líquido ascítico.

A transcrição detalhada que acima fizemos tem dois objetivos: a) permitir que em todo o País as provas de sôro-aglutinação, possam ser feitas de maneira uniforme; b) seguir as recomendações feitas nas Reuniões de 1950 e 1952 do Comitê de Peritos em Brucelose da WHO/FAO, e de que um de nós faz parte (G.P.). Tais recomendações chegam a propor que nenhum resultado de sôro-aglutinação, principalmente em inquéritos epidemiológicos, seja levado em consideração se os autores não declararem qual a técnica seguida e a correspondência de seus métodos com a técnica recomendada.

## II — PROVA LENTA COM ANTÍGENO CORADO

Em vez dos antígenos comuns que se usam na prova de sôro-aglutinação de brucelas, podem ser empregados antígenos corados. Um de nós (M.T.M.) tem empregado um antígeno corado com tetrazólio, com nítida vantagem sôbre os outros.

Do trabalho publicado sôbre o assunto, transcrevemos os trechos de maior interesse:

“É sabido que a execução da prova de sôro-aglutinação na brucelose humana e animal exige um grande cuidado. Muitas vèzes é difícil verificar o resultado da prova porque as brucelas aglutinadas requerem observação cuidadosa e alguma prática, para serem vistas. Este fato é responsável, em parte, pela variabilidade de resultados encontrados em cada laboratório lidando com o mesmo sôro, o mesmo antígeno ou ambos. Os recentes Congressos Inter-americanos de Brucelose acentuaram a necessidade de se usarem técnicas e antígenos padronizados, para a realização da prova, com o objetivo de evitar essas diferenças.

A coloração de *Brucella abortus* com o corante vital cloreto de 2-3-5 trifênil tetrazólio no preparo do antígeno para a “prova de anel” em leite (“ring test”) colocou ao alcance dos veterinários e laboratoristas uma arma fàcilmente preparada, em uso na profilaxia da brucelose bovina.

Observamos que êsse antígeno corado com tetrazólio, diluído a 1:5 ou 1:10, de acôrdo com sua concentração (em geral 1:5), pode ser usado na prova de sôro-aglutinação lenta, em tubos, no diagnóstico da brucelose humana ou animal. Como o tetrazólio é um corante vital, a sensibilidade do antígeno não é prejudicada. Os resultados são comparáveis aos que se obtêm com os antígenos comuns, feitos com germes não corados. Tais resultados, porém, são tão nítidos que mesmo uma pessoa sem prática pode observá-los imediatamente, sem o auxílio de aparelhagem especial”.

Os detalhes de preparação do antígeno serão vistos quando tratarmos da prova de anel em leite.

A prova é executada da mesma forma descrita anteriormente, pingando-se uma gota do antígeno diluído, em 1 ml de diluições em série do soro suspeito. Embora as leituras possam ser feitas com maior ou menor nitidez a partir de 18 horas de incubação a 37°C, é preferível adotar a norma de leituras ao fim de 48 horas de incubação a 37°C.

“Na aglutinação total ou completa (+++) as brucelas aglutinadas, coradas em vermelho-escuro, ficam no fundo dos tubos e o líquido sobrenadante permanece claro, transparente, sem coloração; a agitação do tubo levanta o depósito e os grumos de germes podem ser vistos facilmente. Os resultados intermediários — aglutinações parciais — (++) e (+) mostram germes aglutinados no fundo dos tubos e germes não aglutinados no líquido sobrenadante, em quantidade mais ou menos abundante. Nos tubos testemunhas e naqueles com resultados negativos, as brucelas permanecem em suspensão no líquido e este mostra uma coloração rósea cuja intensidade varia de acordo com a quantidade de germes empregada; alguns destes, não aglutinados, podem depositar-se no fundo, o que raramente acontece antes de 48 horas”.

RENOUX confirma as vantagens do emprego do antígeno corado com tetrazólio para o diagnóstico da brucelose, aconselhando-o com essa finalidade.

### III — COMENTÁRIOS SOBRE A PROVA AGLUTINANTE

a) *Histórico* — Foi WRIGHT, em colaboração com SEMPLE e com SMITH, quem, pela primeira vez, utilizou a soro-aglutinação para o diagnóstico de brucelose em pacientes humanos, isso em 1897, na Ilha de Malta. Por esse motivo, a prova de soro-aglutinação é chamada, por muitos autores, de reação de Wright ou S.A.W (soro-aglutinação de Wright).

Logo depois, ZAMMIT verificou que a prova podia ser usada com enorme vantagem para o diagnóstico de infecções em cabras, usando o soro sanguíneo ou o soro de leite. Estava lançada, portanto, a base para a profilaxia da brucelose, pelo reconhecimento dos animais doentes. Daí por diante generalizou-se a prova de soro-aglutinação.

b) *Amostra de brucela a empregar* — Muita discussão foi levantada quanto à amostra de brucela a ser usada nas provas. Alguns autores achavam que deveria ser usada a amostra predominante na região em que se efetuavam os trabalhos; outros, que deveriam ser usados antígenos feitos com as três espécies de brucelas.

Um trabalho que veio mostrar a importância da amostra no preparo dos antígenos foi o de ANGLE & Cols. Conforme a amostra de brucela, obtiveram, com um mesmo soro, títulos que variaram de 0 a 1/640 (Fig. 142).

Estudos posteriores, empreendidos com a finalidade de esclarecer o assunto, provaram que qualquer das espécies pode servir. O que é essencial é que ela esteja em fase lisa e o antígeno tenha sido conveni-

entamente padronizado. Os pesquisadores de Montpellier, na França, utilizam uma amostra especial de *Br. suis*. Nos Estados Unidos, na Inglaterra e na maioria dos outros países, usa-se a *Br. abortus*. No México, a *Br. melitensis*.

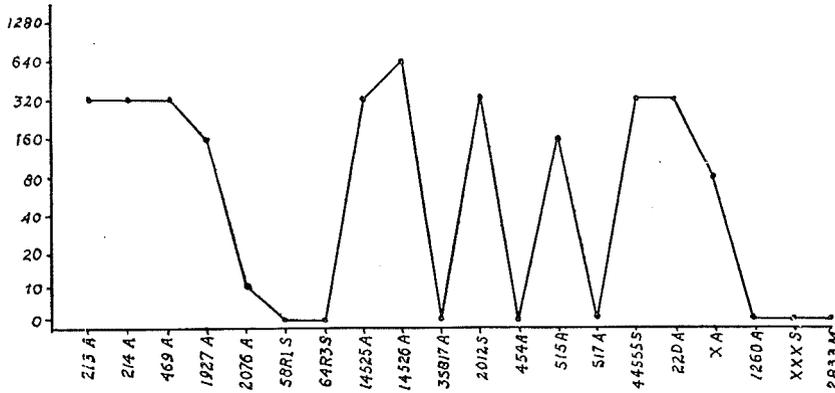


Fig. 142 — Aglutinação de brucelas com o soro dum mesmo paciente mostrando as discrepâncias nos resultados conforme a amostra de brucela empregada. Segundo ANGLE & COLS.

RENOUX, em provas comparativas usando os antígenos de WEYBRIDGE, de BELTSVILLE (americano) e de MONTPELLIER acha que de importância maior é a espécie fornecedora do soro; o antígeno inglês parece funcionar melhor com soros de bovino e cobaias; o francês dá títulos mais elevados com soros de cabras. Os três antígenos são dotados de boa especificidade e sensibilidade; contudo, em certos soros caprinos, seguramente positivos com os outros dois antígenos, o de Weybridge deu prova negativa.

Para padronização das técnicas seria interessante utilizar apenas a amostra de *Br. abortus*, recomendando-se a amostra B-99 de Weybridge, Inglaterra, conforme visto anteriormente.

Um antígeno preparado com amostra lisa de *Br. abortus* funciona perfeitamente bem para descobrir aglutininas produzidas pelas três espécies de brucelas. Além disso, ao contrário do que insinuam certos laboratoristas, de modo algum, a presença no soro dos pacientes, de títulos mais elevados para uma espécie, significa infecção por esta; mesmo nos casos em que a aglutinação seja negativa com uma e positiva com outra, é mais provável que se trate de alteração nas propriedades do antígeno (extrema sensibilidade, diluição inadequada, amostra em fase não lisa, etc.).

É sabido que cada espécie de brucela contém duas frações antigênicas, chamadas convencionalmente de A e M. Ambas as frações existem em tôdas as amostras, apenas em proporções diferentes: a fração M na proporção de 20:1 em *Br. melitensis* e a fração A na proporção de 20:1 em *Br. abortus* e *Br. suis*. No indivíduo infectado, contudo, ambas as frações determinam a formação de anticorpos em títulos apreciáveis; em consequência, na evidência das aglutininas, desde que

não se faça a prova de saturação das mesmas, qualquer que seja a amostra utilizada como antígeno, será observada aglutinação.

Na opinião de CARRÈRE, um bom antígeno deve ser preparado com uma só espécie de brucela e aglutinar em títulos elevados e aproximadamente iguais em presença de soros específicos das três espécies, isto é, possuir as frações *A* e *M*.

c) *Títulos a considerar positivos* — Passando para os títulos de sôro-aglutinação a considerar *positivos*, as discussões têm sido tão extensas que nos limitaremos a apontar alguns fatos mais interessantes.

Atualmente, considera-se como evidência de infecção por brucelas a presença de aglutininas ao título de 1/80 total ou mais, quando feita a prova lenta, em tubo, de preferência com a técnica recomendada pelo Comitê de Peritos em Brucelose da WHO/FAO. Segundo RENOUX, mesmo os títulos inferiores 1/80 ++ não são destituídos de interesse pois representam o que se convencionou chamar de *títulos suspeitos*; sua constatação deveria orientar o diagnóstico para a brucelose, contanto que se obtivesse uma confirmação por meio doutros exames: aglutinações repetidas, hemoculturas, etc.

Num interessante trabalho de revisão dos critérios adotados para o diagnóstico de brucelose por sôro-aglutinação, MELLO & ROGICK apresentam uma tabela que é bastante ilustrativa para mostrar a discordância entre os vários pesquisadores. Por incrível que pareça, alguns consideram positivos títulos a partir de 1/8, enquanto outros só consideram positivos aqueles superiores a 1/500. Dizem os autores: "Varia o critério de 1/8 a 1/500! Qual dêesses é o que mais se aproxima da realidade? É bem possível que todos os autores tenham razão em fixar seu título aglutinante, levando em consideração a técnica usada. Mas, pela variabilidade das diversas técnicas em uso, é preciso fixar um padrão universal da opacidade da emulsão antigênica e usar o mesmo "modus faciendi" da reação".

Tais discrepâncias resultam, evidentemente, de métodos falhos ou, pelo menos, diversos dum laboratório para outro, no preparo dos antígenos ou de execução da prova, daí a vantagem das técnicas padronizadas, como as que apontamos anteriormente. Outras vêzes, resultam de ignorância no assunto.

Nas atuais "Instruções para a Profilaxia da Brucelose no Brasil" (em alguns pontos modificações das que foram elaboradas pela Comissão Nacional de Brucelose, em 1952) encontra-se a declaração de que nos caprinos, ovinos e suínos a prova é positiva ao título de 1/10 e suspeita a 1/5. (Ver anexo II do capítulo da Brucelose Animal). Um critério prejudicial aos interesses da profilaxia real da doença. De nada valeram nossos protestos na ocasião em que se preparava tal absurdo.

O que parece mais importante do que o título apresentado numa certa ocasião por um paciente, é a evolução das aglutininas do mesmo. Realmente, suponhamos que em determinada época um indivíduo apresente uma prova com aglutinação ao título de 1/80 total. Seria um caso positivo. No entanto, repetida a prova, semanas após, pode a mesma estar negativa ou aumentar o título; noutros casos, o título se manterá.

Os autores mexicanos, principalmente, levam em grande consideração a questão da curva de aglutinação; quando esta sobe, indica brucelose ativa, em evolução; quando desce, eficiência da terapêutica ou cura espontânea do paciente. CASTAÑEDA acompanha o título aglutinante do doente com a hemocultura; verifica que o título mínimo para admitir uma brucelose como evolutiva é de 1/320 (trabalhou quase sempre com *Br. melitensis*). Também SPINK & Cols. só consideram o título 1/320, se não houver outras provas, como de diagnóstico presuntivo de infecção mas admitem que abaixo desse, no início da doença, possam ocorrer menores, com significação diagnóstica.

O Comitê de Peritos em Brucelose, da WHO/FAO adotou as recomendações de STABLEFORTH sobre a correspondência dos resultados obtidos em qualquer laboratório com os obtidos usando um soro padrão e trabalhando com técnica padronizada. Isto constituiu um grande passo no sentido da interpretação uniforme dos resultados. De fato, qualquer que seja a técnica e os antígenos adotados, bem como o critério de positividade, em qualquer tempo será fácil estabelecer a correspondência com a técnica recomendada. Para maiores detalhes, ver a publicação do Comitê de Peritos sobre a 1.<sup>a</sup> Reunião, em 1950, em Washington. Para o diagnóstico de brucelose bovina, por exemplo, o título mínimo positivo deve estar entre 1/10 e 1/12 do título obtido quando o soro padrão do "Office International des Épizooties" é testado com o antígeno e com as técnicas do país considerado; o título considerado suspeito ou duvidoso deve ser aproximadamente 1/2 do título mínimo positivo. Apesar dessas vantagens, que são evidentes, RENOUX afirma que semelhante comparação não lhe parece nem útil nem cômoda; ao contrário, é um elemento de perturbação. Parece, entretanto, que maiores esforços deverão ser feitos no sentido do aperfeiçoamento da padronização.

d) *Aparecimento das aglutininas* — A época do aparecimento das aglutininas após a contaminação é bastante variável. Na infecção natural é realmente difícil estabelecer qualquer critério nesse sentido.

Em geral os autores apontam 1 semana a 10 dias. Segundo SIGNORELLI, de 10 a 14 dias. Na infecção experimental humana MORALES-OTERO verificou o aparecimento de aglutininas ao fim de 17 dias, num voluntário em que a exposição a *Br. abortus* se processou por via digestiva. Em experiências em maior escala, viu que a prova de aglutinação foi positiva em todos os casos de infecção experimental humana, exceto num. O prazo mais curto para o aparecimento de aglutininas foi de 10 dias após a infecção; noutros casos, a prova só foi positiva a partir de 23 dias; entre esses limites, foram diversos os prazos.

e) *Fatores físico-químicos que influem na prova de aglutinação* — Os fatores que afetam a prova de aglutinação para brucelas, além dos que são referidos em outros tópicos, são os decorrentes das próprias condições da realização da prova, incluindo o preparo dos antígenos.

Recentemente, diversos trabalhos têm sido feitos com a finalidade de examinar tais fatores. Alguns deles apresentam dados muito curiosos. Por exemplo, um mesmo soro, submetido à prova de aglutinação pela mesma pessoa, dava aglutinações de brucelas em títulos diversos, conforme a pessoa que fizesse a leitura das provas.

ANGLE & Cols., em 1942, haviam verificado discrepância nos resultados de soro-aglutinações, conforme o laboratório; citam um exemplo no qual um soro, num laboratório, deu resultado negativo para brucelas e noutro deu provas positivas ao título de 1/640, com três antígenos comerciais.

Observações semelhantes foram feitas por SPINK & Cols.

Um esclarecimento considerável sobre o assunto foi prestado por EISELE & Cols. À vista da diversidade dos resultados da prova aglutinante com o mesmo soro empregando vários antígenos, procuraram eles apurar os motivos dessas diferenças. Os soros dum grupo de 21 indivíduos com títulos aglutinantes médios para brucelas foram distribuídos a 5 laboratórios; com esses mesmos soros os autores fizeram as provas utilizando 10 antígenos diferentes. Dos 21 soros, 18 foram considerados negativos por um ou mais laboratórios. Desses 18 negativos, 16 (89%) foram, noutros laboratórios considerados positivos aos títulos de 1/200 ou mais; 12 (67%) foram considerados positivos em diluições de 1/320 ou 1/640, títulos esses que são freqüentemente considerados suficientes para confirmar o diagnóstico clínico de brucelose. Num caso, por exemplo, houve resultados que variaram de 0 a 1/1.280. Essas variações, segundo EISELE & Cols., não significam que a prova fique destituída de valor mas a possibilidade de erro deve ser levada em linha de conta. As diferenças observadas com os diversos antígenos indica que os antígenos para aglutinação devem ser padronizados. Também a técnica de realização da prova e a sua leitura podem ter importância.

Experiências semelhantes fizeram GRIGGS & CASE. Em 24 amostras de soros um laboratório deu 22 resultados negativos e 2 positivos a 1/80. Três outros laboratórios deram resultados variáveis, de negativo a 1/1.280+++ . Os autores acreditam que certos antígenos são muito pouco sensíveis tendendo a dar falsas reações negativas; encarecem a necessidade de os antígenos serem feitos com várias amostras de *Br. abortus*.

De todos os trabalhos destinados a elucidar os fatores que interferem na prova de aglutinação de brucelas, um dos mais importantes é o de SCHUBERT & HERNDON. A pesquisa foi dividida em duas partes: na primeira, estudaram a preparação do antígeno e as condições da incubação; na segunda, a maneira de fazer as leituras e de anotá-las. É um trabalho que deve ser lido pelos interessados. Transcrevemos as conclusões dos autores:

“Certos fatores que afetam as provas de aglutinação para brucelas em tubos, foram estudados em 269 soros procedentes de casos conhe-

cidos de brucelose. Os seguintes resultados gerais foram encontrados, nas condições da experiência:

- a — A densidade do antígeno equivalente ao n.º 1 da escala de MacFarland (padrão n.º 1 de sulfato de bário) dá os títulos mais elevados.
- b — A diluição do sôro em salina é preferível à diluição diretamente dêste no antígeno.
- c — Uma das amostras de *Br. abortus* (456, N.I.H.) dava títulos mais elevados do que outra (1119-3, B.A.I.).
- d — Os melhores resultados foram obtidos quando os tubos das provas de aglutinação foram incubados continuamente em banho-maria a 52°C durante 24 horas, do que quando incubados a 37°C ou conservados durante 20 horas na geladeira, depois de 4 horas a 52°C.
- e — Títulos aglutinantes mais elevados são encontrados em alguns soros se as leituras são feitas ao fim de 48 horas em vez de 24 horas.
- f — A reação de aglutinação processa-se melhor próximo à neutralidade”.

Também em Camp Detrick, em 1951, foram feitas experiências por FEINBERG & WRIGHT com o mesmo objetivo de esclarecer o assunto. Utilizaram antígenos mortos com fenol, calor ou formol e incubaram os tubos de prova de 5 maneiras diferentes; as amostras de brucelas foram em número de 22, tôdas lisas. Chegaram à conclusão de que tôdas davam reações em títulos idênticos em presença de soros de doentes com brucelose comprovada, e davam reações cruzadas com soros de pacientes com tularemia e de pessoas vacinadas contra cólera. A temperatura de incubação dos tubos e a maneira de matar as brucelas influenciaram os títulos finais, principalmente nas reações cruzadas. Os títulos destas últimas, usando antígeno morto com fenol eram muito mais baixos quando a incubação era feita a 56°C do que quando a 45°C ou menos. Os títulos dos soros de brucelosos eram essencialmente independentes das temperaturas de incubação, de 24° a 60°C. Os títulos mais baixos dos soros, em reações cruzadas, a 56°C, pareceram devidos à inibição irreversível da aglutinação não específica; a resultados semelhantes chegaram MORSE & Cols. Os títulos com suspensões mortas pelo formol foram muito menos influenciados pela temperatura de incubação; contudo, essas suspensões favoreciam o aparecimento do fenômeno de zona, mais com os soros de pacientes curados de brucelose do que com os de doentes com a doença em atividade.

Devido às constantes referências aos antígenos como principais responsáveis pelas discrepâncias entre resultados fornecidos por diversos laboratórios com o mesmo sôro, MURDOCK & Cols. empreenderam uma pesquisa importante, sob os auspícios da Oficina Sanitária Pan-americana. Fizaram um estudo das propriedades físicas e da aglutinabilidade das brucelas dos antígenos usados em 15 países da América e alguns da Europa. Foram usados, ao todo, 36 antígenos, sendo 17 para a prova lenta em tubos e 19 para a prova rápida, em placas. O

pedido das amostras de antígenos foi acompanhado de pequeno questionário pelo qual os autores puderam examinar os seguintes dados: espécie de brucelas, meio de cultura, prazo de incubação, solução em que foi recolhido o crescimento bacteriano, modo de matar os germes e conservá-los, concentração bacteriana, e uso a que se destinavam os antígenos. Para as provas em tubos, as diluições, os períodos de incubação e as instruções para a leitura da prova eram extremamente variáveis; da mesma forma, os prazos para leitura da prova rápida: 2 a 15 minutos, conforme o antígeno. De posse das amostras de antígenos, os autores fizeram as seguintes experiências: exames microscópicos e culturais, no sentido de verificar a pureza das suspensões; concentração bacteriana, por meio de centrifugação; provas de aglutinação, com 55 soros bovinos e caprinos, de vários títulos, para determinar a aglutinabilidade e a sensibilidade dos antígenos. Os autores concluem que os estudos efetuados indicaram que a uniformidade de concentração dos antígenos e a técnica seguida para as provas de aglutinação poderão reduzir de muito a variação de sensibilidade encontrada nos antígenos.

Levando em consideração que a aglutinabilidade das brucelas depende, em grande parte, da presença dum endo-antígeno O (tipo Bovin) e que é melhor conservado pelo álcool do que pelo formol ou fenol, RENOUX & Cols. utilizaram o álcool etílico na conservação do antígeno. Em uma série de trabalhos apresentam as vantagens dessa técnica: melhor conservação e maior sensibilidade, permitindo, mesmo, revelar aglutininas "passageiras" e indivíduos "alergizados". Segundo HARRIS, um antígeno constituído por suspensões de *Br. abortus* tratadas pelo álcool é utilizado na Divisão de Laboratórios e Pesquisas do Departamento de Saúde do Estado de New York, nos Estados Unidos.

Na opinião de CARRÈRE, um bom antígeno, entre outras qualidades, deve ser estável por longo tempo e não ser patogênico.

Seria muito interessante que, para melhor conservação do antígeno, fossem usadas suspensões liofilizadas, como propuseram recentemente HAUDUROY & TANNER.

f) *Reação anamnésica específica* — A possibilidade de o indivíduo apresentar aglutininas em títulos considerados positivos e que não sejam devidas à brucelose, conforme será visto noutra parte, levou LISBONNE a realizar uma prova anamnésica assaz interessante. Consiste em injetar no indivíduo o próprio antígeno usado na aglutinação; se o título subir, isto indicará infecção. O fato dum indivíduo ingerir freqüentemente grandes quantidades de brucelas mortas, em leite pasteurizado, não determina o aparecimento de aglutininas, conforme o demonstraram McCULLOUGH & Cols.

JANBON injeta intravenosamente 300 milhões de brucelas mortas. Se o doente apresenta forte acesso febril e rápido aumento de aglutininas, isto indica infecção, pois tais reações não se verificam nos indivíduos normais.

Recurso semelhante foi utilizado por KRAKAUER & Cols. Com a finalidade de verificar se o brucelergeno era capaz de determinar a pro-

dução de aglutininas, constataram que isto só acontece quando o indivíduo tem evidências clínicas de brucelose; no caso contrário, em pacientes sem essas evidências, a sôro-aglutinação continua negativa.

g) *Reação anamnésica inespecífica* — As reações anamnéticas têm sido freqüentemente apontadas como responsáveis por baixos títulos de aglutinação verificados em muitos indivíduos. Assim, se estes normalmente apresentassem títulos baixos, não diagnósticos, ou se tivessem tido anteriormente outra infecção, qualquer manifestação mórbida acompanhada de febre determinaria o aumento dos títulos ou o aparecimento de aglutininas em títulos positivos.

DOOLEY, por exemplo, é dessa opinião, achando que o aumento pode ocorrer tanto em indivíduos que tiveram previamente uma infecção brucelosa como naqueles que não a tiveram. Essas observações, contudo, não têm sido confirmadas, segundo HARRIS.

Não parece que tais reações anamnéticas sejam de importância e a evidência experimental mostra que quando o título é nitidamente positivo a 1/80 total ou mais, realmente o indivíduo está infectado, isto sem falar dos casos em que a infecção brucelosa não é acompanhada de produção de aglutininas, só podendo ser diagnosticada por outras provas, conforme assinala SIGNORELLI, citando diversos pesquisadores. Apesar disto, o Comitê de Brucelose do Conselho Nacional de Pesquisas dos Estados Unidos, sob a presidência de SPINK, propõe que sejam consideradas francamente positivas apenas as reações com títulos de 1/320 ou mais, o que é, evidentemente, um critério falho, pois deixaria passar numerosos casos de brucelose em que os títulos sanguíneos são inferiores a êsse. Contudo, reconhece que desde o título de 1/100 há fortes indícios de haver infecção brucelosa.

CARRÈRE & QUATREFAGES, por exemplo, afirmam que 5% a 6% de doentes de brucelose podem permanecer sem aglutinar brucelas durante todo o tempo da doença. CRISCUOLO & RAMACCIOTTI isolaram brucelas de indivíduos com provas aglutinantes negativas; o mesmo fizeram diversos pesquisadores, citados por SIGNORELLI.

h) *Reações inespecíficas não produzidas por agentes infecciosos* — As reações inespecíficas para brucelose, às quais poderiam ser filiadas as anamnéticas, podem ser classificadas em vários grupos. Aqui trataremos somente daquelas para as quais não se encontram agentes infecciosos outros, capazes de produzi-las; portanto, reações positivas não produzidas por agentes infecciosos. Um dos trabalhos mais interessantes a êste respeito é o de MOHR, publicado em 1935. Cita que KONRICH verificara que a *Br. melitensis* aglutina com soros normais; OLIN lembrou que isto poderia ser devido a aglutininas normais. Também refere que os soros de grávidas aglutinam brucelas; KAMADA, por exemplo, observou isto, em 200 soros, e admite o fenômeno como decorrente de aglutininas inespecíficas, no que concordam LAUN e HEIDE, que atribuem à instabilidade coloidal do sôro grávidico; particularmente aglutináveis, nestes casos, são as amostras R de *Br. abortus*. Assim, por exemplo, obtiveram os autores aglutinações até o título relativamente elevado de 1/400.

Em que pesem as falhas das técnicas empregadas nessas verificações iniciais, é inegável que algumas provas com títulos considerados positivos ocorrem sem que os indivíduos estejam infectados.

Esclarecimento notável para o fenômeno das chamadas aglutininas normais foi prestado recentemente nos trabalhos de HESS & ROEPKE, em Minnesota. Esses investigadores, tendo observado que, em rebanhos livres de brucelose, de vez em quando apareciam soros aglutinando brucelas aos títulos de 1/50 e, mesmo, 1/100, procuraram ver se tais aglutinações eram específicas ou inespecíficas. Para isso, utilizaram uma modificação da técnica de aglutinação e fixação em papel de filtro, imaginada por CASTAÑEDA, em 1950. Sobre a mesma daremos detalhes noutro ponto. Aqui convém resumir, apenas, que ficou bem provada a existência de soros aglutinando brucelas a títulos considerados positivos mas sendo tal aglutinação devida não a aglutininas específicas e sim a aglutininas inespecíficas, que HESS & ROEPKE relacionam à fração que COHN designou como contendo isoaglutininas, protrombina e globulinas insolúveis a frio. Conforme assinala ROEPKE, em comunicação pessoal, o processo que utiliza para evidenciação das aglutininas inespecíficas não é prático.

Muitos autores, para eliminar as aglutinações inespecíficas, produzidas pelas chamadas aglutininas normais, aconselham aquecer os soros a 60°C durante prazos variáveis, em geral 1 hora. Outros, contudo, como CARRÈRE & QUATREFAGES, não acham haver vantagem no aquecimento do soro a 60°C para eliminar as aglutininas inespecíficas. Como será visto noutro ponto, o número de vezes em que isso ocorre é tão pequeno, que somente em casos especiais há necessidade de utilizar esse recurso.

A técnica de HORLEIN, utilizada para soros de suínos, pode ser empregada para remover as falsas aglutininas. Na opinião de ROEPKE, é a melhor técnica existente com essa finalidade. O soro é diluído em série, adicionado do antígeno e incubado a 37°C da maneira habitual, durante 48 horas. Uma outra série de tubos é incubada num banho-maria a 56°C durante 18 horas, em seguida estes tubos são centrifugados a 2.000 rotações por minuto durante 5 minutos e o líquido sobrenadante removido com cuidado invertendo-se lentamente os tubos; o líquido é, então, substituído por salina a 0,85%; fazem-se as leituras comparando-as com a série testemunha citada anteriormente. As aglutininas não específicas são muito mais facilmente destruídas pelo calor do que as específicas. Os títulos das provas específicas são, mesmo, geralmente mais elevados depois da incubação a 56°C do que os títulos da série testemunha incubada a 37°C durante 48 horas; isto quando se usa a técnica da centrifugação após a incubação a 56°C durante 18 horas. HORLEIN faz as leituras imediatamente depois da retirada dos tubos do banho-maria. Segundo ROEPKE, a temperatura de 56°C determina a produção de substâncias inibidoras da aglutinação e, com muita frequência, as partículas aglutinadas são tão pequenas que as leituras são difíceis e indefinidas, para alguns dos soros com títulos específicos. Por isto, ROEPKE e seus colaboradores introduziram a centrifugação dos tubos quando estes são retirados do banho-maria, para remover as substâncias inibidoras, que são desprezadas com o sobrenadante. Esta modifi-

cação é semelhante à que se utiliza, em alguns laboratórios, para facilitar a leitura das aglutinações de riquetsias.

i) *Reações cruzadas* — Em diversas infecções tem sido possível constatar aglutinações positivas para brucelas sem que os pacientes estejam infectados por estes germes; também em certas modalidades de vacinações. São as chamadas reações cruzadas ou reações inespecíficas produzidas por agentes infecciosos.

Os títulos aglutinantes, nesses casos, são geralmente baixos mas ocorrem, às vezes, de tal forma a possibilitar confusões no diagnóstico. Quase sempre vão até 1/50 ou 1/80 e 1/100. Com as técnicas atuais é muito difícil que um resultado positivo seja encontrado em consequência de aglutinações inespecíficas.

HARRIS, em 1950, apresenta exemplos bem interessantes, colhidos na literatura, de aglutinações cruzadas com febre tifóide, proteus X 19, tularemia, disenteria bacilar (Flexner), cólera, tuberculose e angina estreptocócica.

Vejamos alguns dos fatos mais conhecidos a êsse respeito.

Em 1930, MALLMAN publica um trabalho sôbre a interaglutinabilidade de espécies dos gêneros *Brucella* e *Pasteurella*. Sendo conhecidas as analogias morfológicas entre as bactérias dos gêneros *Pasteurella*, *Malleomyces* e *Brucella*, escolheu MALLMAN algumas amostras desses gêneros para um estudo preliminar. Tais germes foram postos em contacto com soros de vacas reagindo positivamente a *Br. abortus* em consequência de infecção natural. Observou aglutinação positiva com tôdas as amostras empregadas: *Br. abortus* — 1/1280; *Br. suis* — 1/640; *P. avicida* — 1/320; *P. bovisseptica* — 1/640 e *M. mallei* — 1/160. Verificado êste fato, MALLMAN imunizou coelhos com essas amostras obtendo os respectivos soros; testando-os com as amostras, os resultados foram os seguintes:

Soro anti-	Amostra ensaiada					
	<i>P. bovisseptica</i>	<i>P. suisseptica</i>	<i>Br. abortus</i>	<i>P. avicida</i>	<i>M. mallei</i>	<i>Br. suis</i>
<i>P. bovisseptica</i> .....	1/1 600	1/1 600	1/1 600	—	—	—
<i>Br. abortus</i> .....	1/1 600	1/1 600	1/1 600	1/1 600	1/ 800	—
<i>Br. suis</i> .....	1/1 600	—	1/1 600	—	1/1 600	1/1 600

Estudos mais extensos que confirmassem os achados de MALLMAN não parece terem sido feitos. No entanto, FOSHAY cita aglutinação até de espécies bacterianas completamente afastadas das brucelas: salmonelas, aerógenes, proteus, alcaligenes, bacilo da tularemia e hemófilos, por soros aglutinantes específicos anti-brucela.

CARRÈRE & QUATREFAGES acreditam que nos convalescentes os processos febris possam determinar ligeira ascensão do título aglutinante. Contudo não observaram aglutinações cruzadas com soros de doentes de febre tifóide, tifo exantemático, tuberculose, reumatismo, sífilis e outras infecções.

Também RENOUX observa que soros com anticorpos para proteus X 19, salmonelas e *Coxiella burnetti* (o agente da febre Q), não apresentam coagulininas para brucelas.

Num trabalho de MOHR, encontram-se referências ao fato de que LEGA observara que o sangue de tuberculosos aglutinava *Br. melitensis* tendo numerosos pesquisadores feito verificações análogas como, por exemplo, ANGIONI, com 60 soros de tuberculosos mas trabalhando com *paramelitensis* que é sabido ser a forma rugosa de *Br. melitensis*. Em nosso meio, PAULO DE GÓES, num estudo sobre "Imunidade Cruzada", também declara ter encontrado provas positivas para brucelose em pacientes tuberculosos.

Dos diversos trabalhos a respeito de sôro-aglutinações cruzadas em brucelose e outras infecções merecem especial referência aquêles feitos em seguida à vacinação contra o cólera. Havia sido verificado inicialmente, por WONG & CHOW, na China, que indivíduos vacinados com uma vacina mista tifo-cólera apresentavam aglutinações de *Br. abortus* em títulos de 1/40 ou menos; coelhos injetados intravenosamente ou subcutâneamente com suspensões de *Vibrio comma* mortas pelo calor, também apresentaram títulos aglutinantes para brucelas.

Foram os trabalhos de EISELE & Cols., a partir de 1946, que provaram definitivamente o aparecimento de aglutininas para brucelas em indivíduos vacinados contra o cólera. De 6 indivíduos com reações negativas para brucelose e 1 com título 1/25, vacinados contra o cólera, 2 apresentaram na primeira semana títulos de 1/500 parcial, 1 a 1/200 parcial, 1 a 1/100 parcial, 2 continuaram negativos e 1 manteve o título a 1/25. Os títulos foram diminuindo progressivamente ficando negativos na maior parte; contudo, 9 semanas depois, os dois que apresentavam reações iniciais a 1/500 parcial ainda as tinham aos títulos de 1/200 parcial e 1/200 total. Outros pacientes, submetidos a outros esquemas de vacinação contra o cólera, praticamente não apresentaram reações posteriores para a brucelose, no máximo títulos de 1/25 e 1/50 parciais. A análise dos resultados e outras experiências permitiram aos autores suspeitar que é antígeno flagelar (*H*) do *V. comma* que também se encontra presente nas brucelas.

GALLUT, por meio de provas de precipitação com substâncias extraídas de brucelas e de vírios, confirma que existe uma fração antigênica comum, termoestável, *O*, que pode relacionar-se respectivamente aos fatores coléricos *D* para as amostras de *Br. melitensis* e *C* e *D* para as de *Br. abortus* e *Br. suis*.

Por sua vez, FELSENFELD & Cols. acham que o antígeno comum parece ser a fração *A* do *V. comma* e parte de seu antígeno *H* que também existe nas brucelas (também nas salmonelas).

FEINBERG & WRIGHT, bem como STANFIELD & Cols., demonstraram igualmente a existência de aglutinações cruzadas entre brucelas de um lado e vírios e bacilo da tularemia, de outro.

Seja qual fôr a terminologia adotada para designar as frações antigênicas comuns, é necessário ter em mente êsses fatos ao proceder-se

a provas de sôro-aglutinação para brucelose em indivíduos vacinados contra o cólera.

Um aspecto muito interessante é o das aglutinações cruzadas com tularemia, revisto em 1950 por GIRARD. Mais de 20 anos antes, FRANCIS & EVANS haviam notado que soros de tularêmicos aglutinavam bruce-  
las entre os títulos de 1/20 a 1/1280; com provas de saturação de aglu-  
tininas era possível obter aglutinações específicas. Esse tipo de aglutina-  
ções cruzadas é importante nos países ou em regiões em que a dissemi-  
nação da tularemia coincide com a da brucelose, como na França.

LACAZ & Cols. não verificaram provas de sôro-aglutinações positi-  
vas para brucelose em indivíduos portadores de pênfigo foliáceo, doença  
de Chagas, blastomicose brasileira, leishmaniose, actinomicose, cromo-  
blastomicose, mononucleose, reumatismo, além de outros estados mór-  
bidos.

Recentemente, THIAGO DE MELLO & Cols., trabalhando num foco de  
febre Q localizado em rebanho intensamente infectado com brucelose,  
não conseguiram observar provas sorológicas cruzadas entre as duas in-  
fecções (THIAGO DE MELLO; TRAVASSOS & Cols.). Nos casos em que houve  
concomitância de provas positivas nos bovinos, pôde ser atribuído o fato  
à presença de infecções mistas, não havendo concordância nas flutua-  
ções dos títulos para as duas moléstias, em animais acompanhados,  
sorologicamente durante vários meses (Fig. 143). Essas observações con-  
firmaram as de LENNETTE & Cols. e de RENOUX & MAURIN.

STANFIELD & Cols., esmiuçando algumas relações antigênicas im-  
portantes no diagnóstico de brucelose, chegaram à conclusão de que não  
existe uma reação sorológica cruzada constante entre *Br. abortus* e *P.*  
*tularensis*, embora certos soros humanos e de coelhos as apresentassem;  
donde concluem que tais reações cruzadas não são tão importantes no  
diagnóstico sorológico como se pensava. Também não evidenciaram re-  
lações entre *P. tularensis* e *V. cholerae* (*V. comma*). Nove pessoas va-  
cinadas contra o cólera, 3 a 7 anos antes das experiências, não apresen-  
tavam aglutininas para bruce-  
las ou cólera. Por outro lado, 19 de 22  
pessoas com aglutininas para bruce-  
las e que nunca tinham recebido  
vacina contra cólera, apresentavam  
aglutininas para esta última in-  
fecção.

O aquecimento dos soros a 56°C durante 30 minutos diminui con-  
sideravelmente as falsas reações cruzadas.

FEINBERG & WRIGHT observaram que os títulos para brucelose de  
soros de pacientes com tularemia ou cólera, ou de vacinados contra esta  
última, são mais baixos quando o antígeno de bruce-  
las é morto com  
fenol do que quando com formol; também quando a incubação é feita  
a 56°C em vez de a 45°C ou menos. Esses títulos mais baixos a 56°C pa-  
recem devidos à inibição irreversível da aglutinação não específica, a  
essa temperatura.

j) *Fenômenos de zona e de bloqueio. Reação de Coombs* — Os  
fenômenos de zona, pró-zona ou aglutinação paradoxal, sempre foram  
assinalados nas sôro-aglutinações para brucelose.

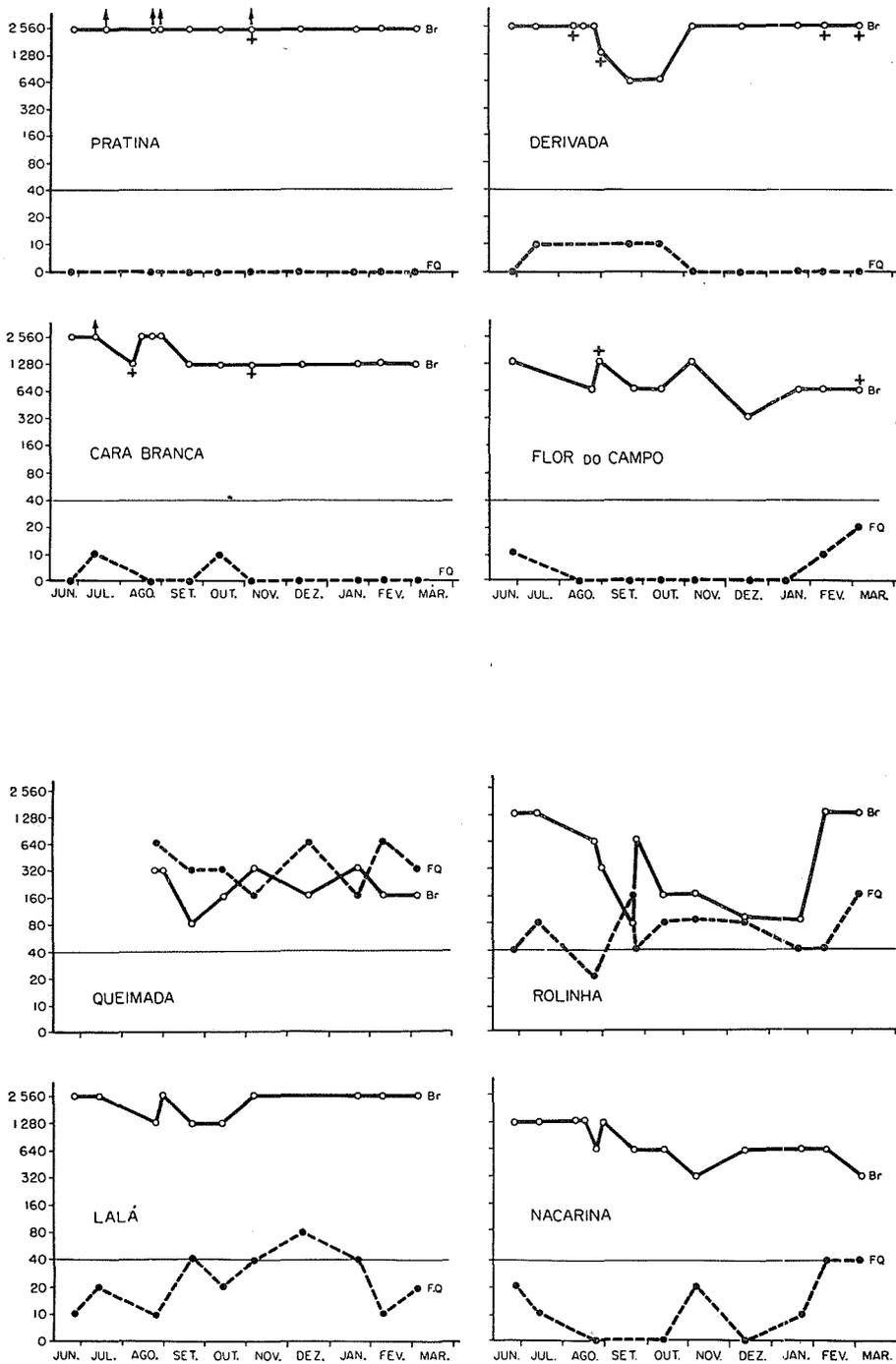


Fig. 143 — Curvas de sôro-aglutinação para brucelose e de fixação de complemento para febre Q, em bovinos, mostrando a falta de concordância entre as provas sorológicas para as duas infecções. Títulos considerados positivos: para brucelose — 1/80 total e para febre Q — 1/40. O sinal + indica culturas positivas para *Br. abortus*. Segundo THIAGO DE MELLO & Cois.

Em linhas gerais, consistem na inaglutinabilidade das brucelas em baixas diluições de sôro. Assim, por exemplo, numa diluição em série, de 1/20 a 1/320 podem não ser observadas aglutinações nos 2 ou 3 primeiros tubos enquanto em tubos seguintes a aglutinação é observada. Outras modalidades podem ocorrer e, por isso, transcrevemos o que sôbre o assunto informa RENOUX:

“O fenômeno de zona, freqüente no sorodiagnóstico da brucelose, pode manifestar-se de duas formas:

a) Ausência de aglutinação nas primeiras diluições do sôro e aglutinação nos tubos seguintes; à leitura, o sorodiagnóstico apresentar-se-á da seguinte maneira:

Diluição do sôro.....	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1 280	1/2 560
Resultado...	—	—	+++	+++	+++	+++	—	—	—

b) Ausência de aglutinação nos tubos compreendidos entre duas séries de tubos aglutinados, por exemplo:

Diluição do sôro.....	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1 280	1/2 560
Resultado...	+++	+++	+++	—	—	+++	++	—	—

c) Noutros casos, como pode acontecer nos ruminantes, o fenômeno é ainda mais paradoxal, como:

Diluição do sôro.....	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1 280	1/2 560
Resultado...	++	—	—	—	+++	—	—	—	— ”

Desde que a pessoa não esteja prevenida para o fato, a reação poderá ser considerada negativa, ao serem lidos apenas os primeiros tubos, não aglutinados. Portanto, é necessário ler, sempre, todos os tubos duma série de diluições.

O mecanismo do fenômeno de zona ainda não foi bem explicado. Quase sempre atribui-se a excesso de antígeno ou a excesso de anticorpo.

RENOUX considera o fenômeno relacionado à presença de anticorpos de bloqueio ou fatores de bloqueio, descritos inicialmente por GRIF-FITTS em certos soros negativos de indivíduos com brucelose, assunto sôbre o qual falaremos adiante. As duas hipóteses clássicas são contraditas pelas experiências de RENOUX: a) existência dum fator próprio da amostra microbiana; b) excesso de anticorpos em relação ao antígeno.

Para evitar a pró-zona muitos autores aconselham manter o antígeno em conservador fenicado. RENOUX, estudando comparativamente os antígenos do “Bureau” de Indústria Animal dos Estados Unidos, do Ministério de Agricultura e Pesca de Weybridge, Inglaterra e do Centro para o Estudo da Febre Ondulante de Montpellier, França, verificou que o fenol, como conservador, não diminui o fenômeno de zona. Esse autor aconselha o emprêgo de solução de cloreto de sódio a 5%, em

vez de 0,85%, para as diluições, com o fim de evitar o fenômeno de bloqueio. A resultado idêntico chega PALTRINIERI, trabalhando com soros de ovinos, em que aparecia o fator de bloqueio e que foi neutralizado com a solução hipercloretada.

Por sua vez, FEINBERG & WRIGHT verificaram que os antígenos mortos com formol em vez de fenol favoreciam o aparecimento da pró-zona, mais com os soros de pacientes curados do que com os daqueles apresentando brucelose ativa.

THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA, utilizando o antígeno corado com tetrazólio, segundo a técnica descrita anteriormente, não verificaram fenômenos de zona em mais de 2.000 soros de bovinos. Em apenas raros casos a aglutinação em baixos títulos era menos intensa do que nos títulos mais elevados. Parece que a coloração com tetrazólio diminui o aparecimento do fenômeno de zona, não sendo de desprezar-se a hipótese de isto dever-se à presença do fenol e da glicerina como conservadores, respectivamente nas concentrações de 0,5% e 1%.

A maioria dos autores, atualmente, como decorrência dos estudos sobre o fenômeno de bloqueio aconselha o aquecimento dos soros a 56°C durante 30 minutos, para eliminar a pró-zona.

Relativamente há pouco tempo foi descoberto um outro importante fator no falseamento dos resultados das provas de soro-aglutinação para brucelose: o *fator de bloqueio*. O fenômeno de bloqueio, consiste, aparentemente, no fato de a aglutinação ser inibida pela presença duma substância em alguns soros.

Em 1947, GRIFFITTS descreveu pela primeira vez a ocorrência dum bloqueio das aglutininas para brucelas nos soros de 14 pessoas com antecedentes positivos para brucelose; os títulos em que os soros manifestavam a propriedade de bloqueio da aglutinação eram geralmente menores do que 1/64; os títulos de aglutinação nas provas feitas com êsses soros em salina, raramente ultrapassavam o título do fator de bloqueio; as provas passavam a ser positivas desde que os soros e os antígenos fôssem diluídos com soros normais, misturados, de coelhos, antes da prova. Outros detalhes foram apreciados nesse trabalho.

Diversas pesquisas seguiram-se às de GRIFFITTS, inclusive confirmando a semelhança com o que acontece em indivíduos sensíveis ao fator Rh.

Cox & KUTNER verificaram que um número significativo de soros de bovinos de rebanhos onde a brucelose existia confirmada clinicamente, podiam apresentar provas lentas negativas ou em títulos muito baixos, ao mesmo tempo que mostravam propriedades de "bloqueio da aglutinação" em grau apreciável; no entanto, êsses soros apresentavam títulos positivos nítidos nas provas rápidas.

A seguir, SCHUHARDT & Cols. procuraram apurar melhor o assunto chegando à conclusão de que o efeito de bloqueio era completamente eliminado pelo aquecimento do soro a 56°C durante 30 minutos. Verificaram o fenômeno de bloqueio em 18 de 498 soros humanos que davam aglutinações negativas para brucelose; os títulos do fator bloqueante variavam entre 1/40 e 1/320. Em 9 soros o aquecimento permitiu a des-

trução do fator de bloqueio revelando aglutininas aos títulos de 1/40 a 1/80. Os autores acreditam que o bloqueio da aglutinação é devido a um componente antigênico do sôro humano, provavelmente um anticorpo não aglutinante, ao qual COX & KUTNER haviam chamado de anticorpo incompleto.

Numa série de pesquisas RENOUX estudou diversas particularidades dos anticorpos bloqueadores da aglutinação, em soros de indivíduos com brucelose. Num dos últimos trabalhos, em 1954, estabelece as relações entre tais fatores e o fenômeno de zona. São as seguintes suas conclusões:

“Nossos conhecimentos sobre os anticorpos bloqueadores na brucelose são ainda incompletos: ignoramos, por exemplo, a fração protídica que lhes serve de suporte e por que tais anticorpos, misturados com os anticorpos aglutinantes fixam-se de modo preferencial sobre o antígeno. As propriedades conhecidas dos mesmos: termolabilidade, inibição por excesso de eletrólitos, fixação específica sobre o antígeno microbiano, permitem encontrá-los em soros que apresentam o fenômeno de zona ou aglutinação paradoxal. Os argumentos experimentais assim obtidos são confirmados por um argumento estatístico que mostra que a existência do fenômeno de zona num determinado sôro não está em relação com o título final de aglutininas, como admitia a teoria que atribui essa aglutinação paradoxal dos soros brucelosos a um excesso de anticorpos”.

Os autores italianos contribuíram bastante para o conhecimento das relações entre o fenômeno de zona e o de bloqueio. Em revisão recente SAGESSE & TOSI mostram em que consistiram tais pesquisas. Assinalam que já em 1908 MORESCHI pensou na possibilidade de existência de anticorpos diversos das aglutininas, capazes de fixarem-se ao complexo germe-antígeno mas incapazes de evidenciarem-se em aglutinação. Em 1944 e 1945, ZIRONI & CARLINFANTI chamam a tais anticorpos de aglutinóides, precipitinóides e antitoxinóides. Em 1950, RITA & DELLA VIDA, baseados em suas observações sobre o fenômeno de zona em brucelose, admitem que o mesmo fôsse devido à presença nos soros de aglutininas incompletas, juntamente com aglutininas completas; as primeiras se fixariam aos antígenos bacterianos, de preferência às segundas, nas concentrações mais fortes de sôro, dando origem ao fenômeno de bloqueio e reagindo, por outro lado, com o sôro de COOMBS (sôro de coelhos imunizados contra globulinas humanas). As mesmas conclusões chegaram D'ALESSANDRO & CELANO, depois CORTICELLI e, finalmente, GABRIELLI & COLS. Das experiências de SAGESSE & TOSI resultou a hipótese de que todos os soros contêm ambos os anticorpos (completo e incompleto), em proporções variáveis, não dependendo da época do aparecimento da infecção. O fenômeno de zona seria, portanto, devido à prevalência quantitativa do anticorpo incompleto que, possuindo afinidade mais ativa para os antígenos bacterianos formaria uma união com êstes evitando a união posterior com o anticorpo completo; daí a ausência de aglutinado visível macroscopicamente, nas concentrações maiores de sôro.

Mais recentemente, GARGANI & SANTONI retomam o assunto e declaram que êsses anticorpos incompletos são revelados pelas técnicas de GRIFFITTS e de COOMBS. Confirmam que é possível utilizar a técnica de COOMBS em casos suspeitos de brucelose, com sorologia negativa pelas provas clássicas, bem como para a eliminação do fenômeno de zona. Convém ter em vista que nos títulos de 1/10 e 1/20 acham-se presentes anticorpos tipo COOMBS nos soros de indivíduos febris por outras causas.

Do que foi exposto, fica, de interesse prático, a noção de que quando há fortes suspeitas de estar-se ante um caso de brucelose mas no qual a prova de aglutinação comum é negativa, pode ser feita a prova com aquecimento prévio do sôro a 56°C durante 30 minutos, como aconselham RENOUX, BLANK e outros, ou diluindo o sôro e o antígeno em soros normais, misturados, de coelhos, como recomenda GRIFFITTS.

Sendo o fenômeno mais observado nas provas lentas, em tubos, os adeptos das provas rápidas encontraram nisso mais um argumento para aconselhá-las. Contudo, a incidência do fator de bloqueio é muito baixa e, nos casos suspeitos de brucelose, pode recorrer-se ao aquecimento do sôro. Além disso, segundo SPINK & ANDERSON, os anticorpos responsáveis pelo fenômeno de bloqueio estão presentes em concentrações tão pequenas que não interferem com a prova diagnóstica para brucelose.

k) *Aglutinações rápidas em lâminas* — Desde há muito tempo as provas para diagnóstico de brucelose utilizando *sangue total* vinham sendo praticadas, principalmente na brucelose bovina. Nos trabalhos recentes de CEDRO e de SPINK & ANDERSON, encontram-se referências precisas sobre o assunto.

As primeiras experiências importantes parecem ter sido feitas por CASTAÑEDA & SILVA, em 1938, para o diagnóstico rápido da brucelose, à cabeceira do enfermo. Outros autores adotaram o procedimento. Deve ser assinalado que já em 1935, WELCH & MARSH propunham o emprêgo da aglutinação de brucelas, com sangue total, para bovinos.

A prova pode ser feita com sangue total citratado ou com sangue recolhido diretamente da polpa digital. O antígeno é corado com azul de metileno, segundo a técnica de CASTAÑEDA, publicada em sua monografia, e divulgada em detalhe por SPINK & ANDERSON.

Para a realização da prova, uma gôta do antígeno é colocada numa lâmina limpa, com o auxílio duma alça de metal com diâmetro de 4 mm. Uma gôta de sangue é colhida com a mesma alça, depositada na lâmina e misturada com o antígeno. Espalha-se numa área aproximadamente de 15 mm de diâmetro. Quando a lâmina é inclinada ligeiramente, a mistura de sangue com antígeno deve acumular-se na parte mais baixa do círculo. Agita-se inclinando-se cuidadosamente a lâmina, com rotação pela periferia do círculo. Para isto, CASTAÑEDA recomenda colocar a lâmina presa a uma placa de Petri e esta fixada a um disco de vitrola que deve estar preso ao eixo formando um ângulo de 30°. Dentro de 30 a 60 segundos de rotação, a presença de quantidade suficiente de anticorpos para brucelas determina a formação de anel azul nítido na periferia, com um centro avermelhado, que resulta da separação entre os glóbulos e o antígeno aglutinado; os grumos de brucelas, sendo mais

pesados, vão para a periferia. A velocidade e a intensidade da reação geralmente relacionam-se diretamente à quantidade de anticorpos presentes no sangue. Numa reação negativa o anticorpo não existe ou está presente numa concentração baixa demais para ser observada e, então, um anel vermelho se forma, pelo acúmulo de hemátias na periferia, circundando uma mistura uniforme, de coloração esverdeada (hemátias + antígeno) (Fig. 144).

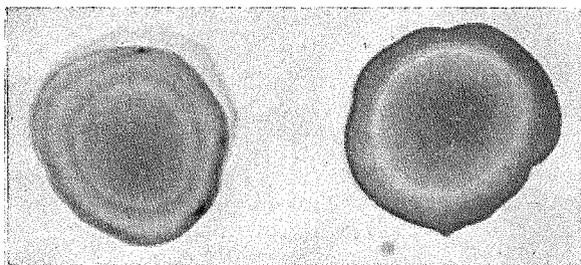


Fig. 144 — Aglutinação rápida com sangue total. À esquerda, prova negativa; à direita, prova positiva. Antígeno corado com azul de metileno. Técnica de Castañeda. Segundo SPINK & ANDERSON.

Segundo SPINK & ANDERSON, essa prova rápida com sangue total fornece resultados comparáveis aos da prova lenta em tubos, ao contrário do que geralmente se observa com outras provas rápidas, em que os erros são muitos e grosseiros. Fizeram 1.082 provas com boa concordância.

O próprio idealizador da prova, CASTAÑEDA, em trabalho posterior, em 1953, é mais reservado; embora mostre a correspondência da prova com os resultados obtidos nas comuns, ao rever o problema das provas rápidas, conclui que em geral uma rápida bem feita pode ser satisfatória para triagem, com o sentido de verificar a presença de anticorpos mas para a titulação destes nenhuma prova rápida é tão precisa que possa comparar-se ao método de diluição em tubos.

Convém notar que a prova exige boa padronização do antígeno. Detalhes para isto são encontrados no trabalho de SPINK & ANDERSON.

BRUMPT, em 1940, recomendou técnica semelhante, usando como antígeno uma suspensão de brucelas em citrato de sódio a 10% e formolada a 0,2%; mistura uma gota de antígeno e uma gota de sangue; ao fim de 1 a 4 minutos, na periferia da gota observam-se os germes aglutinados.

Para os bovinos, CEDRO utiliza a mesma prova, com antígeno ligeiramente modificado pela adição de ácido acético; contudo, êsse antígeno apresenta sensibilidade que julgamos exagerada, pois reage positivamente em presença de sangues cujos soros aglutinam, com os métodos comuns, em títulos a partir de 1/50 parcial. O antígeno de CASTAÑEDA somente aglutina em presença de sangues cujos soros apresentam título de 1/100 total ou mais.

MOLINELLI, STURA e ROSSI, também na Argentina, segundo CEDRO, experimentaram o antígeno com resultados comparáveis aos obtidos com os processos comuns.

Temos notícia de que, em nosso meio, RIEDMÜLLER vem fazendo experiências com a sôro-aglutinação com sangue total, em lâminas, para o diagnóstico da brucelose bovina. Os resultados, contudo, têm sido muito irregulares, na prática.

Uma vantagem da reação com sangue total seria a de eliminar os falsos resultados negativos devidos ao fenômeno de bloqueio. Entretanto, segundo a opinião de SPINK & ANDERSON, os anticorpos responsáveis pelo fenômeno de bloqueio estão presentes em concentrações tão pequenas que não interfeririam com a prova diagnóstica para brucelose.

A aglutinação rápida, em lâmina, com *sôro sanguíneo*, também chamada prova de HUDDLESON, é a que maior generalização encontrou por toda parte. Suas falhas, entretanto, são tão grandes que ultimamente têm sido desaconselhada. Contudo, principalmente em veterinária, ainda pode prestar serviços, desde que feita sob os mais rigorosos detalhes técnicos, o que, infelizmente, não é obedecido.

Usa-se um antígeno corado e padronizado de tal forma que possam ser feitas provas cujos resultados correspondam, na prova em tubos, aos títulos de 1/25, 1/50, 1/100, 1/200 e 1/500. Para que se tenha uma idéia dos inúmeros defeitos da prova é suficiente dizer que o título 1/500 baseia-se na pipetagem de 4 milésimos de centímetro cúbico (0,004 ml), isto feito no campo e com que pipetas! O animal é considerado infectado, por exemplo com base numa pipetagem de 0,02 ml!

Detalhes sôbre o preparo do antígeno e a realização da prova podem ser encontrados em manuais de bacteriologia, no livro de HUDDLESON e nas publicações do Grupo Misto de Peritos em Brucelose, da WHO/FAO.

1) *Aglutinação com frações de brucelas, adsorvidas em colódio ou em hemátias* — Levando em conta as limitações encontradas nas provas comuns de aglutinação, HIRSCHBERG & YARBROUGH experimentaram adsorver frações de brucelas em partículas de colódio ou em hemátias. Conseguiram obter extratos que, adsorvidos em colódio, serviram de antígeno para as provas de aglutinação, apresentando sensibilidade e especificidade para a verificação de anticorpos em sôro sanguíneo. Alguns dos extratos sensibilizaram hemátias de carneiro em grau limitado, sendo adequados para as provas de hemaglutinação na descoberta de anticorpos. As provas feitas pareceram altamente específicas e merecem experimentação em maior escala. Aliás, estudos preliminares feitos em Montpellier por CARRÈRE & ROUX no tocante à adsorção em hemátias (hemaglutinação passiva de hemátias por antígenos de brucelas ou substâncias solúveis específicas) parecem indicar um futuro promissor com esta técnica.

m) *Aglutinação e sensibilidade cutânea* — Um problema bastante sério na prática médica, relacionado com as provas de laboratório para brucelose, é o que diz respeito à possível formação de anticorpos aglutinantes em indivíduos submetidos à vacinoterapia específica ou à intra-dermo-reação.

Desde que foi introduzida no arsenal diagnóstico para a brucelose a prova intradérmica, de toda a parte surgiram afirmações de que o emprego dos alergenicos engendraria a formação de aglutininas no paciente. A literatura é abundante mas convém referir, apenas, que a afirmação é verdadeira quando se injetam suspensões de brucelas e, mais raramente, certos extratos de brucelas, dos muitos usados com finalidades diagnósticas. Com outros produtos extraídos dos germes, justamente os mais eficientes para o diagnóstico, o perigo não existe.

Uma norma que deve ser seguida na rotina consiste em só fazer a prova intradérmica depois de colhido o sangue para as outras provas sorológicas, principalmente aglutinação.

Para não alongar este tópico, veremos alguns resultados a que chegaram, recentemente, investigadores que se dedicaram ao assunto e em cujos trabalhos pode ser encontrada a maior parte da literatura básica.

Usando brucelergeno, KRAKAUER & Cols. verificaram que a injeção do mesmo em 85 pessoas normais, que não tinham brucelose, não determinou o aparecimento de aglutininas no sangue circulante. Ao contrário, quando o mesmo alergenico foi usado em 34 pessoas com evidências clínicas de brucelose mas com soro-aglutinações negativas, as provas aglutinantes feitas mais tarde, revelaram-se positivas.

CARPENTER & Cols. realizaram investigações detalhadas em cobaias usando diversos alergenicos: suspensão de *Br. abortus* morta pelo calor (200 milhões por ml), brucelergeno e brucelina; um grupo de cobaias serviu de testemunha. Injeções intraperitoniais repetidas de brucelina ou brucelergeno não determinaram a produção de aglutininas ou de anticorpos fixadores de complemento em títulos significativos mas a suspensão de brucelas, injetada nas mesmas condições, foi antigênica, determinando a formação de anticorpos. A quantidade de cada um dos alergenicos necessária para produzir anticorpos é, contudo, muitas vezes superior à usada em provas intradérmicas sucessivas; a ordem crescente de antigenicidade das preparações de brucelas experimentadas foi a seguinte: brucelergeno, brucelina e suspensão de brucelas.

Um aspecto diferente do assunto é o do desaparecimento das aglutininas após a dessensibilização dos pacientes com extratos de brucelas. Na opinião de diversos autores, quando um indivíduo recebe doses sucessivas de alergenicos com finalidade terapêutica, ao mesmo tempo que desaparece a sensibilidade cutânea, também vão desaparecendo as aglutininas, o que seria indicio de cura. É o que tem sido observado entre nós, em doentes tratados com vacinas, cujos títulos aglutinantes desaparecem ao cabo da cura clínica.

n) *Aglutinação e antibióticos* — São relativamente poucos os trabalhos sobre a evolução das aglutininas em indivíduos tratados com antibióticos.

A pesquisa mais importante, em pacientes humanos, deve-se a KILLOUGH & Cols., que trabalharam no Egito, em casos de infecção por *Br. melitensis*, comprovados bacteriológicamente. Selecionaram 100 casos e trataram os pacientes com diversos antibióticos, principalmente aureomicina e terramicina, em geral durante 1 mês. Os doentes foram

acompanhados periodicamente, sendo observadas quedas progressivas dos títulos aglutinantes 4 e 8 meses após o término do tratamento, com aparente cura clínica, embora de muitos pacientes ainda pudessem ser isoladas brucelas. Os autores dizem textualmente: "Da mesma forma que neste estudo, outros autores observaram quedas nos títulos aglutinantes depois de cura aparente. Deve ser notado, entretanto, que alguns pacientes ainda tinham títulos "diagnósticos" 8 meses depois de tratamento aparentemente bem sucedido. Nestes casos as aglutinações não são indicativas de continuação da infecção porque seus títulos ocorrem numa escala descendente". Um gráfico apresentado pelos autores é bastante elucidativo (Fig. 145).

Por sua vez, em infecções experimentais em cobaias, CARPENTER & Cols., na Califórnia, e CRUICKSHANK, na Inglaterra, também demonstraram queda progressiva dos títulos aglutinantes nos animais submetidos a tratamentos com antibióticos, isso correspondendo, no segundo caso, a diminuição dos isolamentos de brucelas nesses animais.

CRUICKSHANK, em 1949, realizou experiências de tratamento de cobaias com sulfadiazina e aureomicina. Verificou que a curva de aglutininas em animais que receberam injeções de sulfadiazina ou sulfadiazina mais sangue (processo de HUDDLESON) baixava bastante, em comparação com a dos animais não tratados ou que recebiam apenas sangue citratado homólogo; contudo, alguns animais ainda apresentavam evidências de infecção. Com aureomicina o tratamento seguiu diversos esquemas; os títulos aglutinantes baixaram inicialmente, para subir algum tempo depois de cessado o tratamento. Com relação à aureomicina diz o autor: "Aureomicina, nas doses empregadas, não produziu esterilização bacteriológica mas teve um efeito nítido na evolução da doença pois as lesões nas cobaias tratadas eram muito menos evidentes do que nas testemunhas e a formação de aglutininas foi grandemente inibida". No final do trabalho, CRUICKSHANK declara que a curva de formação de aglutininas nos animais tratados com sulfadiazina ou com aureomicina difere grandemente da que apresentam os animais não tratados; a estimativa dos títulos sanguíneos obtidos por punção cardíaca pode ser útil no sentido de avaliar se um medicamento merece ser empregado clinicamente.

CARPENTER & Cols. observaram, confirmando pesquisas de outros autores, a baixa das aglutininas em cobaias infectadas com brucelas e tratadas com certos antibióticos. Trabalhando com terramicina, verificaram êles que a baixa dos títulos era muito nítida. Devido à possibilidade de que os antibióticos, principalmente a terramicina, pudessem interferir na produção de anticorpos, em vez da hipótese geralmente aceita de que êles agem diminuindo a produção de antígenos, fizeram experiências para elucidar o assunto. Os títulos aglutinantes foram determinados com vários intervalos após a infecção de cobaias com *Br. abortus* ou de injeção dos germes mortos. Também foram avaliados os títulos no sôro de cobaias infectadas da mesma forma porém tratadas com doses variáveis de terramicina. Os resultados indicaram que a terramicina não possui efeito significativo na capacidade de produção de anticorpos por parte do animal infectado e que a baixa dos títulos aglu-

tinantes parece devida à falta de produção de antígeno, confirmando a hipótese geralmente aceita.

Recentemente, THIAGO DE MELLO & Cols., acompanhando as curvas de aglutininas em bovinos naturalmente infectados e tratados com o antibiótico micoína, verificaram baixa progressiva dos títulos, após rápida elevação inicial. Essa baixa correspondeu a melhoria do estado físico dos animais e diminuição do isolamento de brucelas dos mesmos. Comparando essas curvas de aglutinação com a do trabalho de KILLOUGH & Cols., notaram grande semelhança entre as mesmas, sendo de ressaltar que o número de injeções feitas nos animais foi muito pequeno e a quantidade total de micoína jamais ultrapassou de 6 gramas (Fig. 145).

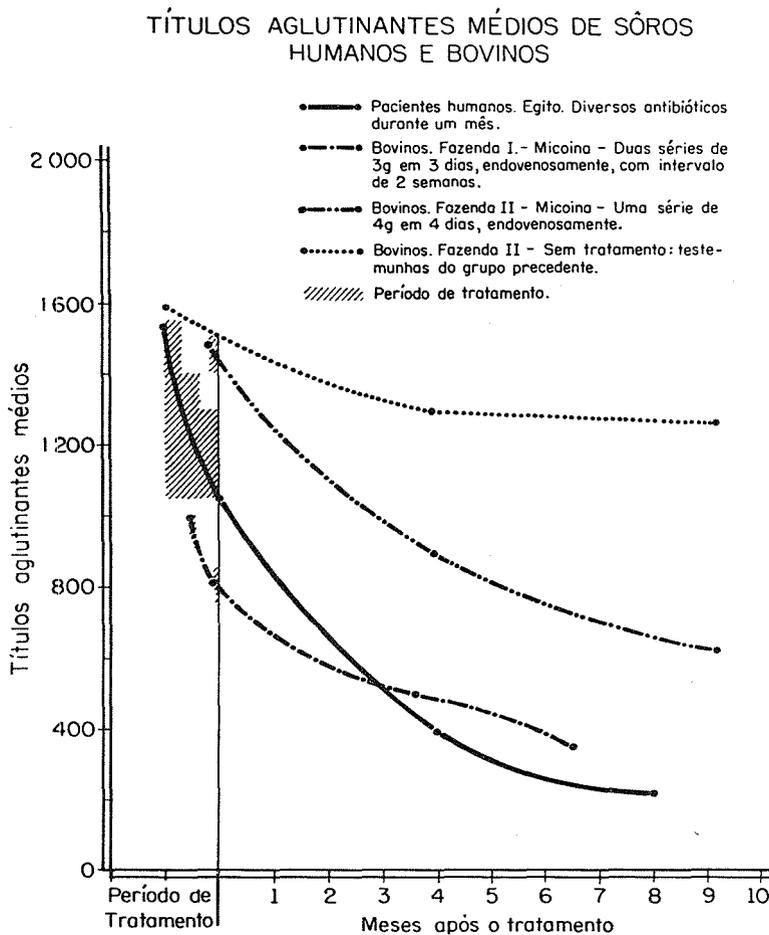


Fig. 145 — Curvas de aglutinação para brucelose em pacientes humanos e em bovinos, tratados com diversos antibióticos e acompanhados durante vários meses. Segundo KILLOUGH & Cols. e THIAGO DE MELLO & Cols.

Dos trabalhos citados acima, principalmente o de KILLOUGH & Cols., que é o mais importante já feito até hoje sôbre o assunto, resta a indica-

ção de que a cura da brucelose, tanto sob o ponto de vista clínico como bacteriológico, é acompanhada de queda progressiva dos títulos aglutinantes. Se êstes, inicialmente, são baixos, embora positivos, no fim de algum tempo chegam a tornar-se negativos, tal como aconteceu nas experiências de THIAGO DE MELLO & Cols.

A queda ou o desaparecimento de aglutininas no curso ou no final do tratamento tem significação clínica porque, examinado o sangue por um laboratorista que desconheça esta circunstância, pode o mesmo contradizer um diagnóstico de brucelose feito anteriormente, baseado na prova aglutinante, pondo em dúvida o primeiro resultado e o critério clínico que firmou o diagnóstico inicial.

o) *Provas de aglutinação com leite* — As provas de aglutinação com leite podem ser efetuadas com o lacto-sôro (após coagulação) ou com o leite total (prova de anel). A primeira delas não tem sido mais usada em rotina porém a segunda constitui, atualmente, um dos melhores recursos para diagnóstico da brucelose bovina e será descrita pormenorizadamente no capítulo da Brucelose Animal.

---

### 3. PROVA INTRADÉRMICA

De tôdas as provas para diagnóstico da brucelose, nenhuma tem sido submetida a maior discussão do que a intradérmica. Muitas das restrições que lhe são feitas têm procedência mas outras são agravadas pelo exagero. SPINK, por exemplo, nenhum valor lhe dá, enquanto alguns pesquisadores, ao contrário, colocam-na entre as melhores. Uma boa apreciação sôbre o assunto é encontrada na monografia de HARRIS.

Não pretendendo entrar na discussão, achamos, contudo, que desde que a prova seja feita com certas precauções, é realmente de grande valor no diagnóstico da infecção.

O primeiro material utilizado com finalidade diagnóstica foi a melitina, um filtrado de cultura de *Br. melitensis*, preparado por BURNET; em 1922; anteriormente, contudo, já FLEISCHNER & MEYER, em 1918, haviam descrito provas cutâneas com *Br. abortus* morta.

A prova consiste em injetar intradérmicamente, na face anterior do antebraço, uma certa quantidade de alérgeno, por meio de agulha fina, de bisel curto, adaptada à seringa do tipo insulina ou tuberculina, apropriada a essa prova.

As técnicas de preparação dos antígenos devem ser procuradas nos trabalhos citados. Em geral basta uma inoculação, de um dos antígenos, mas é sempre necessário fazer uma contraprova noutro braço ou noutro local, com salina.

A leitura da reação é variável conforme o tipo de antígeno usado. Em geral deve ser feita após 48 horas da injeção. Observam-se o edema formado, o eritema e a pápula. JANBON chama a atenção para a denominada reação branca, em que não aparece rubefação mas apenas edema. É muito importante observar o paciente durante as primeiras 48 horas;

a temperatura deve ser tirada algumas vezes ao dia (no mínimo 2 vezes); verificar se houve exacerbação dos sintomas apresentados pelo enfermo ou súbita melhora. Leituras por prazos maiores, até 10 dias, têm sido aconselhadas.

Duas recomendações essenciais devem ser feitas quanto à prova intradérmica:

1.º — O alergeno não deve ser antigênico, isto é, não deve, por si só, determinar o aparecimento de aglutininas ou sensibilizar o paciente.

2.º — A prova intradérmica deve ser feita depois de executadas todas as outras, para evitar qualquer possibilidade de interferência da mesma com os outros recursos diagnósticos, mesmo que nela sejam usados haptenos (antígenos parciais, frações de brucela) que, normalmente, não são antigênicos nem produzem essa interferência.

Na opinião de CARRÈRE, um bom alergeno deve preencher os seguintes requisitos: 1) não sensibilizar o paciente; 2) ser ativo na dose de 0,1 ml; 3) ser específico, mediante provas em indivíduos normais (homens e animais). A leitura da reação deve ser antes digital (edema) do que visual (eritema).

Podemos adotar o seguinte quadro para as substâncias que têm sido usadas para a prova alérgica diagnóstica na brucelose:

*Grupo I — Suspensões bacterianas*

- a — Germes mortos pelo calor, formol, fenol, álcool
- b — Antígeno de Mirri (cultura mais sôro antibruceloso)
- c — Brucelergeno K, de Golem
- d — Vacina de *Br. abortus* diluída (antígeno de Giordano)

*Grupo II — Filtrados de caldo de cultura*

- a — melitina, de Burnet
- b — brucelina, de Dubois & Sollier

*Grupo III — Frações extraídas*

- a — filtrado de germes congelados e descongelados, de Schoenholz & Meyer
- b — brucelergeno, de Huddleson & Cols.
- c — derivado proteínico purificado ou liofilizado, de Morales-Otero & González (PBP)
- d — filtrado sônico, de Stubbs & Live
- e — derivado polissacarídico, de Lederle Co.
- f — derivado desengordurado, de Levin
- g — antígeno glicolípido, de Piroski & Molinelli
- h — brucelergeno P, de Golem
- i — antígeno MBP, de Castañeda & Carrillo, extraído com éter, álcool e clorofórmio
- j — frações obtidas com detergentes, de Benedict e de Benedict & Elberg

- k — antígenos bacterianos complexos (BAC de Hoffman)
- l — antígeno polissacarídico tipo MBP, de Godglück
- m — proteína, de Pomales-Lebron
- n — polissacarídeo, de Braude
- o — derivado protéico, de Delez & Cols.
- p — hidrolisado ácido não antigênico, de Plum & Russeff; Krasov; Live & Stubbs; Ottosen & Plum (PEBA)
- q — polissacarídeo, de Mosimann
- r — polissacarídeo, de Fust & Cols.

Uma interessante revisão sôbre a importância da prova intradérmica no diagnóstico da brucelose foi feita por MEYER, no Congresso de Brucelose, de Washington. Observou êle que a reação foi criticada injustamente pelos que se esquecem de que brucelose não é sinônimo de invasão por brucelas. Se o enfermo não tem manifestações clínicas de brucelose mas acusa uma reação positiva, a prova não é forçosamente pseudo-positiva, antes reflete uma infecção anterior que jamais se manifestou. Com tôda a probabilidade a reação indica que, num tempo qualquer, a brucela invadiu os tecidos mas nada confirma a existência atual da infecção, com o germe em atividade. A sensibilidade alérgica, que é a base do mecanismo da reação, pode persistir até 30 anos e é mais constante que os resultados obtidos pelas provas de aglutinação ou pela fixação de complemento.

Como tôda sensibilidade alérgica, também pode ser afetada por fatores hormonais e emocionais. A ingestão de antígenos de brucelas não provoca, por si só, reação cutânea. MEYER conclui dizendo que antes de utilizar-se a prova para o diagnóstico dum caso, é mister procurar-se um antígeno adequado pois, a não ser assim, deve ser condenado o emprego sistemático dos antígenos brucelosos nas provas intradérmicas utilizadas para determinar a doença.

Mais radicais do que as opiniões de MEYER são as do Comitê de Aspectos Sanitários da Brucelose, do Conselho Nacional de Pesquisas Norte-Americano, sob a presidência de SPINK. Eis a sua opinião no que se refere ao critério para revelar a brucelose humana: "A prova intradérmica não diagnostica a infecção brucelosa, não constitui um auxílio no diagnóstico da doença e o seu uso é muito pouco útil para essa finalidade. Como processo diagnóstico deve ser abandonada". Contudo, reconhecem SPINK & Cols. que, sendo essa reação específica para brucelas, tem algum mérito em inquéritos epidemiológicos para avaliar o grau de exposição duma população à brucelose. JORDAN & BORTS, pelo fato de 16% de indivíduos, aparentemente normais, no inquérito que empreenderam, apresentarem respostas alérgicas depois do emprego de brucelergeno, julgam que isto constitui evidência da ineficácia da prova cutânea, sòzinha, para estabelecer o diagnóstico clínico da doença.

A êsses indivíduos que apresentam reações positivas à prova intradérmica mas não manifestam outro sinal da doença, PURRIEL & Cols., citados por PANZERI, chamam de "contactados". Segundo êste último autor, a sensibilidade alérgica aparece após 10 dias de enfermidade e perdura até muitos anos depois da cura.

Ao contrário da opinião de MEYER, de SPINK e seus colaboradores, a maioria dos especialistas dá valor à intradermo reação, não como recurso diagnóstico exclusivo e sim como prova auxiliar, sobretudo para indicar se o indivíduo teve ou não contacto atual ou passado, com o germe.

A êsse propósito, o parecer de CASTAÑEDA é de grande importância. Diz êle que a prova alérgica indica que o indivíduo foi exposto à infecção brucelosa, acompanhada ou não de sintomas da doença. Concedendo-lhe valor como prova de infecção ativa pode-se incorrer em grave erro. De outro lado, uma prova negativa pouco significa por si mesma, pois que noutros casos, particularmente na fase aguda, alguns pacientes não reagem alérgicamente. Apenas leva êle em consideração, trabalhando com seu antígeno diagnóstico (MBP), as reações com área de edema e congestão de 2 cm ou mais. Sua estatística mostrou que 24% dos doentes com brucelose ativa apresentaram prova cutânea negativa. Descreve, ainda, reações com mais de 3 cm de diâmetro, em pessoas que não apresentavam nenhum sintoma, estando também ausentes as aglutininas e as brucelas, no sangue. Resume sua experiência do seguinte modo: 1) a prova é negativa nos primeiros estádios da infecção; 2) geralmente acompanha as várias fases da doença, estando presente a partir do primeiro mês e podendo mostrar-se alternadamente positiva e negativa, no decurso da enfermidade; 3) as provas positivas são menos freqüentes durante a bacteriemia; 4) a intensidade máxima aparece quando se estabelecem as curas clínica e bacteriológica; 5) permanece positiva por tempo indefinido, como índice de infecção passada; 6) uma prova intradérmica positiva de intensidade muito grande, pode ser o único sinal duma doença crônica.

De acôrdo com esta última observação de CASTAÑEDA, estão os resultados obtidos por BAUMEISTER & DARLING, num grande número de pacientes: 500 num grupo não selecionado e 100 escolhidos por apresentarem sintomas nervosos do tipo neurastênico. Ao fim de seu trabalho os autores concluem que a prova intradérmica constitui um auxílio no diagnóstico da brucelose crônica; quando usada sob condições controladas é, provavelmente, o melhor recurso para o diagnóstico, nessa fase da doença.

Em 1953, CASTAÑEDA confirmou a validade da prova intradérmica, retificando algumas de suas afirmações pessimistas anteriores. Reconheceu que não podia basear-se nessa prova como método de diagnóstico na brucelose, mas era impossível não considerar o fato de que, na sua clínica, as reações intradérmicas, efetuadas em condições ótimas, permitiram obter uma contribuição não desprezível no estudo da brucelose no homem. Declara êle que é possível que os antígenos muito ativos ou os muito fracos não apresentem interesse clínico, mas os haptenos (frações antigênicas, antígenos parciais), bem titulados, podem servir nos seguintes casos: 1) o resultado sendo negativo no decurso dos primeiros estádios da doença, pode o clínico servir-se dêles para diagnosticar qualquer recaída, sendo a prova geralmente positiva neste caso; 2) no decurso da doença, as variações de intensidade da reação intradérmica podem indicar certas modificações do mecanismo defensivo do doente;

3) a reação conserva habitualmente todo seu valor durante as fases tardias da enfermidade, principalmente quando esta se encontra com possibilidade de ser exacerbada pela irritação persistente devida às brucelas. Essa prova, freqüentemente, serviu como única indicação não só de uma infecção anterior como, também, dum estado de hipersensibilidade acompanhado de manifestações clínicas que podem relacionar-se à brucelose crônica. Na sua experiência, as provas intradérmicas foram positivas em 50% dos casos nos três primeiros meses da doença, elevando-se para 90% no sexto mês.

JANBON declara ter obtido sempre bons resultados com a melitina do Centro de Estudos de Brucelose de Montpellier (filtrado de culturas de vários tipos de brucelas virulentas). A reação obtida é facilmente reconhecida, desde que seja levado em conta o principal fator que é o edema, ao lado das chamadas reações brancas, antes referidas, em que aparece unicamente êsse sinal. Na sua opinião, a prova intradérmica e a hemocultura simplesmente indicam que o paciente está infectado; não esclarecem em que fase da evolução da doença êle se encontra.

PANZERI diz que os indivíduos que reagem positivamente podem ser: 1) os que adquirem doença aguda especial ou reativação aguda numa forma crônica solapada e insidiosa (noutras palavras: surto de superinfecção ou de primo-infecção); 2) os que apresentam a modalidade crônica da enfermidade; 3) os curados de ambas as formas anteriores; 4) os que adquirem alergia cutânea positiva, sem nunca apresentar antes sintomas da doença (os "contactados" de PURRIEL & Cols.). Portanto, a prova positiva nem sempre indica doença presente, já que pode manifestar-se como reação de infecção provocada pelos próprios germes ou por produtos libertados por êles, alojados no organismo sem produzir doença.

ITHURRAT & Cols., do grupo de MOLINELLI, da Argentina, incluem a prova intradérmica entre as que consideram de valor para o diagnóstico da brucelose. Segundo êles, é absolutamente específica, aparecendo logo nas primeiras semanas de doença; aumenta gradualmente e perdura por anos após a cura, quando não por tôda a vida. Observaram casos raros de ausência de reações cutâneas e outros em que a prova só se tornou positiva no fim da infecção.

Na grande experiência de HARRIS, alguns detalhes, além dos já mencionados por outros autores, devem ser computados. Em trabalhos sucessivos aconselhou êle as vacinas constituídas por suspensões de germes mortos, a brucelina ou, ainda, os antígenos bacterianos complexos de HOFFMANN (BAC), bem como o brucelergeno. Uma recomendação importante consiste em utilizar sempre seringas novas ou as que tenham permanecido dum dia para outro em solução sulfocrômica, depois de usadas uma única vez; isto porque, outros antígenos podem aderir ao vidro indefinidamente, dando falsas reações. As vêzes quantidades mínimas são capazes de provocar uma reação bastante evidente, outras vêzes, esta é muito fraca ou demorada, de maneira que é aconselhável fazer repetidas leituras com 4 dias e, até, com 10 dias, como recomenda CRISCUOLO.

Um aspecto curioso da alergia brucelosa é que certos indivíduos hiperérgicos apresentam sensibilidade tal que doses mínimas provocam-

lhês reações muito intensas, gerais ou locais, chegando à necrose cutânea e ulcerações profundas que podem comprometer até os planos musculares (Fig. 146). GRIGGS declara que experiências controladas de-

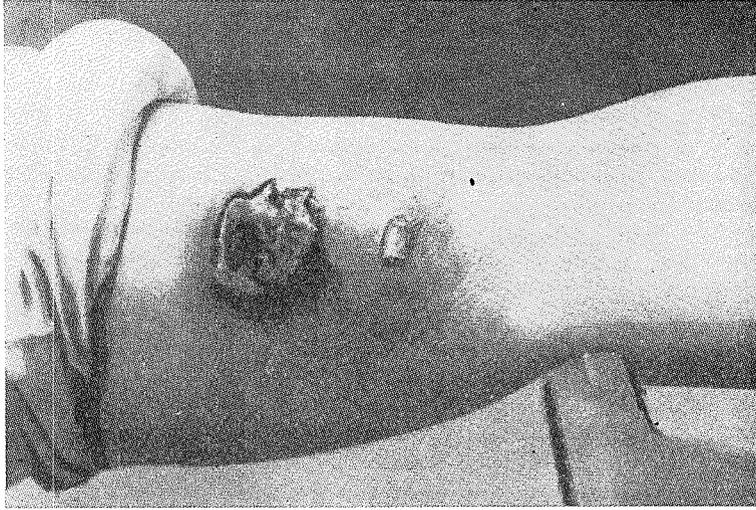


Fig. 146 — Necrose cutânea interessando os planos musculares, em consequência da injeção de 0,2 ml duma suspensão com 2 bilhões de brucelas por ml. Segundo ITHURRAT & COLS.

monstram que uma única brucela poderia ser demasiada, para certos pacientes. Mesmo vacinas, constituídas por soluções de substâncias específicas e diluídas convenientemente, poderiam dar lugar a reações extremamente intensas. Argumenta com o fato de que doses inferiores a de 1 bactéria  $\times 10^{-14}$  ainda poderiam causar reações, o que não deixa de ser um pouco fantástico: 0,00000000000001 duma brucela! Por êste motivo EISELE & McCULLOUGH ridicularizam tal afirmativa. Desprezando-se o exagêro provável apontado acima, convém reter, contudo, que em muitos enfermos a dose a ser inoculada deve ser medida cautelosamente, sobretudo quando há evidências de que a mesma poderá desencadear ou exacerbar manifestações de hipersensibilidade pre-existente.

Um ponto interessante a assinalar é a produção de reações focais cuja significação é análoga à que se observa nas provas tuberculínicas, isto é, evidenciam a localização de focos ativos ou reativados com a prova alérgica cutânea. Além disto, tais reações têm importância clínica porque os pacientes em que são observadas, reagem favoravelmente ao tratamento com antígenos específicos.

Terminando, convém acrescentar que o registro das reações observadas pode ser facilmente feito pelo clínico e conservado indefinidamente, com o recurso de delinear com tinta comum os bordos do eritema e da pápula apresentados; em seguida, aplicar sôbre o local um papel absorvente umedecido em água; uma leve pressão faz com que passem para êle os riscos a tinta que delimitavam os contornos do eritema e da

pápula; se o papel fôr cortado do tamanho de fichas, pode conter outras informações e ser arquivado para futuras referências (Fig. 147).

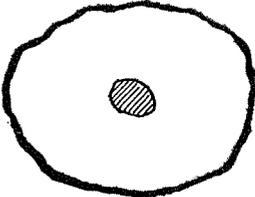
Nome:	Data:
Antígeno:	
	
Resultado:	
Observações:	

Fig. 122 — Modelo de ficha para registro dos resultados de provas intradérmicas mostrando os contornos da pápula e do eritema. Original.

#### 4. PROVA OPSONOCITOFÁGICA

A prova opsonocitofágica, durante algum tempo, esteve em grande evidência para o diagnóstico da brucelose mas, no momento, tem sido relegada a segundo plano, porquanto as opiniões dos autores variam muito quanto ao seu valor.

No Primeiro Congresso Interamericano de Brucelose, realizado no México, foram apresentadas algumas revisões importantes sobre o assunto.

A prova foi proposta inicialmente por HUDDLESON & Cols. e é feita da seguinte forma: Mistura-se o sangue citratado do paciente com uma suspensão de brucelas em fase lisa; incuba-se, sem agitação, durante 30 minutos e faz-se um esfregão da mistura numa lâmina; seca-se rapidamente e cora-se com o Giemsa ou outro corante usado em qualquer técnica para contagem específica; contam-se os germes existentes em 25 neutrófilos pelo menos. A prova é considerada *negativa* quando não ocorre fagocitose; *fraca*, quando são encontrados de 1 a 20 bacilos em média, por glóbulo; *moderada*, quando de 21 a 40 e *forte*, quando existem mais de 40. Neste último caso, os neutrófilos estão quase sempre completamente cheios de brucelas, sendo impossível a contagem. A presença de fagocitose intensa em menos de 40% dos glóbulos indica infecção, e em mais de 60%, um estado imune.

Na opinião de SPINK, quando um paciente se cura de brucelose, existe um aumento da capacidade dos neutrófilos de fagocitarem brucelas vivas e lisas mas os resultados da prova foram tão inconstantes,

na sua experiência, que não a considera de valor para o diagnóstico da brucelose.

Por sua vez, SHAFFER assinala que a prova não indica a presença ou ausência de infecção ativa mas pode ter algum valor diagnóstico, quando feita em boas condições e interpretada juntamente com os resultados de outras provas. Entre os problemas técnicos relacionados com a mesma, SHAFFER cita os seguintes: a) perigo em trabalhar com amostra viva de brucela; b) necessidade de realizar a prova dentro de algumas horas após a colheita do sangue; c) diferenças no número total de brucelas fagocitadas desde que se variem a concentração de citrato, a quantidade de brucelas na suspensão e a fase de variação em que se encontram os germes. É possível que o uso de suspensões formolizadas de brucelas, como propôs TOVAR, aumente a utilidade da prova, principalmente diminuindo as possibilidades de infecção de laboratório e mantendo o antígeno em boas condições por muito tempo, sem haver a necessidade de lidar-se com culturas recentes e vivas de brucelas, como exige a técnica original.

A técnica de TOVAR, acima referida, utiliza um antígeno corado e morto, feito de acordo com a de CASTAÑEDA: cultura de 24 horas, de uma amostra lisa de brucela, é suspensa em solução salina fisiológica, na proporção de 10%, durante 24 horas; centrifuga-se 3 vezes com salina, para lavar e, por fim, suspende-se em solução de citrato de sódio a 1%, obtendo-se uma concentração tal que diluída a 1/10 dê uma turvação igual ao tubo n.º 3 da escala de MacFarland; juntar verde brilhante, na diluição final de 1/50.000. Utiliza-se 0,1 ml desse antígeno para 1 ml de sangue; mistura-se bem e, após 30 minutos, junta-se 1 ml de formol a 1% ou, então, espalha-se sobre a lâmina e fixa-se (quando se junta formol, não precisa fixar); durante o contacto de meia hora, agitar cada 10 minutos. A quantidade de citrato é superior à preconizada por HUDDLESON (0,4%) e bastante para inibir a fagocitose normal. TOVAR considera os seguintes totais de brucelas em 25 leucócitos: até 8, negativo; até 18, suspeito; até 31, positivo e de 60 para cima, fortemente positivo.

ITHURRAT e seus colaboradores, na Argentina, em 11 anos de prática, tendo feito provas opsonocitofágicas em mais de 1.800 casos, confirmaram os resultados de HUDDLESON e colaboradores, dizendo ser a prova negativa nos indivíduos normais e positiva se estes adoecem de brucelose. A reação torna-se, em geral, fortemente positiva, na convalescença e persiste desse modo por muitos anos, só desaparecendo excepcionalmente. Declaram que a prova não tem valor prognóstico.

De 1944 a 1951, GRICHENER, na Argentina, realizou mais de 5.000 provas opsonocitofágicas e concluiu que é uma determinação útil e prática, sempre que efetuada de modo correto e seja adequadamente interpretada, quanto aos resultados. Chama a atenção para o fato de que é uma reação biológica e complexa, na qual entram diversas variantes; deve ser, em primeiro lugar, estritamente padronizada, seguindo-se os mínimos detalhes de técnica. GRICHENER constatou que nos indivíduos sem brucelose, o índice opsonocitofágico é sempre negativo.

O Comitê Norte-Americano para os "Aspectos de Saúde Pública da Brucelose", sob a presidência de SPINK, refere-se à prova opsonocitofágica da seguinte forma: "É uma prova complicada que, para ser de va-

lia, deve ser precisamente controlada. Pequenas variações na cultura empregada podem tornar os resultados sem valor algum. Deve ser feita logo após a colheita do sangue. Não é prática para o uso em rotina. As informações que fornece são de pouco significado para o diagnóstico ou para o prognóstico. Não é recomendável o seu uso”.

Segundo HUDDLESON, a prova deve ser acompanhada, pelo menos, da sôro-aglutinação e da intradermo-reação e os resultados das 3 forneceriam as seguintes indicações:

Aglutinação	Intradérmica	Fagocitose	Interpretação
—	—	0 a 20 fraca	Suscetibilidade
—	+	0 a 40 intensa	Infecção?
+	+	0 a 40 intensa	Infecção
—	+	60 a 100 intensa	Imunidade
+	+	60 a 100 intensa	Imunidade

Um bom trabalho sôbre o valor opsônico na brucelose foi apresentado por CANTU RAMIREZ ao 1.º Congresso Inter-Americano de Brucelose, no México. Apresenta maneiras de efetuar a correção dos resultados. Os valores do índice variam muito no seu significado quanto ao grau de infecção e imunidade. CASTAÑEDA observou casos agudos com índices elevados e casos crônicos com índices baixos ou nulos, até em exames feitos no dia da morte do paciente. Há que considerar, em certos doentes, apesar dos baixos índices, o número absoluto de polinucleares que é elevado, existindo suficiente quantidade de opsoninas para defesa fagocitária. O contrário também pode existir. Para obviar esses

erros de cálculo, CASTAÑEDA propôs uma fórmula 
$$Vc = \frac{Pa / Io}{10^4}$$

em que  $V_o$  significa o valor opsônico,  $P_a$  o número absoluto de neutrófilos e  $I_o$  o índice opsônico. O valor opsônico terá, de acôrdo com esta fórmula uma escala mais reduzida que a empregada na determinação do índice opsônico, sendo o limite inferior 0 e o máximo a partir dum

número que se obtém da seguinte maneira: 
$$V_o = \frac{4.500 \times 100}{10^4} = 45,$$

sendo o número 4.500 considerado como normal para o valor absoluto de neutrófilos. O número 45 pode ser maior, porém seu significado estará fora do comum, pois, pode acontecer que um bruceloso tenha infecção intercorrente capaz de provocar leucocitose e então a interpretação do  $V_o$  será falseada. Valores acima de 15 deram casos benignos e abaixo de 10 foram incertos, com oscilações de piora e melhora, no curso da doença.

Ao mesmo Congresso, HARRIS & Cols. apresentaram interessante trabalho sôbre a prova opsonocitofágica, declarando que os resultados obtidos com uma mesma amostra de sangue, em vários laboratórios, podem variar de 100% de células fagocitadas até 25%, com graus intermediários.

Nesse trabalho e na Monografia de HARRIS, apontam-se as seguintes causas de erro na prova:

1) Dissociação das amostras de brucelas empregadas, porque é sabido que a forma R dá elevado grau de fagocitose, sendo necessário verificar a fase em que se encontra a amostra utilizada. No capítulo conveniente mostramos como se identificam e se mantêm as amostras em fase S, convindo acentuar que CASTAÑEDA, para verificá-las, usa sangue de cobaia normal e suspensões de brucelas a examinar; se houver fagocitose, trata-se de amostra imprópria para a reação opsonocitofágica. HUDDLESON aconselha como processo mais simples, praticar provas com a amostra de sangue suspeito e de normal. As amostras capsuladas não se prestam para a prova porque são dificilmente fagocitadas.

2) Emprêgo de culturas mortas, seja pelo calor, formol ou fenol, que dão resultados inferiores aos alcançados com culturas vivas (contrariando a opinião de TOVAR).

3) Emprêgo de concentrações variáveis de brucelas, que fazem divergir consideravelmente os resultados, segundo HUDDLESON.

4) Concentrações variáveis de citrato. TOVAR emprega 1% mas parece que a concentração proposta por HUDDLESON, de 0,4% é mais aconselhável. HARRIS & Cols. preferem esta porém reconhecem que os casos de TOVAR referiam-se a pacientes com brucelose aguda por *Br. melitensis*, enquanto que os seus eram crônicos e por *Br. abortus*. Mais tarde, HARRIS preferiu empregar a de 0,8%.

5) Uso de várias espécies de brucelas. Preferir *Br. abortus* porque é mais fácil de padronizar e oferece menos perigo aos técnicos.

6) Emprêgo de sais de potássio em vez dos de sódio, como anti-coagulantes. Não foram observadas diferenças entre os dois.

7) Tempo decorrido entre a colheita de sangue e a execução da prova. Parece que é melhor fazer dentro de 2 horas, no máximo, embora certos sangues tenham conservado sua atividade até 6 horas depois.

8) Corantes alterados podem fazer contar precipitados de corante por brucelas.

9) Métodos de coloração. É preferível o de Hasting, servindo o de Wright. HUDDLESON usa o de Calmette, Nègre & Boquet; ALICE EVANS dá preferência ao azul de toluidina fenicado, de Bordet-Gengou, dissolvendo previamente as hemátias numa solução de ácido acético a 1% com 5% de formol.

10) Variações das leituras feitas por diferentes pessoas. Devem-se contar os germes e não simplesmente assinalar se a fagocitose foi maior ou menor.

11) Método de fazer os esfregaços. As preparações feitas em lâminulas são preferíveis porque os leucócitos se espalham melhor.

Quanto ao *significado da prova*, HARRIS & Cols. acham que ela tem mais valor nos indivíduos não vacinados e nos quais não tenham sido feitas provas intradérmicas com brucelas. Se a prova não é correlacionada com a intradermo-reação, tem significado muito pequeno.

Com a observação em centenas de casos, durante 10 anos aproximadamente, êsses autores chegaram às seguintes conclusões:

1) A prova é principalmente quantitativa e não deve ser expressa simplesmente como "positiva" ou "negativa". Uma média de 24, por exemplo, poderia significar: a) que o paciente está infectado ou b) que teve uma infecção anterior mas que está sujeito a uma recaída. A superposição de infecção presente aumenta, no entanto, se é acompanhada de prova cutânea positiva.

2) Provas negativas ou fracamente positivas podem indicar falta de resistência à infecção e estar presentes com as outras provas positivas.

3) A hipótese de HUDDLESON, de que uma prova negativa acompanhada de sôro-aglutinação e reação cutânea também negativas, é índice de suscetibilidade, não se justifica, não tendo nenhuma base experimental. Apenas significa que o paciente não está infectado.

4) Igualmente a opinião de HUDDLESON, de que diante duma prova aglutinante negativa, uma intradérmica positiva e uma opsonocitofágica negativa seria um caso de reação cutânea falsa, não está certa porque têm-se encontrado casos tais com hemoculturas positivas. Não existem evidências de que haja provas cutâneas positivas não específicas com proteínas de brucelas.

5) Um índice fagocitário elevado, de mais de 60% de leucócitos, representa, para HUDDLESON, uma indicação de imunidade; todavia, encontram-se êsses índices, em casos com hemoculturas positivas repetidas e, até, em casos mortais.

6) No decurso do tratamento com proteínas extraídas de brucelas, a atividade fagocitária tem significação prognóstica. Quase sempre o progresso clínico do paciente, num ou noutro sentido, é paralelo à elevação ou à baixa do índice opsônico. As exceções a esta regra podem ser: a) presença de infecção muito intensa para a qual mesmo graus elevados de resistência podem ser insuficientes; b) nas infecções focais, tais como salpingites, os sintomas podem persistir, embora exista um alto grau de resistência; c) nos casos de cura, o índice baixo não tem significação e, naturalmente, não há recidiva; d) nas crianças, um grau menor de resistência que a necessária para os adultos, dará uma proteção adequada contra as recaídas.

Importante trabalho a respeito dessa prova, com boa revisão da literatura, é o de VICTOR & COLS. publicado em 1952 e feito nos Laboratórios de Camp Detrick. Primeiramente, verificaram que o citrato de sódio é capaz de inibir tanto a opsonização quanto a fagocitose e, já que o índice opsonocitofágico depende de ambas as funções, não é recomendável o citrato, preferindo-se a heparina. Uma declaração significativa e que bem mostra a relatividade dos resultados até então publicados, é a seguinte: "Tentativas para contar as brucelas no interior dos neutrófilos polimorfonucleares não têm sido feitas com sucesso em nosso laboratório". Realmente, há grande dificuldade para a contagem dos germes no interior dos leucócitos e as causas de êrro são evidentes, com as superposições, confusões com precipitados de corante, etc. Por êsses mo-

tivos, VICTOR & COLS. preferiram executar um método de determinação das opsoninas no sôro e em plasma heparinizado, controlando os vários fatores físicos e fisiológicos que influenciam a fagocitose de brucelas, tais como: número de germes, características da amostra, agitação, tempo e temperatura de incubação, tipo de leucócito e variabilidade da medida da fagocitose. A proporção de leucócitos que fagocitaram brucelas é determinada pela observação de pelo menos 50 neutrófilos; não é necessária a contagem do número de brucelas fagocitadas em cada. Uma prova positiva é definida como aquela em que 94 a 100 neutrófilos fagocitam brucelas; obtiveram-se resultados iguais, repetidos, 996 vezes em 1.000. O método oferece segurança aos que o executam porque as brucelas são mortas com formol. A *unidade de opsonina* foi definida como a quantidade de opsonina que causa a fagocitose por 94 a 100% dos polimorfonucleares neutrófilos, sob condições padronizadas. O *título de opsonina* mede o número de unidades da mesma numa unidade de sangue.

LARSEN verificou que os bovinos vacinados com culturas mortas de *Br. abortus* virulenta, aumentam seu índice opsônico.

Outra modificação da prova opsônica e que pode mostrar-se de valor, é a pesquisa do *índice bacteriotrópico*, cujos fundamentos foram lançados por VAN DER HOEDEN e por JERSILD, utilizando sôro aquecido. O princípio da reação, estudado comparativamente com a prova opsônica em trabalho de RENOUX & SIMONNET, consiste em colocar em presença do sôro aquecido do doente, brucelas e leucócitos normais: 0,1 ml de sôro aquecido 30 minutos a 56°C; 0,1 ml de suspensão globular (células da mesma espécie animal que a do sôro); 0,2 ml de suspensão de *Br. abortus*; 15 minutos de estufa a 37°C; fazer esfregaço numa gota da mistura, em lâmina, secar e corar com uma gota de azul de toluidina fenicado. Contar em 10 neutrófilos bem isolados e em bom estado, os que fagocitaram pelo menos 5 brucelas; se existem mais de 5 neutrófilos ativos, a prova é considerada positiva. Os resultados são dados em número: 0 a 4, negativo; 5, duvidoso; 6 a 10, positivo. RENOUX & SIMONNET concluem o seu trabalho da seguinte maneira: "Proposta por HUDDLESON, modificada e simplificada por VAN DER HOEDEN, a pesquisa das bacteriotropinas (índice bacteriotrópico) — anticorpos específicos que sensibilizam as bactérias à ação fagocitária dos polinucleares — é, de acordo com nossas experiências em 201 soros humanos ou animais, uma reação aplicável ao diagnóstico da brucelose. Fácil de executar e de ler-se, constitui um método específico e sensível. Deve ser juntada aos exames de laboratório, já praticados, porque pode suprir as raras deficiências da prova de aglutinação. Após a cura clínica as bacteriotropinas brucelosas persistiriam no sangue por mais tempo que as aglutininas; no curso da evolução da doença, a baixa das bacteriotropinas deve fazer suspeitar de uma complicação".

A prova do índice bacteriotrópico pode ser utilizada com proveito no diagnóstico da brucelose bovina, segundo ROSSI & DUTILLOY, quer no sôro sanguíneo, quer no lacto-sôro. Verificaram que a vacinação com a amostra B-19 provoca uma ativação das bacteriotropinas.

Para finalizar, citaremos que os autores mexicanos, principalmente TOVAR e CASTAÑEDA, modificaram a prova opsonocitofágica de tal modo que é possível executar as suas primeiras fases à cabeceira do doente. Num pequeno frasco estéril, colocam-se brucelas mortas numa suspensão de salina citratada e a quantidade de germes é convenientemente padronizada. Depois de arrolhado conserva-se por muito tempo. No momento de usar, injetar no mesmo, através da rôlha de borracha, 1 ml de sangue do paciente. Em seguida, incubar o frasco na própria axila do enfêrmo, durante 30 minutos. Passado êste tempo, injetar no referido frasco uma solução de formol, em proporção adequada, retirando-a de ampôla ou outro recipiente que acompanha o do antígeno. Assim fixados, os germes fagocitados e os leucocitos permanecem inalterados por muito tempo e o material pode ser remetido até pelo correio, aos laboratórios. Nestes, o frasco será agitado, feito o esfregaço do material e corado para ser examinado.

## 5. FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO

Embora a prova de fixação de complemento tenha sido muito usada em veterinária durante muitos anos, principalmente na Europa, com finalidades diagnósticas, seu emprêgo foi praticamente abandonado. Contudo, os autores argentinos do grupo de MOLINELLI, fizeram-na reviver e parece que há possibilidade de que passe a ocupar lugar de destaque entre as outras provas diagnósticas.

ITHURRAT, em 1939, declarou ter conseguido boas reações de fixação de complemento com o antígeno de MORALES-OTERO & MONGE (extrato de brucelas desprovidos de lípidios) modificado quanto ao método de extração. Os antígenos preparados só com uma espécie de brucela não deram bons resultados porquanto a prova não determinava a espécie de brucela infectante bem como podia ser positiva em convalescentes e indivíduos curados.

Mais tarde, no Congresso de Brucelose do México, em 1946, ITHURRAT & Cols. recomendam, de acôrdo com sua experiência, antígenos para fixação de complemento que são específicos, sensíveis, estáveis e de fácil conservação: 1) o antígeno proposto por MORALES-OTERO & MONGE, modificado por ITHURRAT; 2) a fração glicolípídica de brucela, segundo PIROSKY & Cols., obtida segundo a técnica geral descrita por BOIVIN & MESROBEANU. Os autores preferem trabalhar com antígenos separados das 3 espécies de brucelas, de amostras lisas, porque há soros que só reagem com um dêles. A reação é seguramente específica porque não dá com outras afecções e com soros de testemunhas sadias (sem contacto com materiais infectados por brucelas), bem como com os soros de brucelosos postos em presença de antígenos glicolípídicos extraídos de bactérias que não pertencem ao gênero *Brucella*. Em 1.147 provas realizadas com o antígeno de MORALES-OTERO & MONGE, modificado por ITHURRAT, e outras mil efetuadas com a fração glicolípídica, a reação de fixação de complemento foi positiva em 90% dos brucelosos, convingdo

salientar que, em muitos casos, a prova só foi feita uma vez e, portanto, se as falsas negativas fôsem repetidas, poderia ser que, à semelhança do que ocorre com a sôro-aglutinação, dessem resultados positivos. Os autores referem que PIROSKY & Cols. verificaram que existem proporções ótimas de antígeno e de anticorpo com as quais se revela o máximo de capacidade fixadora de complemento.

LEON & BERNAL admitem ser possível a identificação da espécie de brucela infectante, por meio da reação de fixação de complemento. Conseguem títulos de fixação mais elevados com a brucela homóloga do que com as outras espécies (considerando a *Br. melitensis* diferente das *Br. abortus* e *Br. suis*). Os títulos homólogos dão 75% de reações positivas. Segundo êsses pesquisadores, a prova é positiva com menos de 1 mês, no sangue dos doentes, e pode permanecer assim durante vários anos de convalescença (mais de 5 anos). A técnica de preparo é diferente das anteriormente citadas.

GRICHENER, dá grande importância à prova por confirmar diagnósticos clínicos mesmo em presença de sôro-aglutinação rápida negativa, além de eliminar muitos casos de indivíduos "contactados".

Na opinião de SPINK, os anticorpos fixadores de complemento geralmente são concomitantes à presença de aglutininas. As provas quantitativas feitas simultaneamente com as de sôro-aglutinação não permitiram encontrar diferenças entre os seus resultados. Daí concluir que é preferível fazer a sôro-aglutinação, por ser mais simples. Da mesma forma pronunciou-se o Comitê sôbre os "Aspectos de Saúde Pública da Brucelose", sob a presidência de SPINK.

Também MORALES-OTERO, em sua Monografia, baseado em 225 provas comparativas com sôro-aglutinação, diz que para a rotina a prova de fixação de complemento não apresenta vantagens sôbre a prova aglutinante mas torna-se valiosa como medida confirmatória em casos nos quais os resultados de laboratório entram em conflito com a evidência clínica.

Em trabalho recente, de 1954, CEDRO apresentou a continuação de seus estudos sôbre um antígeno para a prova de fixação de complemento, fácil de preparar, por aquecimento duma suspensão de brucelas (100°C, durante 10 minutos), conservação à temperatura ambiente, centrifugação e aproveitamento do sobrenadante. O antígeno conserva-se estável, sendo absolutamente específico. Os resultados foram semelhantes aos da prova de sôro-aglutinação, tanto com soros humanos quanto com os de diversas espécies animais domésticas.

Importante contribuição para o estudo da prova de fixação de complemento no diagnóstico da brucelose humana, vem sendo feita por Foz e seus colaboradores, na Espanha. Em 1953, no Congresso Internacional de Higiene e Medicina Mediterrâneas, Foz apresentou um extenso trabalho no qual, após minuciosa revisão do assunto, apresentou seus resultados obtidos comparando as provas de aglutinação e de fixação, em 197 amostras de soros. Em resumo, declara o seguinte: "Os doentes de brucelose, com uma evolução da doença de menos de 6 meses, têm título de sôro-aglutinação predominante sôbre o da fixação, enquanto que nos pacientes com evolução superior a 6 meses, o título de fixação de

complemento é, em regra geral, muito mais elevado que o da sôro-aglutinação. Provas de fixação de complemento negativas, com sôro-aglutinações positivas, são vistas quase exclusivamente em enfermos cuja doença data somente de alguns dias ou poucas semanas. As de fixação positivas com reações de aglutinação negativas são encontradas em indivíduos curados de brucelose ou em doentes crônicos. A especificidade da prova é muito grande." Foz sugere que a possibilidade de o resultado da fixação de complemento ser superior ao da aglutinação seja devida à presença de "anticorpos incompletos", incapazes de aglutinar mas que podem dar lugar à fixação. Nestes casos os títulos de aglutinação encontrados com a prova de COOMBS são superiores aos da aglutinação comum, enquanto nos soros em que predomina o título aglutinante sobre o da fixação, o título de aglutinação encontrado na prova de COOMBS é igual ou ligeiramente superior ao encontrado com a aglutinação comum.

Este último aspecto, das relações entre a fixação de complemento e os anticorpos incompletos, na brucelose humana, foi examinado por Foz & GARRIGA, que concluíram existir um paralelismo mais estreito entre os resultados da fixação de complemento e a prova de COOMBS do que entre os da aglutinação comum e a prova de COOMBS. O antígeno usado nas provas de fixação de complemento efetuadas por Foz e seus colaboradores foi uma suspensão de *Br. abortus*, amostra B-19, devidamente controlada quanto ao poder anticomplementar.

## 6. PROVA DA PERDA DO PODER BACTERICIDA DO SANGUE

Esta prova também chamada reação de SIGNORELLI (seus trabalhos iniciais datam de 1946), baseia-se no fato de que o sangue de doentes de brucelose perde sua atividade bactericida para brucelas. O sangue do homem adulto normal apresenta notável ação bactericida para os germes patógenos comuns. Nos brucelosos, à semelhança do que já haviam demonstrado ZIRONI e LUSENA para a febre tifóide, aparece, ao fim dos primeiros dias de doença, o fenômeno paradoxal da queda do poder bactericida do sangue, com caracteres nitidamente específicos, isto é, limitado aos germes do gênero *Brucella*.

Alguns autores, entretanto, tendo seguido a técnica descrita por SIGNORELLI (segunda edição de seu livro), não encontraram resultados concordantes.

MINOPRIO, trabalhando em Mendoza, na Argentina, tem demonstrado a eficácia da reação de SIGNORELLI no diagnóstico da brucelose, que além disso, fornece indicações quanto ao prognóstico e à eficiência da terapêutica. A prova tal como a descreve MINOPRIO, é feita da seguinte forma: A 2 ml de sangue citratado, junta-se uma gota de suspensão de brucelas vivas, preparada a partir de uma alça do cultivo de 48 horas suspensa em 10 ml de solução salina fisiológica, estéril. Tomando 0,05 desta suspensão e diluindo a 1/10, cada ml terá, aproximadamente, 1/2.000 da alça inicial e 1 gota conterà, portanto 1/40.000 ou sejam,

50.000 bactérias. De hora em hora retira-se uma gôta da mistura de brucela e sangue e se junta a um tubo de agar fundido, que se inclina em seguida (fazer com 1, 2, 6 e 12 horas de contacto, pelo menos). A leitura dos tubos semeados é feita com 48 horas. Os sangues de bruce- losos dão crescimento franco de brucelas e os dos indivíduos sadios ou doentes de outras enfermidades ficam estéreis ou dão raras colônias no agar. SINORELLI, mais tarde, modificou a prova usando apenas dois tu- bos de agar: para semeadura imediata e outro para semeadura após 24 horas de contacto das brucelas com o sôro suspeito, em vez de sangue. O primeiro tubo será sempre positivo (testemunha) enquanto o segun- do permanecerá estéril ou com apenas raras colônias, se houver sômente diminuição da perda do poder bactericida.

Recentemente, MINOPRIO relatou suas últimas pesquisas, bastante animadoras e refere que HARRIS lhe informou, também, ter obtido bons resultados com essa técnica. Os detalhes de padronização são indispen- sáveis para o bom êxito, sobretudo quanto ao número de germes, que deve ser convenientemente acertado por melhores processos do que a simples e vaga diluição numa alça de cultivo em salina. MINOPRIO for- nece ampôlas de 5 cm<sup>3</sup> contendo suspensão de *Br. abortus*, lisa, na con- centração de 625.000 germes por gôta. Maiores detalhes sôbre a prova podem ser vistos no mais recente trabalho de MINOPRIO (1955).

## 7. PROVAS DE PRECIPITAÇÃO

Desde que se conseguiram extrair de brucelas substâncias especí- ficas precipitantes, fizeram-se experiências no sentido de aplicá-las ao diagnóstico da brucelose. Os resultados, embora animadores, não são de molde a recomendá-las, pelo menos por enquanto.

FAVILLI & BIANCALANI, em 1932, realizaram extrações de polissaca- rídeos de brucelas, em álcool e solução salina; a substância obtida preci- pitava com soros homólogos. Em 1934, os mesmos autores introduziram modificações na técnica fazendo a extração inicial em salina, a quente, depois em álcool.

TOPPING obteve o material polissacarídeo por meio de éter, e, colo- cando-o em contacto com soros aglutinantes bruce losos específicos, veri- ficou que precipitava em diluições muito elevadas (1/20.000 ou mais).

HOGGINBOTHAN & HEALTMAN prepararam, também, polissacarídeos de brucelas e verificaram que as provas de precipitinas, embora não se- jam apropriadas à identificação dos germes, servem para o diagnóstico, em soros humanos, porque todos os que apresentavam aglutinações po- sitivas, precipitavam com os extratos. Reconhecem os pesquisadores que o processo não é prático, pelas dificuldades de sua execução e de obten- ção do precipitínogeno.

Trabalhos de diversos autores são revistos por MAZZETI & TESI, que descrevem uma *termoprecipitação*, de acôrdo com a técnica de PAGNINI, com a possibilidade de usar-se placenta de animais que abortaram. Os soros precipitantes são preparados em coelhos (6 a 12 inoculações en-

dovenosas, cada 4 ou 5 dias, com suspensões de *Br. abortus* mortas pelo calor a 56°C durante 1 hora). Os antígenos são obtidos com material raspado de cotiledôneos placentários que estejam ricos de material necrótico e purulento; uma parte dêste é suspensa em 3 a 4 partes de solução salina fisiológica e fervida durante 1 hora. Para a prova, utilizar somente sôro rico em precipitinas e considerar específicas só as reações que apareçam entre 5 a 10 minutos.

## 8. PROVAS DE FLOCULAÇÃO

À semelhança das provas de precipitinas, as de floculação não têm tido seu emprêgo generalizado. MAZZETI & TESI e SIGNORELLI citam diversos trabalhos, nem todos bastante convincentes.

Recentemente, contudo, HUNTER & CHRISTESEN, em 1955, relataram o emprêgo duma emulsão antigênica que pode ser preparada revestindo o colesterol com um extrato de brucelas, em presença de lecitina. O uso desta emulsão antigênica para as provas em lâmina (microscópica) e em tubo (macroscópica), no diagnóstico da brucelose, fornece resultados nítidos, fáceis de ler e reproduzíveis, segundo os autores. Ver, também, HUNTER & COLBERT.

## 9. PROVAS DE REAÇÃO A INJEÇÃO DE ANTÍGENO BRUCELOSO

Dois tipos principais de provas podem observar-se em consequência à injeção de suspensões mortas de brucelas, em bruceლოსos: reação térmica de PYRGYALIS VOLO e reação hemoclásica de D'AMATO, ambas descritas com detalhes na Monografia de SIGNORELLI.

Injetando-se endovenosamente, num individuo normal ou que apresente uma doença que não seja a brucelose, uma pequena dose de vacina feita com brucelas, por exemplo, 2 milhões de germes, nenhuma reação febril é observada, enquanto que, tratando-se dum bruceלוסו, surge uma elevação térmica que pode ser mais ou menos intensa. Tal fato já era conhecido havia muito tempo, tendo sido descrito por diversos pesquisadores. VOLO injeta 5 a 10 milhões de germes por via endovenosa; a reação febril é de 39 a 41°C e no total de seus 200 doentes, com brucelose confirmada ou suspeita, a prova foi positiva em todos, excetuando-se os individuos em que a própria infecção já determinava febre elevada, nos quais tornou-se difícil estabelecer a positividade do resultado. Num outro grupo de individuos, com os mais diversos padecimentos (tuberculose, micose, poliartrite reumática, cirrose hepática, abscesso pulmonar e sarcoma do fígado), a reação foi negativa e nenhuma ascensão febril observada, o mesmo acontecendo em pessoas sadias.

Também PEDRO-PONS & VALENTÍ observaram, independentemente do pesquisador grego PYRGYALIS, resultados idênticos.

A reação hemoclásica de D'AMATO consiste em injetar subcutânea-mente uma dose mínima de suspensão de brucelas (20 a 30 milhões) ou,

melhor ainda, 2 milhões de germes endovenosamente; meia hora depois, fazer uma contagem dos glóbulos brancos, comparando os resultados com os obtidos antes da injeção. Nos brucelosos, a inoculação de antígeno específico provoca uma queda dos leucócitos de cerca de 2.000, o que não ocorre nos indivíduos sadios ou com outras doenças. Se a diminuição do número de glóbulos é inferior a 1.000, diz-se que a reação foi fracamente positiva.

Ambas as reações (térmica e hemoclásica) não são aconselháveis na rotina, pelas conseqüências graves, frequentemente perigosas, quando muito intensas.

#### 10. PROVA DE FIXAÇÃO EM SUPERFÍCIE DE PAPEL DE FILTRO

Esta prova, imaginada por CASTAÑEDA, é muito elegante e simples. Se convenientemente padronizada, poderá facilitar imensamente o diagnóstico da brucelose.

Consiste em depositar sobre uma tira de papel de filtro, uma alça de suspensão de brucelas coradas e deixar secar; o material conserva-se em boas condições durante muito tempo. No momento de realizar a prova, depositar sobre a mancha de antígeno uma alça do líquido suspeito de conter anticorpos para brucelas (sangue total, soro, plasma, leite, etc.). Em seguida, mergulhar a borda inferior do papel de filtro em solução salina fisiológica e deixar que esta suba pelo papel, à semelhança do que se faz nas provas de cromatografia em papel. Se o líquido suspeito continha anticorpos, produz-se a reação antígeno-anticorpo e uma fixação dos germes ao papel, de maneira que a solução salina, ao passar pela mancha corada, não a remove, permanecendo a mancha corada; se o líquido não tinha anticorpos ou os possuía em pequenas quantidades, a passagem da água arrasta os germes corados e forma-se um rastro corado (Fig. 148).

CASTAÑEDA cora os seus antígenos com hematoxilina. THIAGO DE MELLO & NÍBER DA PAZ M. DA SILVA obtiveram resultados semelhantes com os antígenos usados normalmente para as provas de anel em leite, quer os corados com hematoxilina, quer os com tetrazólio. A maior dificuldade, até agora, consiste na padronização, de maneira a obterem-se resultados que coincidam com as outras provas, de soro-aglutinação, por exemplo. Além disso, a prova é apenas qualitativa, sendo difícil transformá-la em quantitativa. Contudo, como reação presuntiva, pode prestar inestimáveis serviços, principalmente quando não se dispõe de recursos para realizar outras provas.

Segundo informação de CASTAÑEDA, muitas dificuldades têm de ser vencidas até que se consiga um bom antígeno. Por exemplo, deve haver a segurança de que êle só dará resultado positivo com material que tenha título aglutinante de 1/100 ou mais.

Recentemente, SPALDING & METCALF fizeram experiências com a técnica da fixação em superfície, obtendo resultados satisfatórios não só na brucelose como em infecções por *Pasteurella tularensis* e *Salmonella typhosa*.

Em provas comparativas com a sôro-aglutinação rápida com antígeno corado, em lâmina, e a prova intradérmica, achou CASTAÑEDA que a prova de fixação em superfície de papel de filtro parece constituir uma reação antígeno-anticorpo muito específica, em seguida a uma contaminação recente ou passada. Constata-se, em todos os casos de bruce-

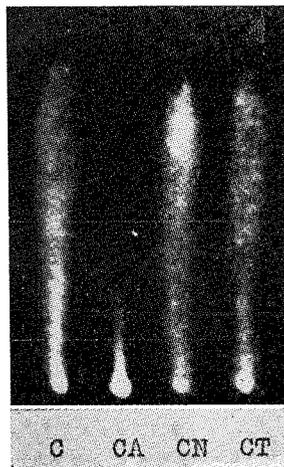


Fig. 148 — Fixação em superfície de papel de filtro. C: testemunha; CA: antígeno + sôro antibrucela; CN: antígeno + sôro normal de coelho; CT: antígeno + sôro antitífico. O antígeno é uma suspensão de brucelas coradas com hematoxilina. Segundo SPALDING & METCALF.

lose evolutiva, uma reação positiva que se mantém, embora decrescendo em intensidade, quando a prova aglutinante dá resultados próximos de zero ou mesmo negativos. CASTAÑEDA não observou, em centenas de provas feitas, resultados positivos em indivíduos sem relação com a brucelose.

## 11. ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS

As provas inespecíficas consistem nas alterações sanguíneas observadas na brucelose.

O quadro hematológico tem sido intensamente investigado e fornece indicações diagnósticas até certo ponto precisas, que muito facilitam o trabalho do clínico. Em geral a hemo-sedimentação fica ligeiramente aumentada.

Segundo CASTAÑEDA, o estudo de vários milhares de pacientes, no Hospital Geral da Cidade do México, permitiu observar que uma elevada porcentagem desses indivíduos apresenta uma tendência para a neu-

tropenia, com linfocitose absoluta ou relativa. O quadro leucocitário alterado constitui a modificação mais persistente em casos individuais.

Em sua Monografia, CASTAÑEDA refere as experiências de diferentes pesquisadores provando que a leucopenia e a linfocitose devem-se a um endoantígeno de brucelas; a primeira dessas alterações não é devida à emigração dos glóbulos brancos para outros órgãos, pois nestes, também, nota-se redução de 30% a 50%, segundo a dose tóxica injetada.

Na brucelose febril, CRISCUOLO & Cols. observaram que o número de reticulócitos geralmente cai e que a relação entre os mesmos e os leucócitos também diminui. Contudo, a relação entre os reticulócitos e as hemátias pode baixar ou permanecer normal. A fórmula reticulocitária não é alterada. Os mesmos autores acrescentam que a anemia brucelosa resulta de alteração toxi-infecciosa da medula óssea, atuando a toxina sobre os elementos mais jovens (pré-eritroblastos), o que explica a falta de ação benéfica dos agentes terapêuticos antianêmicos comuns e a eficácia do tratamento específico por meio de antibióticos.

Quanto às globulinas, CRISCUOLO & Cols. declaram que na brucelose febril existe uma alteração das mesmas, tanto em quantidade como em qualidade. A técnica usada por eles revelava-se positiva sempre que havia alteração visceral ou óssea importante.

O tempo de coagulação, conforme observaram CALDER & Cols. fica aumentado, bem como se verifica retração imperfeita do coágulo, em grande número de pacientes. Segundo CASTAÑEDA, TOVAR também observou aumento do tempo de coagulação em vários enfermos.

A anemia observada em muitos pacientes deve-se à mesenquimite, segundo GIRAUD & Cols.

As manifestações purpúricas são conseqüentes à trombopenia, aumento do tempo de sangramento e deficiência na retração do coágulo, conforme MORONES & OCHOA, citados por CASTAÑEDA.

O exame detalhado de 92 doentes com brucelose, feito por VILLAFANE-LASTRA & Cols., permitiu-lhes verificar que a leucopenia, a neutropenia, a anemia e a relativa linfocitose são os aspectos mais característicos do quadro hematológico da brucelose aguda.

O valor prognóstico das variações hematológicas na brucelose aguda foi examinado por CABASSI. A neutropenia está presente, em geral; quando o número de neutrófilos se eleva progressivamente, ultrapassando o normal, isto indica mau prognóstico; quando se mantém próximo ao normal, o prognóstico se torna favorável. Quanto à linfocitose, quando esta se mantém sem grande variação, acima das cifras normais, mostra evolução favorável do quadro clínico mas quando, ao contrário, baixa até que se estabelece nítida leucopenia, deve-se suspeitar de prognóstico desfavorável ou grave.

---

## 12. VALOR DAS DIVERSAS PROVAS DE LABORATÓRIO

Conforme foi acentuado noutros pontos, as provas de laboratório encaradas isoladamente são de reduzido valor. Contudo, o isolamento

das brucelas é considerado de grande importância. Das outras provas, a sôro-aglutinação, a prova intradérmica e a opsonocitofágica têm se revelado as melhores, principalmente quando empregadas em conjunto.

É preciso não esquecer que seja qual fôr o critério diagnóstico, as provas de laboratório devem ter os resultados expressos em termos gerais e não categóricos, pois muitas exceções podem ocorrer. Também convém não olvidar que a clínica é realmente importante e as provas de laboratório têm por finalidade confirmar ou infirmar a suspeita clínica e não a de realizar, por si sós, um diagnóstico de doença onde esta não existe.

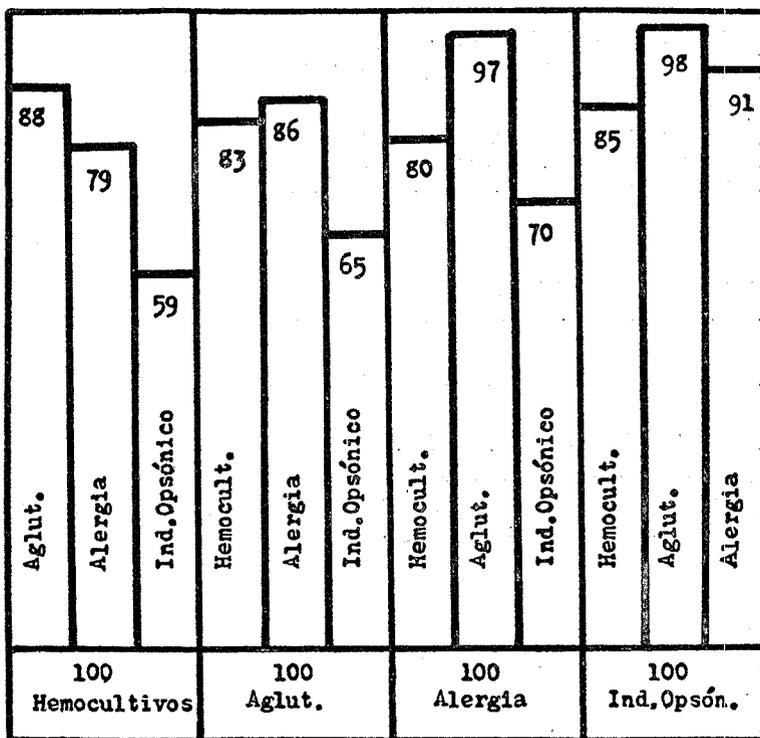


Fig. 149 — Comparação entre diversas provas diagnósticas de brucelose. Segundo CASTAÑEDA.

A respeito das quatro provas de laboratório mais importantes no diagnóstico da brucelose, é muito interessante o estudo comparativo realizado por CASTAÑEDA em grupos de 100 indivíduos com uma das seguintes provas positivas: hemocultura, sôro-aglutinação, intradermo-reação e opsonocitofagia. Em nenhum dos grupos houve coincidência em tôdas as provas, sendo que, por exemplo, de 100 indivíduos com hemoculturas positivas, apenas pouco mais de metade apresentava índice opsonico positivo. Os resultados globais podem ser bem apreciados na figura transcrita da Monografia de CASTAÑEDA (Fig. 149).

## BIBLIOGRAFIA

- EISELE, C. W.  
1947. Med. Clin. North Amer., 31:182-197.
- GRIGGS, J. F.  
1942. Northwest Med., 41(11):389. Em separata.
- Groupe Mixte FAO/WHO d'Experts de la Brucellose  
1951. Rapport Prem. Session, Washington, 1950. Organ. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 37:34 págs.  
1953. Rapport Deux. Séssion, Florence, 1952. Organ. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 67:36 págs.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P.  
1947. Brasil-Médico, 61(5-7):35-40.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 63-68.
- SPINK, W. W.  
1947. Trans. Assoc. Amer. Phys., 60:126-137.  
1947. Ann. Int. Med., 29(2):238-258.  
1953. Trans. Studies Coll. Physi. Philad., Series IV, 21(2):51-62.
- A — *Isolamento de brucelas*
- AMOSS, H. L. & POSTON, M. A.  
1929. J. Amer. Med. Assoc., 93(3):170-171.
- Anônimo  
1950. Bol. Of. San. Panamer., 29(4):400-411.
- ASSIS, A.  
1936. O Hospital, 8, 2(7):677-686.
- Baltimore Biological Laboratory, Inc.  
1948. Culture media, materials and apparatus for the bacteriological laboratory. Baltimore: 118 págs.
- BANG, B.  
1897. Ztschr. Tiermed., 1:241-278.
- BRAUN, W.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949: 27-36.
- BRAUN, W. & KELSH, J.  
1954. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 85(1):154-155.
- BRIM, A. & COLS.  
1950. J. Lab. Clin. Med., 35(3):483-487.
- BRUCE, D.  
1887. Practitioner, 39:161-170.  
1893. Ann. Inst. Pasteur, 7:289-304.
- BURDOFF, A. B. R. & HUNTER, C. A.  
1950. Em separata.
- CARRILLO-CÁRDENAS, C. & COLS.  
1949. Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 24:293-298.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 págs.  
1947. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 64:114-115.  
1955. WHO/Bruc. Inform. Series, Junes, n.º 110.

- CASTAÑEDA, M. R. & COLS.  
1942. J. Inf. Dis., 70:97-102.
- CONNER, V. & MALLERY, O. T.  
1951. Amer. J. Clin. Path., 21:785-788.
- CRISCUOLO, E. & RAMACCIOTTI, F.  
1953. El Día Médico, 24(2). Em separata.
- DAMON, S. R. & ALBRIGHT, K.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 122-125.
- DAMON, S. R. & COLS.  
1952. Publ. Health Rep., 67(9):883-887.
- Difco Laboratories, Inc.  
1948. Difco Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures, 8th ed. Detroit: 224 págs.
- ELBERG, S. & COLS.  
1946. Amer. J. Publ. Health, 36(6):650-652.
- ELBERG, S. & HENDERSON, D. W.  
1948. J. Inf. Dis., 82:302-306.
- ENDE, M. VAN DEN  
1943. J. Hyg., 43(3):189-195.
- GAY, K. & DAMON, S. R.  
1950. Publ. Health Rep., 65(37):1187-1194.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc.; Washington: 157-164.  
1951. Publ. Health Rep., 66(38):1204-1211.
- GILBERT, R.  
1947. Em Wadsworth.
- GREENE, L. F. & COLS.  
1952. J. Urology, 67(5):765-772.
- GRICHENER, E.  
1952. La Sem. Méd., 100(12):352-358.
- Groupe Mixte FAO/WHO d'Experts de la Brucellose  
1951. Rapport Prem. Session. Washington, 1950. Org. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 37:34 págs.  
1953. Rapport Deux. Session, Florence, 1952. Org. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 67:36 págs.
- HARRIS, H. J.  
1946. J. Amer. Med. Assoc., 131:1485-1493.  
1950. Brucellosis (Undulant fever), 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed. New York: 379 págs.  
1948. Em "Difco Laboratories, Inc."  
1954. Quart. Bull. Mich. Agric. Exper. Station, 37(1):3-13; 14-22.  
1954. Proc. U. S. Livestock San. Assoc., 58th Ann. Meet., Nov.: 123-134.  
1955. Amer. J. Vet. Res., 16(59):264-268.
- HUDDLESON, I. F. & MUNGER, M.  
1940. Amer. J. Publ. Health, 30:944-954.
- ITHURRAT, E. M. F.  
1938. Hemocultivo de las brucelas. Buenos Aires: 43 págs.

- ITHURRAT, E. M. F. & Cols.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 295-352.
- JANBON, M.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 27.
- JANBON, M. & Cols.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 30.
- JORDAN, C. F. & BORTS, I. H.  
1946. J. Amer. Med. Assoc., 130:72-75.
- KUZDAS, C. D. & MORSE, E. V.  
1953. J. Bact., 66(4):502-504.
- LACAZ, C. S. & Cols.  
1948. Rev. Bras. Med., 5(4):243-246.
- LEMME JR.  
1943. Rev. Bras. Odont. (2):50-54.
- METZGER, H. J. & Cols.  
1939. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 95(749):158.
- MOLINELLI, E. A. & Cols.  
1947. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 439-491.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 43-61.
- PACHECO, G.  
1936. Brasil-Médico, 50(37):795-798.  
1949. Anais 3.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, Set.: 307-313.  
1952. Brasil-Médico, 62(16-17):227-232.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Washington: 145-150.
- PÉRES, J. NORONHA  
1954. Informação pessoal.
- PHILLIPS, G. B. & Cols.  
1955. Appl. Microb., 3(4):216-217.  
1955. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact., 55th Gen. Meet.: 45.
- PICKETT, M. J. & NELSON, E. L.  
1951. J. Bact., 61(2):229-237.
- RAMACCIOTTI, F. E.  
1951. Rev. Fac. Ci. Méd. Cordoba, 9(1). Em separata.
- RENOUX, G.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 89.  
1954. WHO/Bruc. Inform. Series, May, n.º 106.
- ROSEBURY, T. & Cols.  
1947. Experimental air-borne infection. Baltimore: 222 págs.
- ROSSI, F. A.  
1941. Rev. Med. Ci. Afines, 3(12):862-872.
- SHAFFER, M. F.  
1950. Bull. Tulane Med. Fac., 9(4):109-113.
- SHEPARD, C. C. & Cols.  
1945. J. Lab. Clin. Med., 30(8):712-716.

- SIGNORELLI, S.  
1935. Boll. Soc. Med. Chir. Catania, 3:399.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SPINK, W. W.  
1951. Ann. Int. Med., 35(2):358-374.  
1952. Amer. J. Clin. Path., 22(3):201-210.
- SPINK, W. W. & ANDERSON, D.  
1950. J. Lab. Clin. Med., 35:440-445.
- SPINK, W. W. & Cols.  
1952. J. Amer. Med. Assoc., 149:805-808.
- THIAGO DE MELLO, M. & SILVA, NÍBER P. M.  
1954. Observações não publicadas.  
1954. Brasil-Médico, 68(32-52):451-464.
- TOVAR, J. G.  
1946. Rev. Med. Hosp. General, 8:431-440.
- TOVAR, R. M.  
1944. Rev. Med. Hosp. General, 7:1-9.  
1953. Medicina, México, 33(668):27-38.
- TOVAR, R. M. & Cols.  
1942. J. Inf. Dis., 70:97-102.
- TRAVASSOS, J. & VALLEJO FREIRE, A.  
1944-45. Mem. Inst. Butantan, 18:145-235.
- VIGNOLI, J.  
1943. Med., Cir., Farmácia, (92):586-599.
- WADSWORTH, A. B.  
1947. Standard Methods, 3rd ed. New York: 990 págs.
- WEDUM, A. G.  
1953. Amer. J. Publ. Health, 43:1428-1437.
- WEED, L. A. & Cols.  
1952. Amer. J. Clin. Path., 22(1):10-21.
- WEST, D. E. & BORMAN, E. K.  
1945. J. Inf. Dis., 77(3):187-192.
- B — *Prova de aglutinação*
- ANGLE, F. E. & Cols.  
1942. J. Lab. Clin. Med., 27:1259-1263.
- Anônimo  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., ns. 20 e 21.  
1953. Instruções para o combate à brucelose animal. Portaria n.º 677, 1-VI-1953, D. Oficial, Seção I, 20-XI-1953:19.935.  
1954. Lederle Labs. markets tube agglutination test. J. Commerce, Sept. 29.
- BLANK, C. H.  
1954. Comunicação pessoal.
- BRUMPT, L. C.  
1940. Bull. Soc. Path. Exot., 33(6-10):390-393.  
1940. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 56(16-18):344-346.

- CARPENTER, C. M. & COLS.  
1952. J. Immun., 69(2):235-239.  
1952. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact., 52nd Gen. Meet.: 80.  
1953. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact., 53rd Gen. Meet.: 47.
- CARRÈRE, L.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 65.
- CARRÈRE, L. & QUATREFAGES, H.  
1950. Press Méd., 58(29):518-519.
- CARRÈRE, L. & ROUX, J.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 74.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 págs.  
1950. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73:46-49.  
1951. WHO/Bruc. Inform. Series, March, n.º 38.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., ns. 51 e 52.  
1953. Bull. Org. Mond. Santé, 9(3):399-408.
- CASTAÑEDA, M. R. & SILVA  
1938. Em Castañeda, 1942.
- CEDRO, V. C. F.  
1953. Publ. Misc., Min. Agric. Ganaderia, Bs. Aires, n.º 380:6 págs.
- COOMBS, R. R. A. & COLS.  
1945. Brit. J. Exper. Path., 26(4):255-266.
- COX, C. D. & KUTNER, L. J.  
1950. Science, 111(2890):545-546.
- CRISCUOLO, E. & RAMACCIOTTI, P.  
1953. El Dia Médico, 24(2). Em separata.
- CRUICKSHANK, J. C.  
1949. Monthly Bull. Min. Health & Publ. Health Lab. Service, Sept.: 190-202.
- DOOLEY, P.  
1939. Arch. Int. Med., 50:373-379.
- EISELE, C. W. & COLS.  
1946. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 61:89-91.  
1947. J. Amer. Med. Assoc., 135:983-984.  
1947. J. Lab. Clin. Med., 32(7):847-853.
- FEINBERG, R. J. & WRIGHT, G. G.  
1951. J. Immun., 67(2):115-122.
- FELSENFELD, O. & COLS.  
1951. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 77:284-286.
- FOSHAY, L.  
1940. Amer. J. Clin. Path., 10:176-187.
- FRANCIS, E. & EVANS, A.  
1926. Publ. Health Rep., 41:1273-1295.
- GALLUT, J.  
1950. Ann. Inst. Pasteur, 79(3):335-338.
- GARGANI, G. & SANTONI, M. G.  
1954. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 30(7):884-887.

- GIRARD, G.  
1950. Ann. Inst. Pasteur, 79(4):359-366.
- GÓES, P.  
1947. Estudos sobre a imunidade cruzada. Tese. Fac. Nac. Med., Rio de Janeiro: 352 págs.
- GRIFFITS, J. J.  
1947. Publ. Health Rep., 62:865-875.
- GRIGGS, J. F. & CASE, L. W.  
1948. Amer. J. Clin. Path., 18(6):506-508.
- Groupe Mixte FAO/WHO d'Experts de la Brucellose  
1951. Rapport Prem. Session, Washington, 1950. Org. Mond., Santé, Sér. Rapp. Tech., 37:34 págs.  
1953. Rapport Deux. Session, Florence, 1952. Org. Mond. Santé, Sér. Rapp. Tech., 67:36 págs.
- HARRIS, H. J.  
1946. J. Amer. Med. Assoc., 131:1485-1493.  
1950. Brucellosis (Undulant fever), 2nd. ed., rev. New York: 671 págs.
- HAUDUROY, P. & TANNER, F.  
1952. Rev. Immun., 16(4-5):320-324.
- HESS, W. R. & HOEPKE, M. H.  
1951. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 77:469-472.
- HIRSCHBERG, N. & YARBROUGH, M. E.  
1952. J. Inf. Dis., 91:238-245.
- HOERLEIN, A. B.  
1953. Cornell Vet., 43:28-37.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals, rev. ed. New York: 379 págs.
- JANBON, M.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 27.
- JORDAN, C. F. & BORTS, I. H.  
1947. Amer. J. Med., 2(2):156-167.
- KILLOUGH, J. H. & Cols.  
1953. Ann. Int. Med., 39(2):222-229.
- KRAKAUER, H. S. & Cols.  
1951. J. Inf. Dis., 89:56-58.
- LACAZ, C. S. & Cols.  
1947. An. Paul. Med. Cir., 54(3):209.  
1948. Rev. Bras. Med., 5(4):243-246.
- LENNETTE, E. H. & Cols.  
1952. Amer. J. Publ. Health, 42(1):12-19.
- LISBONNE, M.  
1950. Em Janbom.
- MALLMAN, W. L.  
1930. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 77:636-638.
- McCULLOUGH, N. B. & Cols.  
1949. Publ. Health Rep., 64(50):1613-1616.

- MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
1939. Rev. Ind. Animal, N. S., 8,2(1):142-157.
- MOHR, W.  
1935. Z. Immun., 86(3-4):235-247.
- MORALES-OTERO, P.  
1929. Porto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 5(1):144-157.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 173 págs.
- MORSE, E. V. & Cols.  
1955. Amer. J. Vet. Res., 16(58):269-273.
- MURDOCK, F. M. & Cols.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Washington: 122-132.  
1952. Bol. Of. San. Panamer., 32(2):136-146.
- PACHECO, G,  
1941. O Hospital, 19(4):625-628.
- PALTRINIERI, S.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 77.
- RENOUX, G.  
1950. Ann. Inst. Pasteur, 78(6):798-800; 79(2):232-234.  
1951. Ann. Inst. Pasteur, 80(1):103-105.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., ns. 55 e 59.  
1954. Ann. Inst. Pasteur, 86(1):91-98.
- RENOUX, G. & MAURIN, J.  
1954. Ann. Inst. Pasteur, 86(1):112-115.
- RENOUX, G. & ROUX, J.  
1951. C. R. Soc. Biol., 145(3-4):267-269.
- RENOUX, G. & VERDAGUER, S.  
1951. C. R. Soc. Biol., 145(19-20):1494-1496.
- RIEDMÜLLER, L.  
1953. Comunicação pessoal.
- ROEPKE, M. H.  
1954. Comunicação pessoal.
- SAGESSE, V. & TOSI, E.  
1953. Boll. Ist. Sier. Mil., 32:327-333.
- SCHUBERT, J. H. & HERNDON, J. F.  
1950. Publ. Health Rep., 65(28):883-890.
- SCHUHARDT, V. T. & Cols.  
1951. J. Bact., 61(3):299-303.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SPINK, W. W. & ANDERSON, D.  
1952. J. Lab. Clin. Med., 40(4):593-600.
- SPINK, W. W. & Cols.  
1946. Staff Meet. Bull. Hosp. Univ. Minnesota, 17:194.  
1952. J. Amer. Med. Assoc., 149:805-808.
- STABLEFORTH, A. W.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 18.

- STANFIELD, C. A. & COLS.  
1952. Amer. J. Clin. Path., 22(3):211-217.
- THIAGO DE MELLO, M.  
1951. WHO/Bruc. Inform. Series, June, n.º 41.  
1951. O Hospital, 40(1):127-131.  
1954. Rev. Mil. Rem. Vet., 14(4):169-173.
- THIAGO DE MELLO, M. & COLS.  
1954. Observações não publicadas.  
1954. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 107.
- THIAGO DE MELLO, M. & SILVA, NÍBER P. M.  
1954. Observações não publicadas.
- TRAVASSOS, J. & COLS.  
1954. Ciência e Cultura, 6(4):199-200.
- VIEGAS, J. A.  
1952. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 12:179-201.
- WELCH, H. & MARSH, H.  
1935. J. Amer. Vet. Med. Ass., 86, N.S., 39(4):493-507.
- WONG, D. H. & CHOW, C. H.  
1937. Chinese Med. J., 52:591. Em Eisele & Cols., 1946.
- WRIGHT, A. E. & SEMPLE, D.  
1897. Brit. Med. J., 1:139; 1214. Em Harris.
- WRIGHT, A. E. & SMITH, F.  
1897. Lancet, 1:656-659.
- ZAMMITT, T.  
1905. Rep. Comm. Medit. Fever, London, Part I:88; Part III:83.  
1906. Rep. Comm. Medit. Fever, London, Part IV:97.
- C — *Prova intradérmica*
- BAUMEISTER, C. F. & DARLING, D. D.  
1950. Amer. Pract. Dig. Treat., 1(6):581-583.
- BENEDICT, A. A.  
1950. Cutaneous hypersensitivity in experimental brucellosis. Tese. Univ. California. Em Benedict & Elberg.
- BENEDICT, A. A. & ELBERG, S. S.  
1953. J. Immun., 70(2):152-164.
- BRAUDE, A. I.  
1948. Staff Meet. Bull. Hosp., Univ. Minnesota, 19:254-266.
- BURNET, E.  
1922. Arch. Inst. Pasteur Afr. Nord, 2:165-211.  
1922. C. R. Acad. Sci., 174:421-423.
- CARRÈRE, L.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 65.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 págs.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov. n.º 26.  
1953. Bull. Org. Mond. Santé, 9(3):399-408.

- CASTAÑEDA, M. R. & CARRILLO-CÁRDENAS, C.  
1941. Amer. J. Trop. Med., 21:285-290.
- CRISCUOLO, E.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946:353-359.
- DELEZ, A. L. & COLS.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8:225-234.
- DUBOIS, C. & SOLLIER, N.  
1931. Ann. Inst. Pasteur, 47:311-331.
- EISELE, C. W. & McCULLOUGH, N. B.  
1949. Illinois Med. Jour., 96(4). Em separata.
- FLEISCHNER, E. C. & MEYER, K. F.  
1918. Amer. J. Dis. Children, 16(4):268-273.
- FUST, B. & COLS.  
1949. Schw. Z. Path. Bakt., 12(5):484-488.
- GIORDANO, A. S.  
1929. J. Amer. Med. Assoc., 93(25):1957-1958.
- GODGLÜCK, G.  
1954. Deutsc. Tier. Woch., 61(39-40). Em separata.
- GOLEM, S. B.  
1948. Türk. Ij. Tecr. Biyol. Derg., 8(3):1-83.
- GRIGGS, J. F.  
1948. J. Amer. Med. Assoc., 136:911-915.  
1949. Ann. Allergy, 7(3):350-358.
- HARRIS, H. J.  
1946. Bull. New York Acad. Med., II Se., 22(3):147-165.  
1946. J. Amer. Med. Assoc., 131:1485-1497.  
1949. New York Sta. J. Med., 49(2):177-180.  
1949. Amer. J. Publ. Health, 39(7):870-874.  
1950. Brucellosis (Undulant Fever), 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HOFFMANN, J.  
1947. Em Harris.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed. New York: 379 págs.
- ITHURRAT, E. M. F. & COLS.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946:295-352.
- JANBON, M.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 27.
- JORDAN, C. F. & BORTS, I. H.  
1947. Amer. J. Med., 2(2):156-167.
- KRASOV, V. M.  
1942. Em Vet. Bull., 12:256.
- LEÓN, A. P. & SOSA, J.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 369-381.
- LEVIN, W.  
1930. J. Lab. Clin. Med., 16:275-281.

- LIVE, I. & STUBBS, E. L.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8(29):380-385.
- McCULLOUGH, N. B.  
1949. Amer. J. Publ. Health, 39(7):870-874.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Pub., 1949, 10(5):1195-1325.
- MEYER, K. F.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Washington: 177-190.
- MIRRI  
1934-35. Em Mazzetti & Tesi
- MORALES-OTERO, P. & GONZÁLEZ, L. M.  
1938. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 38:703-705.  
1949. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 71:387-388.
- MOSIMANN, W.  
1949. Schw. Z. Path. Bakt., 12:362-379.
- O'TOSEN, H. E. & PLUM, N.  
1949. Amer. J. Vet. Res., 10(34):5-11.  
1949. XIVth Intern. Vet. Congr., London: 10 págs.
- PANZERI, A.  
1949. Rev. Méd. Córdoba, 37:351-357.
- PIROSKY, I. & MOLINELLI, E. A.  
1944. Rev. Med. Ci. Afines, 6(11):850-864.
- PLUM, N. & RUSSEFF, C.  
1939. Skand. Vet. Tidskr., 29:31-53.
- POMALES-LEBRÓN, A.  
1949. Puerto Rico J. Publ. Health, 24:337-342.
- SCHOENHOLZ, P. & MEYER, K. F.  
1927. J. Inf. Dis., 40:453-468.
- SPINK, W. W.  
1951. Ann. Int. Med., 35(2):358-374.
- SPINK, W. W. & Cols.  
1952. J. Amer. Med. Assoc., 149:805-808.
- D — *Provas diversas*
- BOIVIN, A. & MESROBEANU, L.  
1933. Rev. Immun., 1(6):553-569.  
1933. C. R. Soc. Biol., 113(1):76-79.
- CABASSI, E.  
1947. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 506-526.
- CALDER, R. M. & Cols.  
1939. J. Amer. Med. Assoc., 112(19):1893-1898.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 págs.  
1946. Em Ramirez.  
1950. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73:46-49.  
1950. Ann. Rev. Microb.: 331-342.

1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., ns. 51 e 52.  
1953. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 83(1):36-39.  
1953. Bull. Org. Mond. Santé, 9(3):399-408.  
1954. Comunicação pessoal.
- CEDRO, V. C. F.  
1954. Publ. Misc., Min. Agric. Ganad., Bs. Aires, ns. 391 e 392.
- COOMBS, R. R. A. & COLS.  
1945. Brit. J. Exp. Path., 26(4):255-266.
- CRISCUOLO, E. & COLS.  
1948. Segundo Congr. Interamer. Bruc. Memórias não publicadas.
- D'AMATO  
1928. Em Signorelli.
- FAVILLI, G. & BIANCALANI, G.  
1932. Lo Sperimentale, 86:357-376.  
1932. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 7:702.  
1934. Lo Sperimentale, 88:337.
- FOZ, A.  
1953. IV Congr. Intern. Hig. Med. Mediterraneas, Barcelona: 173-190.
- FOZ, A. & ARCALIS, L.  
1953. Z. Hyg., 136(1):55-66.
- FOZ, A. & GARRIGA, S.  
1954. Rev. Immun., 18(4):288-298.
- GIRAUD, G. & COLS.  
1953. Montpellier Méd., 3e. Série, 44(6):626-630.
- GRICHENER, E.  
1950. Rev. Med. Rosario, 40(9-12). Em separata.  
1952. La Semana Médica, 100(12):352-358.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant Fever), 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HARRIS, H. J. & COLS.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 273-283.
- HOEDEN, J. VAN DER  
1940. Tijdschr. Diergen., 67:963.  
1941. Ant. van Leeuw., 7(4):211-219.
- HIGGINBOTHAM, M. & HEATHMAN, L. S.  
1936. J. Inf. Dis., 59:30-34.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed. New York: 379 págs.
- HUDDLESON, I. F. & COLS.  
1932. Amer. J. Publ. Health, 23:917-929.
- HUNTER, C. A. & CHRISTESEN, B.  
1955. Bact. Proc., Soc. Amer. Bact., 55th Gen. Meet.: 87.
- HUNTER, C. A. & COLBERT, B. L.  
1954. The Publ. Health Lab., 12(4):82-87.
- ITHURRAT, E. M. F.  
1939. Arch. Soc. Biol. Montevideo, 9(2):71-82.  
1939. El Dia Médico, 11(15):283-286.

- ITHURRAT, E. M. F. & Cols.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946:296-352.
- JANBON, M.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 27.
- JERSILD, M.  
1941. Acta Path. Microb. Scand. 18(1):103-110.  
1941. J. Inf. Dis., 68:16-19.
- LARSEN, P. H.  
1950. Cornell Vet., 40(4):417-436.
- LEÓN, A. P. & BERNAL, E.  
1948. Rev. Inst. Salub. Enf. Trop., 9(3):199-229.
- LUSENA  
1941. Em Signorelli.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10:1195-1325.
- MINOPRIO, J. L.  
1951. Rev. Méd. Córdoba, 39:77. Em separata.  
1954. Comunicação pessoal.  
1955. Prensa Méd. Arg., 42(14):943-951.
- MORALES-OTERO, P.  
1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 173 págs.
- MORALES-OTERO, P. & MONGE, G.  
1932. Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 8(2):193-204.
- PIROSKY, I. & Cols.  
1941. Rev. Inst. Bact. Malbrán, 10(2):135-143; 242-257.  
1943. Rev. Inst. Bact. Malbrán, 11(3):352-366; 367-380.
- PIROSKY, I. & MOLINELLI, E. A.  
1944. Rev. Med. Ciencias Afines, 6(11):850-864.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
1944. La Brucelosis Humana. Barcelona: 251 págs.
- RAMIREZ, N. C.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 257-266.
- RENOUX, G. & SIMONNET, G.  
1950. La Sem. des Hôp. de Paris: 4 pp. Em separata.
- ROSSI, P. & DUTILLOY, Y.  
1951. Bull. Acad. Vet. France, 24(6):327-329.
- SHAFFER, M. F.  
1950. Bull. Tulane Med. Fac., 9(4):109-113.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'Infezione Brucellare nell'Uomo, 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SPALDING, D. N. & METCALF, T. G.  
1954. J. Bact., 68(2):160-166.
- SPINK, W. W.  
1952. Amer. J. Clin. Path., 22(3):201-210.
- SPINK, W. W. & Cols.  
1952. J. Amer. Med. Assoc., 149:805-808.

THIAGO DE MELLO, M. & SILVA, NÍBER P. M.  
1954. Observações não publicadas.

TOPPING, L. E.  
1934. J. Path. Bact., 39(3):665-668.

TOVAR, R. M.  
1944. J. Immun., 49:203-207.

TOVAR GUERRERO, J.  
1946. Rev. Med. Hosp. General, 8(5):431-440.

VICTOR, J. & Cols.  
1952. J. Amer. Med. Assoc., 149:809-813.

VILLAFANE-LASTRA, T. & Cols.  
1948. Prim. Reunion Interamer. Bruc., México, 1946: 405-417.

VOLO, PYRGYALIS  
1943. Munch. Med. Woch: 534. Em Mazzetti & Tesi.

ZIRONI  
1949. Em Signorelli.

## CAPÍTULO XI

---

# Tratamento

Tôda vez que uma doença infecciosa não tem seu agente etiológico determinado, inúmeros germes são apontados como causadores, antes de conhecido o verdadeiro. O mesmo se dá com referência à terapêutica. Enquanto não se encontra o agente medicamentoso específico, inúmeras substâncias e métodos de tratamento são empregados, com sucesso quase sempre transitório, para serem abandonados em seguida ou restarem como terapêuticas acessórias.

Na brucelose foram largamente experimentadas substâncias químicas, numerosas vacinas e, por fim, antibióticos.

No quadro junto citam-se diversas modalidades de terapêutica, numa classificação até certo ponto arbitrária.

### A) SUBSTÂNCIAS USADAS NO TRATAMENTO DA BRUCELOSE:

#### I) *Agentes químicos*

- a) Matérias corantes (azul de metileno, violeta de metila, mercúrio cromo, tripaflavina, tionina, gonacrina).
- b) Arsenicais (tri-e pentavalentes); mercuriais; antimoniais; bismúticos; sais de ouro; salicilatos; iodados.
- c) Sulfanilamida (sulfapiridina, sulfatiazol, sulfadiazina, sulfamerazina, sulfalumina).
- d) Ácidos paramino-benzóico e paramino-salicílico.
- e) Urotropina.

#### II) *Agentes bioquímicos*

- a) Proteínas (leite, proteínas vegetais, peptonas).
- b) Antibióticos (penicilina, tirotricina, estreptomocina, garlicina, aerosporina, bacitracina, aureomicina, terramicina, iloticina, acromicina, cloromicetina, micoína, piloselina, etc.).

#### III) *Agentes biológicos*

- a) Sangue e imuno-soros inespecíficos (transusão sanguínea, imunotransusão, sôro de convalescentes e imuno-sôro, sôro de Bogomoletz, sôro antidiftérico).
- b) Choque medicamentoso, vacina pirogênica (antitífica), insulina.
- c) Antigenoterapia

- 1) Filtrados de culturas.
- 2) Suspensões microbianas mortas (calor, formol, luz ultra-violeta); brucelas adsorvidas em alúmen, incorporadas a óleo, adicionadas de cloreto de manganês.
- 3) Sôro-vacinas.
- 4) Auto-vacinas.
- 5) Extratos microbianos obtidos por trituração mecânica (MBP), haptenos, filtrados ultra-sônicos.

#### IV) *Electropirexia*

##### B) MEDICAÇÃO SINTOMÁTICA:

Superalimentação  
Vitaminoterapia  
Hidroterapia  
Psicoterapia  
Hormonoterapia (suprarrenal)  
Calmantes e analgésicos

##### C) TRATAMENTO CIRÚRGICO:

Esplenectomia

---

Assinala EISELE as dificuldades no julgamento do valor terapêutico de uma droga numa doença cujo germe pode permanecer dorminte no organismo largo tempo, como é a brucelose.

Sòmente depois de 5 anos de ausência de sintomas, afirma HARRIS, pode-se assegurar estar o paciente curado. Êsse prazo é encurtado por NAVLET & PRIETO que asseveram não haver recidivas após um ano de desaparecimento dos sintomas. O que acontece, acrescentam êles, é o aparecimento de meta-organopatias — cirrose hepática, síndromes neurológicas, etc., que podem ser confundidas com a persistência da infecção.

Tendo em conta, porém, o que se observa na sífilis e, também, na tuberculose, doença esta apresentando muita similitude com a brucelose, a cura clínica não significa sempre a esterilização ou morte do germe, e recidivas podem surgir mais cedo ou mais tarde, com visos de reinfeção. Não é raro, meses ou anos passados da infecção primitiva, a aparição de orquite, nevrites, psiconeuroses, visceropatias, sem causa imediata definida.

Cumprê atentar, no julgamento do valor duma terapêutica, nos casos agudos febris, onde os sintomas podem desaparecer, até quase súbitamente, mesmo sem tratamento. Isto não significa, de nenhum modo, a cura do paciente.

Para os patologistas muito exigentes, o desaparecimento das brucelas do sangue seria o sinal mais evidente do efeito curativo de uma

droga. Este critério faria, não há dúvida, periclitare toda possibilidade de julgamento da ação terapêutica se pensarmos que as brucelas, como os agentes das protozooses e de muitas viroses, penetram na célula, podendo aí ficar acantoadas por largo tempo ou mesmo indefinidamente.

Mais razoável, para um julgamento daquela natureza, é a inoculação experimental em cobaias, com a administração do medicamento, proposta por CARLE & LARSON, seguida da sua verificação no homem.

EISELE & McCULLOUGH estabeleceram, para julgamento do efeito curativo de um agente terapêutico na brucelose, que um caso ideal, para isso, deve apresentar as seguintes características:

- 1) Doença com tal severidade que a cura clínica seja nítida;
- 2) Febre com tal intensidade que a sua baixa seja bem clara e facilmente reconhecível;
- 3) Período febril, em condições hospitalares adequadas, com duração suficiente para constituir um controle antes do tratamento tornando improvável a remissão espontânea;
- 4) Septicemia prolongada, demonstrável pronta e constantemente por meio de culturas;
- 5) Bem estar clínico, em seguida ao restabelecimento, sem recaídas, durante um período razoável.

Dentro desse rigorismo, seria difícil o julgamento de um medicamento em nosso meio, onde os casos febris são raros e aqueles com bacilemia, excepcionais. Como vimos no capítulo da Patologia, a brucelose, em nosso País, é causada pelo germe do boi e do porco, o que significa predominância de formas pouco ativas na produção de casos graves (dos tipos admitidos como agudos ou subagudos) podendo atender às exigências de EISELE & McCULLOUGH.

Assim sendo, o julgamento deve cingir-se à observação clínica, verificação do desaparecimento completo do sintoma ou dos sintomas que importunam o doente, sem recidivas, ou com recidivas desaparecidas por fim, mediante a renovação do tratamento. Quando muito, acompanhar a curva aglutinante como reflexo da normalização ou do restabelecimento da saúde.

Naturalmente, não se vai pensar que qualquer agente terapêutico seja capaz de curar todos os casos. Porque isto não consegue nenhum medicamento, inclusive os específicos, em todas as doenças infecciosas. Há sempre uma certa margem de falhas no efeito curativo.

Mas, qualquer que seja o método ou agente terapêutico usado, desde que cure efetivamente uma determinada porcentagem de casos, deve ser levado em consideração. Se essa porcentagem exceder de 50%, então, pode ser considerado específico para o mal em causa.

Revisando os métodos terapêuticos, citaremos alguns deles, detendo-nos particularmente nos antibióticos e nos agentes dessensibilizantes, por serem os que, no momento, produzem os melhores resultados. Para uma apreciação geral, ver os recentes trabalhos de Rouquès e de BERTRAND.

### AGENTES QUÍMICOS

O uso de produtos químicos no tratamento da brucelose tem se mostrado desalentador.

Dos agentes químicos foram usados: Matérias corantes: derivados de acridina, acriflavina (tripaflavina), mercúrio cromo, azul de metileno, azul de tripan, violeta de genciana. As sulfanilamidas: sulfapiridina, sulfatiazol, sulfadiazina, sulfamerazina, sulfalumina, prontossil e neoprontossil.

A terapêutica com as sulfas foi mais favorável, sobretudo quando associadas à estreptomicina.

Todavia, as recidivas se mostraram extremamente freqüentes, chegando a mais de 20%, segundo EISELE. Além disso, deve-se levar em conta os inconvenientes das sulfanilamidas sobre o sangue e o fígado, mormente numa doença que os lesa com muita freqüência, e sobre o sistema nervoso. Também os resultados alcançados não foram favoráveis, havendo mesmo observações, como as de DEBONO, sobre 26 casos, em que não viu vantagem no seu uso e que julga mesmo medicação desaconselhável na brucelose, pelo dito acima.

O ácido paraminobenzóico foi pouco experimentado e os resultados alcançados não foram encorajadores. Da mesma forma, o ácido paramino-salicílico.

Sais de quinino, soluções de metais coloidais (electrargol), não se mostraram igualmente vantajosas. Neoarsfenamina intravenosa, metafen, criogenina, rivanol, tiveram sucesso, num caso ou noutro.

### AGENTES BIOQUÍMICOS

Proteínas, vacina antitífica, leite esterilizado, peptonas, visando a choque proteico ou a crise pirogênica, foram experimentados, sem resultados apreciáveis no seu julgamento definitivo. Nos casos febris, agudos, essas substâncias podem provocar queda da temperatura e, mesmo, o desaparecimento dos sintomas, sem caráter definitivo, porque com freqüência aparecem recidivas, mostrando que a forma aguda passou à crônica, que aliás, é a forma usual da doença.

### ANTIBIÓTICOS

O tratamento da brucelose com antibióticos tomou considerável impulso nos últimos anos. Embora muitos destes medicamentos tenham operado curas espetaculares, mormente nos casos graves de brucelose provocada pelo germe de origem caprina, nenhum deles foi capaz, até o momento, de promover a cura de todos os pacientes, conforme assinalado antes.

Se bem que o uso de antibióticos seja recente, podem ser com êles relacionadas certas práticas medicamentosas da antigüidade. Uma das mais curiosas é a citada por EYRE, em 1908. Relata êle que HUGHES e ZAMMIT pesquisaram cuidadosamente, na biblioteca de Valetta, em

Malta, referências sôbre o tratamento da brucelose e descobriram que BONAMICI (1626-1680) descrevera um cogumelo nativo de Malta: o "Fungus Melitensis" (*Cynomorium coccineum*) que era considerado um soberano remédio para a "febre", constituindo um monopólio dos Grão-Mestres da Ilha de Malta. Atualmente essa espécie não é mais classificada como um cogumelo.

Sôbre os atuais antibióticos faremos apenas referência àqueles cujo emprêgo tem sido mais aconselhado. As dezenas de antibióticos experimentados quanto à sua atividade *in vitro* e *in vivo* sôbre as brucelas foram citadas em outro capítulo.

Maiores referências a respeito do histórico da administração dos antibióticos para o tratamento da brucelose humana podem ser encontradas em numerosos trabalhos, dos quais citaremos os dos autores que em várias partes do mundo mais ativamente se dedicam ao assunto: *Estados Unidos*: SPINK, KNIGHT, GRIGGS, HARRIS. *Argentina*: MOLINELLI, CRISCUOLO; *México*: CASTAÑEDA, CARRILLO, RUIZ-SÁNCHEZ, LEÓN; *França*: JANBON; *Inglaterra*: DALRYMPLE-CHAMPNEYS, CRUICKSHANK; *Egito*: KILLOUGH; *Malta*: DEBONO.

Da experiência dos diversos autores resulta a impressão de que os melhores antibióticos atualmente disponíveis são os seguintes: terramicina, aureomicina e cloromicetina. Dos três, a terramicina tem sido o de emprêgo mais generalizado, pelas menores perturbações colaterais que acarreta nos pacientes. Ainda em vias de experimentação encontram-se a carbomicina e a eritromicina. Os melhores resultados parecem estar sendo obtidos com a associação terramicina-estreptomicina.

*Cloromicelina* — A partir do trabalho inicial de WOODWARD & Cols., a cloromicetina tem sido usada no tratamento da brucelose aguda ou crônica, fornecendo bons resultados.

Para os casos de brucelose crônica, HARRIS aconselha a administração diária de 2 a 4 gramas, no total de 25 gramas.

Por sua vez, RALSTON & PAYNE recomendam, para os casos de brucelose crônica, em adultos, a administração oral de 18 a 27 gramas, durante 7 a 12 dias, aproximadamente 50 miligramas por quilo de pêso nas primeiras 4 a 12 horas, seguidas de meia grama de 6 em 6 horas. Para as crianças, um total de 9 gramas.

KILLOUGH & Cols. administraram a seus pacientes a cloromicetina, por via oral, na base de 50 miligramas por quilo de pêso e por dia, de 3 em 3 horas, num total de 36 gramas durante 12 dias, em média. As recaídas, em 12 pacientes foram clínicas (6 casos) e bacteriológicas (2 casos).

DALRYMPLE-CHAMPNEYS usou cloromicetina em 85 casos obtendo, em 57 dêles, cura aparente; em 17 outros, o efeito foi duvidoso e em 11 nenhum benefício pareceu resultar da terapêutica. As doses variaram de 250 a 500 miligramas administradas 3 a 6 vezes por dia, sendo a dose total de 9 a 52 gramas; em alguns casos, uma dose elevada era administrada nos primeiros dias mas essa prática é desaconselhada em virtude da possibilidade de efeitos tóxicos dêsse antibiótico.

Também GRIGGS tratou diversos pacientes com a cloromicetina, num total de 20, dos quais 12 com brucelose crônica. Metade dos pacientes apresentou nítida melhora, enquanto os outros não acusaram melhoras. Além dos numerosos efeitos colaterais observados: náuseas, boca seca, diarreia, fraqueza, etc., o grande número de recidivas levou o autor a declarar que a cloromicetina é de valor muito limitado nos casos de brucelose crônica sem bacteremia.

JANBON & BERTRAND trataram 30 brucelosos com cloromicetina, na dose de 1 grama de 6 em 6 horas, ou sejam 4 gramas diárias para adultos e 2 gramas diárias para crianças; na maioria dos casos a administração prolongou-se durante 3 a 4 semanas. Várias perturbações colaterais foram observadas. Avaliaram a eficiência do antibiótico em 70%, acentuando a impossibilidade de penetração nos esconderijos gangliais e ósseos como causadora do insucesso. Os resultados foram comparáveis aos obtidos com a aureomicina.

Nos casos de recidivas podem ser administradas as mesmas doses, em nova série.

Embora contestados os efeitos da cloromicetina na produção de anemia aplástica, convém manter vigilância estreita e contrôlo dos pacientes, para evitar qualquer eventualidade dessa natureza.

*Aureomicina* — O tratamento da brucelose humana com aureomicina teve seu início em 1948, no México. Neste País, como é sabido, a brucelose causada pela *Br. melitensis* era de extrema gravidade, dando origem, mesmo, a numerosas mortes. Os primeiros resultados, comunicados por CASTAÑEDA ao Congresso de Brucelose de Buenos Aires, nesse ano, causaram viva impressão. A seguir, DEBONO, em Malta, também chegava a resultados idênticos e exclamava, num desabafo:

“Depois de prolongada e desapontadora experiência no tratamento da brucelose, é necessária certa cautela para expressar uma opinião. Apesar disso, os resultados foram tão constantes, tão rápidos e, mesmo, tão dramáticos, que é impossível negar que a aureomicina tenha ação específica sobre a *Br. melitensis*, *in vivo*. É muito cedo para dizer se ela pode erradicar a infecção completamente e para sempre, em todos os casos, mas é, certamente, o único medicamento eficaz que já usei até agora”.

Realmente, de todos os antibióticos empregados isoladamente, a aureomicina é um dos que parece dar melhores resultados e apenas os seus efeitos colaterais impedem maior generalização de seu uso.

Os resultados obtidos na infecção por *Br. melitensis* foram logo confirmados para as infecções pelas outras espécies de brucelas, tanto em casos agudos quanto crônicos.

Os casos de infecção por *Br. melitensis* foram inicialmente estudados pelos grupos de CASTAÑEDA e RUIZ-SÁNCHEZ, em colaboração com autores norte-americanos (grupos de SPINK e de KNIGHT, respectivamente). As porcentagens de curas foram impressionantes, com rápida melhora dos pacientes e baixa da temperatura, o que, aliás, sucede com

outros antibióticos (terramicina e cloromicetina), com os quais a queda térmica é quase imediata, conforme observaram KNIGHT & Cols. (Fig. 150).

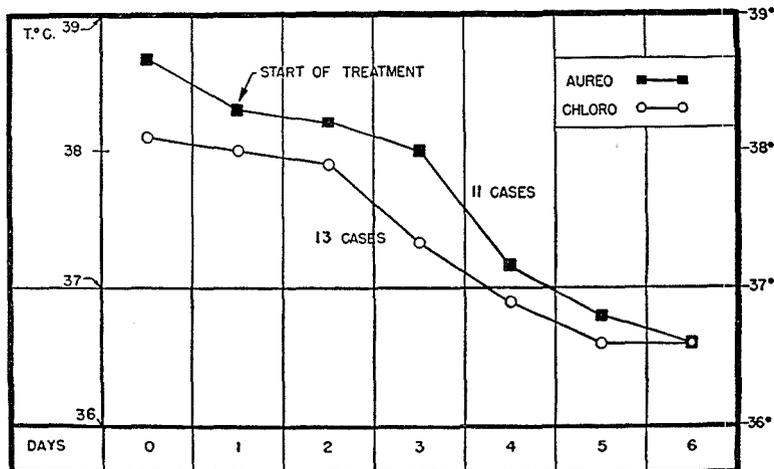


Fig. 150 — Efeito do tratamento com aureomicina e cloromicetina sobre a curva térmica de pacientes com brucelose, a maioria por *Br. melitensis*. Médias diárias das temperaturas. Segundo KNIGHT & Cols.

Também na França, 50 casos de brucelose humana de origem caprina foram tratados por JANBON & BERTRAND.

Muitos outros trabalhos, feitos de 1948 até o presente, confirmaram os primeiros resultados obtidos. Um dos mais importantes, pelo número de pacientes observados e os controles clínicos e laboratoriais seguidos, deve-se a MOLINELLI & Cols. Suas conclusões foram as seguintes: 1) O cloridrato de aureomicina tem uma extraordinária ação terapêutica imediata na brucelose humana, quando administrado pela via bucal ou pela via para-enteral (intramuscular ou intravenosa). Nos pacientes com brucelose de forma clínica comum o tratamento oral deve ser continuado pelo menos durante 30 dias consecutivos, durante os quais será administrado um total de 70 gramas, ou mais, de aureomicina. Se as vias oral e venosa são associadas durante um mês de tratamento, convém administrar um total aproximado de 50 gramas do antibiótico. Se apenas a via venosa é utilizada, a dose adequada varia em torno de 15 gramas, num período que não deve ser inferior a 20 dias. 2) Mesmo utilizando a posologia citada, um certo número de doentes apresentou recaídas, quase sempre ligeiras, as quais foram debeladas com uma segunda série de aureomicina. Os resultados obtidos foram melhores do que os conseguidos com diversas outras medicações, inclusive sulfas, combinações de sulfadiazina com estreptomicina com ou sem transfusões de sangue, antibrucelina e cloromicetina. O total de pacientes foi de 46, a maioria com a doença causada por *Br. suis* e *Br. abortus*. Os melhores resultados foram obtidos com a via oral, em quantidades que variaram de 22 gramas durante 10 dias a 92 gramas durante 40 dias; no primeiro dia, 500 miligramas, de 6 em 6 horas; no

segundo, 750 mg, com os mesmos intervalos, e nos outros dias, também 3 gramas diárias, até cessar a febre. Na metade dos casos foram observadas, logo no início do tratamento (primeiro e segundo dias, no máximo) exacerbações febris que já haviam sido notadas pelo grupo de CASTAÑEDA, no México; essa reação foi bem tolerada pelos pacientes. As únicas manifestações colaterais vistas foram exclusivamente para o lado do aparelho digestivo: náuseas, acidez gástrica, vômitos e diarreia; num caso, também, glossite e queilite. Tais sintomas foram evitados com a administração, ao mesmo tempo, de frutas, leite e outros alimentos, bem como alcalinos e complexo B.

HARRIS medicou 110 pacientes com aureomicina, só um deles com cultura positiva e aconselha, para os casos de brucelose crônica, 3 a 4 gramas de aureomicina diariamente, ou somente 2 gramas diárias, dadas por 4 vezes, num total de 18 a 25 gramas, durante 7 a 14 dias, se o medicamento fôr bem tolerado. Para as crianças, diminuir as doses proporcionalmente. Os efeitos colaterais foram mais frequentes nas mulheres (60%) do que nos homens (20%). O trabalho de HARRIS é muito interessante sob o ponto de vista das manifestações colaterais que podem ser observadas nesses casos. No caso único de que obteve brucelas, estas continuaram a ser isoladas depois de duas séries de tratamento, embora houvesse rápido restabelecimento do paciente. Os casos de HARRIS são os que mais se aproximam, sob o ponto de vista clínico, dos comumente observados em nosso País.

Também na forma crônica da brucelose, RALSTON & PAYNE usaram, em adultos 2,5 a 3,5 gramas diariamente, durante 10 dias. Para crianças, um total de 9 gramas, durante 12 dias.

Para os casos de brucelose aguda, BRYER & Cols. empregaram 2,4 a 3 gramas, diariamente.

Na série de 50 casos tratados por JANBON & BERTRAND, em que a infecção era por *Br. melitensis*, isolada de metade dos pacientes, os efeitos da aureomicina foram muito bons. A eficácia sobre as manifestações gerais e septicêmicas (hemocultura em particular), bem como sobre certas manifestações viscerais (hépato-esplênicas) foi rápida e constante. As adenomegalias e as ósteo-artrites foram mais rebeldes e contra elas convém associar a vacinoterapia. Na palavra dos autores, a aureomicina permite melhora clínica rápida e praticamente constante das bruceloses evolutivas mas não permite obter a esterilização dos esconderijos microbianos que são a origem de recaídas, se a imunidade é tardia ou ausente.

Na Inglaterra, DALRYMPLE-CHAMPNEYS tratou 59 pacientes com aureomicina, obtendo em 40 deles resultados benéficos, e, por vezes, dramáticos; em 15 casos o efeito foi duvidoso e somente em 4 não foram observados benefícios. A dose empregada foi 250 a 500 miligramas, pela boca, 3 a 6 vezes por dia, variando o total de 1 a 84 gramas. Observaram-se recidivas em 6 casos.

De 11 pacientes tratados por KILLOUGH & Cols., 4 tiveram recaídas clínicas e 4, bacteriológicas.

Na experiência de GRIGGS, a aureomicina administrada a 45 pacientes, dos quais 34 com brucelose crônica, revelou bons efeitos. Foi usada a média de 26 gramas durante 21 dias. As melhoras bem nítidas ocorreram em 75% dos pacientes e a extrema hipersensibilidade às brucelas foi também melhorada pela aureomicina. Entre as causas dos fracassos da terapêutica pela aureomicina, GRIGGS destaca o *habitat* intracelular das brucelas e as reações granulomatosas formadas, bem como a falta de resposta imunológica por parte do hospedeiro.

*Terramicina* — Dos antibióticos experimentados na brucelose, a terramicina é o de emprêgo mais generalizado no momento, devido às diminutas manifestações colaterais que determina. No campo de provas de experimentação de antibióticos, o México, o grupo de RUIZ-SÁNCHEZ em colaboração com KNIGHT, fez experiências comparativas da terramicina com aureomicina e cloromicetina, observando que havia recidivas em 30% dos pacientes tratados com aureomicina, 50% nos tratados com a cloromicetina e apenas 2 recidivas em 12 pacientes tratados com terramicina (aproximadamente 16%).

Logo a seguir, os mesmos pesquisadores medicaram 11 casos de brucelose aguda, dos quais nove, com bacteremia. As melhoras foram imediatas. As doses empregadas foram, em média, 100 ou 150 miligramas por quilo de pêso e por dia, de 6 em 6 horas, no primeiro caso, e de 3 em 3, no segundo. Depois da defervescência, tôdas as doses foram reduzidas para 50 miligramas por quilo de pêso e mantidas assim durante 28 dias.

Também na brucelose infantil RUIZ-SÁNCHEZ confirmou os bons resultados da terramicina, com rápido desaparecimento da febre e dos outros sintomas, bem como negatificação das hemoculturas desde os primeiros dias. Num dos 5 casos tratados, contudo, existiam complicações pulmonares e articulares; do lavado brônquico foram isoladas brucelas, mesmo depois de duas séries de tratamento com terramicina; essa paciente foi submetida, então, a terceira série de terramicina, com bons resultados.

O grupo de CRISCUOLO, em Córdoba, na Argentina, também fez diversas experiências com a terramicina, no tratamento da brucelose humana. Propositadamente foram escolhidos casos bastante graves de infecção, causados por *Br. melitensis* e com culturas positivas. Em todos foi observada rápida melhora mas ainda houve recidivas, em geral, de gravidade moderada. A rotina de administração foi a seguinte: no primeiro dia, 250 miligramas de 4 em 4 horas; no segundo dia, de 4 em 4 horas, alternadamente, 250 e 500 miligramas; do terceiro dia em diante, até completar 3 semanas, foram dados 500 miligramas de 4 em 4 horas. A dose por quilo de pêso variou de 40 a 60 miligramas. O medicamento era administrado acompanhado de alimento.

KILLOUGH & Cols. trataram 16 pacientes com terramicina, observando 8 recidivas clínicas e 3, bacteriológicas.

JANBON & Cols., na França, trataram 26 pacientes com terramicina, observando-os cuidadosamente sob o ponto de vista clínico e bacteriológico (cultura de sangue, medula óssea e gânglios) antes, durante e de-

pois do tratamento. O esquema terapêutico foi o seguinte: desde o início, 3 gramas de terramicina por 4 vezes, via oral, durante 24 horas; em 17 doentes esse tratamento foi seguido durante 28 dias e em 9 outros, durante 15 dias. Foi observada ação imediata sobre o estado geral e sobre os diversos exames clínicos e bacteriológicos. O único acidente colateral observado foi a diarreia, na maioria dos casos banal, no início do tratamento e que diminuía no fim da primeira semana.

*Terramicina e estreptomina combinadas* — Tendo sido verificado, praticamente por todos os autores, que os melhores antibióticos, usados isoladamente, eram de grande eficácia no tratamento das formas agudas e crônicas de brucelose mas ainda deixavam margem para grande número de recidivas, pensou-se na associação entre eles.

Das diversas combinações experimentadas, a que parece dar melhores resultados, quer sob o ponto de vista da tolerância, quer sob o aspecto da diminuição de recidivas e melhora mais rápida dos pacientes, é da terramicina com estreptomina.

Na experiência de CRISCUOLO & Cols., as combinações de estreptomina-sulfadiazina, aureomicina-estreptomina e cloromicetina-estreptomina não impedem as recidivas bacteriológicas. A terapêutica por meio de terramicina-estreptomina, em 6 pacientes com brucelose aguda determinada por *Br. melitensis*, ocasionou melhoras bastante rápidas e acentuadas mas existiram evidências de que pelo menos em metade dos casos houve recidivas.

Recentemente, MAGILL & KILLOUGH trataram 23 pacientes com a associação terramicina-estreptomina. A terramicina foi administrada oralmente de 4 em 4 horas e a estreptomina ou a dihidro-estreptomina administrada concomitantemente, uma vez por dia, em injeções intramusculares. Dos 23 pacientes, 21 receberam 3 gramas de terramicina, diariamente, na primeira semana e 1 grama e meia, diariamente, nas duas outras semanas. Além disso, cada um recebeu 1 grama de estreptomina, diariamente, durante essas 3 semanas. O total para cada doente foi, portanto, de 42 gramas de terramicina e 21 gramas de estreptomina. A observação mais aparente foi a nítida redução do número de recidivas, em comparação com a terapêutica que os mesmos autores haviam ensaiado com a terramicina, a aureomicina e a cloromicetina, utilizadas isoladamente. Apenas 14% de recidivas foram observadas, o que, apesar de constituir proporção bastante pequena, ainda mostra a necessidade de maiores pesquisas no sentido de obter-se melhor e mais eficaz terapêutica da brucelose humana.

CARRILLO também refere os bons efeitos da ação sinérgica de antibióticos na brucelose humana, com o tratamento de 112 pacientes, simultaneamente com aureomicina (500 mg diários), dihidro-estreptomina (1 g diária) e sulfadiazina (3 g diárias).

*Eritromicina* — A eritromicina ou ilotocina é um dos antibióticos mais recentes empregados no tratamento da brucelose. RUIZ-SÁNCHEZ & Cols. experimentaram-na em 4 pacientes, administrando 2 gramas diariamente, durante 10 dias, em média; na maioria dos casos os sintomas desa-

pareceram no quarto dia e as culturas tornaram-se negativas no segundo. O reduzido número de observações impediu que tirassem maiores conclusões. Os autores declaram que indubitavelmente nenhum dos antibióticos, isoladamente ou em combinação com outro, resolveu de forma definitiva os problemas inerentes ao tratamento da brucelose; por isso, qualquer experiência promissora com outros antibióticos deve ser continuada e estimulada.

LEÓN & CANO, em 1954, experimentaram a ilotocina quer *in vitro*, quer *in vivo*. Os casos humanos, tratados com o antibiótico em doses de 600 mg de 6 em 6 horas, recuperaram-se do quadro infeccioso, em média com 2 dias e meio; contudo, a maioria dos tratados só com a ilotocina, recaíram 1 a 20 semanas depois de interrompido o tratamento. Por outro lado, os 9 que receberam ilotocina e estreptomicina, não apresentaram recaídas, embora observados até 9 meses depois de suspenso o tratamento. Os autores citam observações de outros, como HARRIS, que tratou 24 casos de brucelose crônica com doses moderadas de ilotocina, durante períodos curtos, com resultados imediatos promissores.

Experiências bem sucedidas, em pacientes humanos, foram descritas, recentemente, por URTEAGA B. & COLS. e CRISCUOLO & COLS.

*Antibióticos em doses mínimas* — Partindo da hipótese de que as brucelas são resistentes aos antibióticos, devido a se localizarem no interior das células, onde dificilmente serão atingidas pelos mesmos, conforme já foi referido, CASTAÑEDA & CARRILLO CARDENAS imaginaram, muito recentemente, outra forma de administrar êsses medicamentos. Num grupo de pacientes selecionados, fizeram injeções de terramicina preparada de tal forma a constituir partículas insolúveis; estas partículas seriam fagocitadas e, no interior dos fagócitos, que são os elementos texturais que contêm as brucelas em colonização, entrariam em contato com estas, destruindo-as. Essa hipótese de trabalho parece ter sido confirmada pelos bons resultados clínicos obtidos e constitui um método de tratamento bastante promissor e lógico. Observações microscópicas em animais de laboratório evidenciaram partículas semelhantes às do antibiótico, no interior dos fagócitos. O antibiótico é preparado e administrado da seguinte maneira: Dissolver em água destilada, filtrar em Seitz, ajustar o pH à neutralidade com soda, separar o precipitado em papel de filtro estéril, lavar com água destilada estéril e secar a 37°C. O pó é triturado em partículas de 3 a 10 micra de diâmetro e distribuído em ampôlas estéreis, na quantidade de 800 miligramas em cada; conserva-se bem durante 3 meses, à temperatura ambiente. No momento de usar, suspender 800 mg dessa terramicina em 20 ml de solução salina isotônica contendo mertiolato a 1:10.000; agitar bem para dispersar. Injetar subcutâneamente na região glútea 2 a 4 ml, o que dá irritação local nos dias subseqüentes. Uma injeção por semana, numa série de 6 a 7 doses, corresponde a um total de 800 a 1.200 miligramas.

JANBON & BERTRAND, trabalhando com aureomicina, dizem que a frequência das recaídas, apesar das doses fortes e prolongadas do antibiótico e da vacinoterapia associada, leva a pensar que a esterilização

dos esconderijos microbianos é impossível de obter-se, de modo que talvez se consiga o desaparecimento de brucelas do sangue com tratamentos mais curtos e menos custosos, com os antibióticos. Restaria estimular-se a imunidade com a vacinoterapia.

Também RUIZ-SÁNCHEZ & Cols. referem os melhores resultados obtidos na brucelose aguda com doses pequenas de antibióticos em vez das doses maciças comumente empregadas. Aureomicina: 5-20 mg/K/dia, durante 15 dias; cloranfenicol: 5-20 mg/K/dia, durante 15 dias; terramicina: 5-40 mg/K/dia, durante 15 dias. MAGRIÑA & Foz conseguem bons resultados, em 35 enfermos, com uma injeção por semana, intramuscular; contudo, o método não evita as recidivas e as melhoras são lentas; é recomendável sob o ponto de vista de economia de terramicina.

*Antibióticos e dessensibilização* — Os efeitos dos antibióticos não são apenas os que se obtêm pela atividade direta sobre as brucelas, liquidando as que se encontram nos meios circulantes ou extracelularmente. De fato, vão mais além: 1.º estimulando as próprias defesas imunitárias do paciente de maneira que, mesmo após cessado o tratamento, ainda que eventualmente, possam isolar-se brucelas do enfermo, pouco a pouco este vai se desembaraçando das mesmas; 2.º promovendo a gradual dessensibilização do paciente, o que é de capital importância nessa infecção sobretudo nas formas crônicas, que têm sua sintomatologia determinada, principalmente, pelos fenômenos de hipersensibilidade.

No primeiro caso, as experiências feitas pelo grupo de SPINK, bem como os estudos clínicos, revelaram que os antibióticos controlam e exercem um efeito supressivo na brucelose mas a completa erradicação dos germes dos tecidos depende do mecanismo de defesa do hospedeiro.

As evidências de que os antibióticos auxiliam a dessensibilização dos pacientes são muitas, donde ser vivamente aconselhável a administração simultânea de antibióticos e agentes dessensibilizantes como as vacinas, o que será discutido em tópico a seguir. Convém assinalar, contudo, desde já, que tratamentos de doentes especialmente selecionados com esse propósito, foram feitos por LEÓN & Cols., no México. Observaram, esses autores, em numerosos pacientes, que os efeitos eram seguros e duradouros quando associavam os antibióticos à imuno-dessensibilização.

*Antibióticos e cortisona e ACTH* — Tendo sido demonstrado de várias maneiras que a ineficácia dos antibióticos, em certos casos de brucelose, devia-se ao fato dos germes se alojarem intracelularmente, onde não são atingidos pelos medicamentos dissolvidos, imaginaram-se vários processos para desalojá-los daí.

Como já vimos, CASTAÑEDA praticou a introdução dos antibióticos nas células fagocitárias sob a forma de partículas insolúveis. Numa outra linha de experimentação, o grupo de SPINK ensaiou os hormônios cortisona e ACTH, em animais de laboratório infectados com brucela. Os resultados obtidos fizeram com que fossem tratados alguns pacien-

tes com brucelose crônica; embora os efeitos iniciais não fôsem dos melhores, restou a impressão de que os doentes com sintomatologia antiga e resistente aos tratamentos usuais, não pareceram melhorar com ACTH. Naqueles com brucelose aguda e com sintomatologia tóxica, o emprêgo simultâneo de ACTH durante um ou dois dias, com dihidroestreptomicina e aureomicina ou terramicina pareceu causar bons efeitos (Fig. 151). Contudo, ELINGER verificou aumento das dores, edema, as-

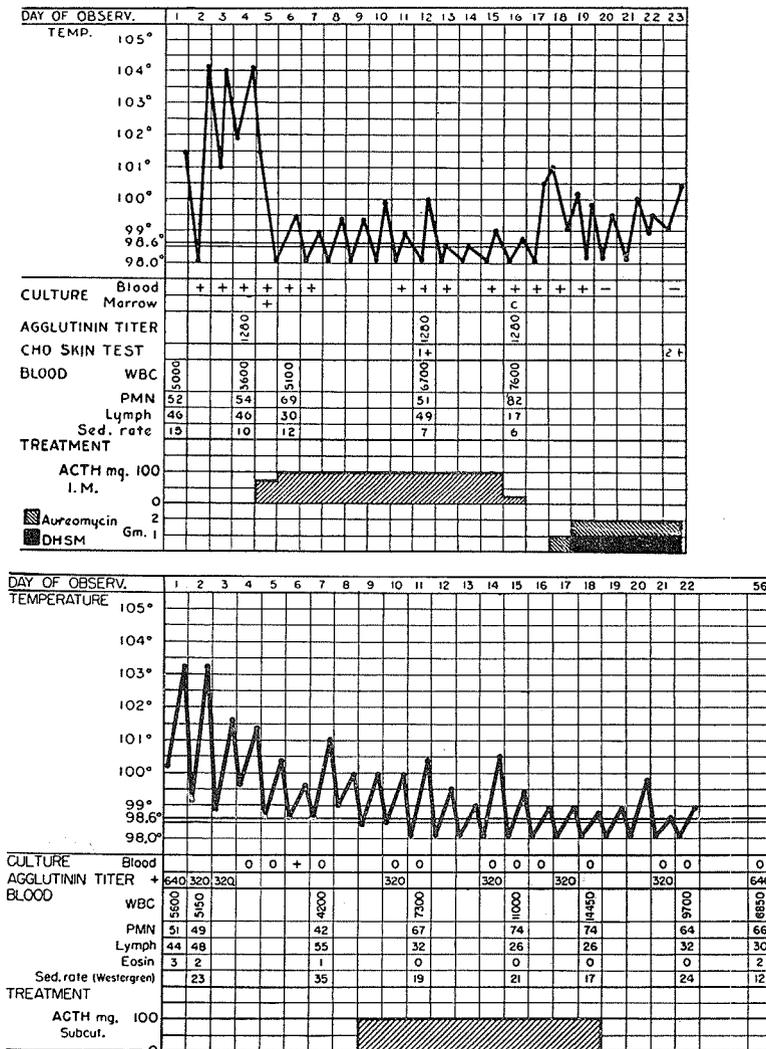


Fig. 151 — Influência do ACTH na brucelose. Em cima: queda da temperatura coincidindo com a administração de ACTH mas persistência da bacteremia por *Br. abortus*; tratamento posterior bem sucedido, com aureomicina e estreptomicina. Em baixo: tratamento bem sucedido, apenas com ACTH. Segundo SPINK & HALL.

tenia e excitação nervosa em pacientes com artrites brucelosas e que pioraram com o uso de cortisona; além disso observou diminuição do poder bactericida do sangue.

---

Resumindo a ação dos antibióticos, é conveniente não esquecer que de acôrdo com a experiência de SPINK, JANBON, CASTAÑEDA, CRUICKSHANK e outros, parece que êsses medicamentos eliminam as brucelas circulantes mas a erradicação completa dos germes dos tecidos depende dos mecanismos de defesa do hospedeiro.

Outros antibióticos vão surgindo com emprêgo na brucelose, como a acromicina (tetraciclina), experimentada por RUIZ-SÁNCHEZ & Cols., em 13 casos, com bons resultados. Também extratos de plantas ou seus produtos ativos, como a pilosela, de GREIB & DUQUÉNOIS.

#### AGENTES BIOLÓGICOS

*Sangue* — Auto-hemoterapia foi preconizada por ODDO, sem maior sucesso. Igualmente, transfusões foram usadas algumas vêzes, com resultado favorável, embora o número de observações seja pequeno para julgamento. Igual resultado deu sôro de convalescentes.

*Imuno-soros* — Foram ensaiados imuno-soros específicos ou não. CANTALOUBE experimentou sôro antidiftérico, com excelentes resultados nalguns casos, certamente como medicação de choque.

WRIGHT preparou soros antibrucellosos artificialmente, em cavalos, ou retirou-os de convalescentes humanos. Foram também usados soros de convalescentes, por CRESWELL & WALLACE, com resultados aparentemente encorajadores. GWATKIN verificou experimentalmente seu efeito em animais inoculados com brucelas e WHERRY & Cols., trataram brucellosos com imuno-soros de cabras, sem resultado favorável. FLIPPIN empregou sôro de bovinos injetados com suspensões mortas de brucelas, com resultados pouco nítidos.

#### VACINAS

A imunização ativa, como tratamento, tem sido empregada desde muito, havendo BASSET-SMITH, na Ilha de Malta, usado pela primeira vez vacina curativa com resultados satisfatórios. RAINSFORD, O'NEIL, GOLDFAIN, SIMPSON, HARRIS, CALDER e, particularmente, médicos italianos, espanhóis e franceses, experimentaram todos a vacinoterapia com suspensões de germes mortos (no calor, formol, raios ultravioleta), com resultados favoráveis ou pouco encorajadores. HARRIS empregou largamente a vacinoterapia com suspensões de *Br. abortus* porque as de *Br. melitensis* produziram reações muito intensas. CASTAÑEDA usa um extrato de brucelas solúvel nágua.

A gravidade do caso, a sensibilização do paciente, o estadió da doença e as condições gerais do enfermo, são elementos importantes na do-

sagem e no emprêgo da vacinoterapia. A prova alérgica serve de índice de sensibilidade que em certos casos, chega a ser violenta: linfangite, adenite regional, reação geral. Nestes casos consegue-se a dessensibilização com a repetição das doses. Doses pequenas estimulam os anticorpos e fazem a dessensibilização, evitando a produção das reações graves observadas com as grandes doses. O choque não tem significação na terapêutica vacinal a não ser em certas circunstâncias. A concentração da vacina deve ser de menos de 200.000 organismos nos hiperérgicos, e, em casos excepcionais, ainda é excessivo êsse número, devendo-se diluir mais, propugna SIGNORELLI.

Têm sido usados os mais diversos tipos de vacina:

1) *Filtrados de culturas*. A primeira vacina dêste tipo foi a *melitina*, de BURNET, feita para diagnóstico pela prova intradérmica e que depois foi usada para fins curativos. É o filtrado de uma cultura envelhecida de *Br. melitensis*. HUDDLESON denominou *brucelina* a filtrados idênticos, de *Br. abortus*; mede a atividade reacional da brucelina, em provas alérgicas na pele de coelhos sensibilizados com a inoculação de brucelas, considerando fracos e desprezíveis os alergenos que reagem quando diluídos ao décimo. O produto é estável, se conservado em geladeira. Seus efeitos sôbre os doentes foram por êle determinados, tendo verificado a produção de leucocitose neutrófila e aumento das opsoninas. Nos doentes em que a sensibilização alérgica desaparece, os efeitos são fracos. Com 12 anos de seu emprêgo, DEBONO acha que o produto é aconselhável. Administração por via intradérmica, na dose de 0,5 ml, quando não acompanhada de reação geral (febre, dentro de 25 horas, dores musculares, suores). Repete-se a dose cada 3 dias.

Não havendo reação geral, aumenta-se a segunda dose para 1 ml, dividida entre a pele e o tecido subcutâneo, mantendo-se as injeções sempre com o mesmo intervalo de 3 dias, durante 15 dias. A temperatura será tomada 2 vêzes por dia, pela manhã e à tarde. Acentua DEBONO que respondem bem ao tratamento as formas agudas, com aparente cura. Há contra-indicações no uso: cardiopatias, tumores cerebrais, anemia aplástica ou perniciosa, epilepsia, diabete. BENNING conseguiu grandes melhoras, em mais de 60% de seus doentes.

2) *Antígenos totais*. Suspensões microbianas, muito empregadas na França, na Espanha e, especialmente, na Itália; de uma ou de várias espécies de brucelas, mortas pelo calor ou formol.

Nos Estados Unidos, HARRIS, é o seu maior propugnador, apresentando estatísticas muito favoráveis, de 53% até 85% de resultados satisfatórios, nos vários grupos estudados. Ao contrário de grande número de clínicos europeus, HARRIS emprega a vacina em doentes crônicos, não febris. Êstes apresentam reações muito intensas. O'NEIL, segundo HARRIS, usa uma suspensão de brucelas desintoxicada, também com resultados favoráveis, embora empregada em número reduzido de casos.

A maioria dos clínicos prefere a via subcutânea para a introdução da vacina. BIANCHI e, depois, outros médicos italianos, optaram pela via venosa, que SIGNORELLI aconselha calorosamente. Comenta êste último, a propósito de vacinoterapia, que há que distinguir na brucelose

a cura clínica e a esterilização; na cura clínica há desaparecimento dos sintomas, com a dessensibilização alérgica, resultando inofensiva ou tolerada a presença do germe pelo organismo, mesmo que ele ainda aí permaneça.

Devem distinguir-se na alergia infectuosa dois fatores, diz êle: a) um estado de hipersensibilidade, com redução da imunidade e tendência a fenômenos regressivos para a anergia; b) aumento das defesas imunitárias e texturais e tendência a fenômenos proliferativos, até anergia total, que é expressão de dessensibilização imunitária. Na brucelose a instabilidade do equilíbrio imunitário é mais evidente que em qualquer outra doença infecciosa, podendo resultar na cura ou na piora, dependente de causas até banais, como estados emocionais, causas ambientais e fatores alimentares, climáticos, medicamentosos e outros. Daí decorre a sintomatologia, que está na dependência da alternância de crises de sintomas, seguidas de silêncio, pela predominância daquele equilíbrio. Intervindo com antigenoterapia pela vacina, ou com outros agentes terapêuticos, favorece-se a cura, pela dominância da fase anergizante protetora. A via venosa facilita o estímulo imunitário pelo emprêgo da *dose exata*, pela *via certa* e no *momento oportuno*, acrescenta SIGNORELLI.

A vacina por via venosa provoca aumento da temperatura mas a febre determinada por ela não se acompanha de abatimento, como se observa na hipertermia conseqüente ao choque inespecífico de proteínas e vacinas pirogênicas. As doses para uso intravenoso devem ser fracas porque as fortes provocam reações excessivas e graves, até mortais. É necessário e útil, antes de iniciar a vacinação, medir a sensibilidade alérgica do doente mediante introdução de suspensões ou substâncias derivadas das brucelas, na pele (Ver capítulo do Diagnóstico). As reações fortes indicam prudência no tratamento vacinoterápico por essa via.

As doses são de 1 a 5 milhões de germes, subindo para 10, 25, 50, até 500 milhões. O ideal é a autovacina.

A reação febril aparece dentro de 2 a 3 horas e dura de 4 a 5 horas. As vezes, calafrios, mal-estar. A reação febril, sem fenômenos gerais, é sinal favorável ao resultado terapêutico. Intervalo das doses: 3 dias.

3) *Endoproteínas*. Conforme a técnica de obtenção, algumas endoproteínas provocam reações demasiado fortes, sobretudo quando introduzidas na veia, como a de REILLY. CASTAÑEDA prefere os antígenos parciais (haptenos), que são mais bem tolerados e de efeitos satisfatórios.

Em alguns casos as reações podem ser muito fortes, devido à extrema sensibilidade dos pacientes, sendo necessária muita cautela, conforme acentua GRIGGS.

Nós vimos utilizando no tratamento dos casos aqui observados, um tipo análogo de substância vacinante, preferindo a via intradérmica para sua introdução, começando com a diluição mais fraca (1/25); ainda mais fraca, se o paciente apresenta reações cutâneas muito fortes, passando depois à diluição mais forte (1/5). Inicia-se a série com 0,1 ml e vai se aumentando até 0,5 ml, repetindo-se cada dose 3 vezes, de 3 em 3 dias. Em geral, bastam as duas séries para a cura. Em certos

casos, em que o tratamento deve ser prolongado, passa-se à via subcutânea, com a diluição mais concentrada, e, por fim, à via venosa.

As substâncias antigênicas contidas no produto que usamos são muito bem toleradas pela quase totalidade dos doentes. Além do desaparecimento dos sintomas, numa proporção maior de 60% dos doentes, o produto faz cair o título aglutinante e a sensibilidade alérgica, até desaparecimento. Este detalhe é importante porque é comum o doente mandar proceder a exames após o uso e ter, então, seu diagnóstico anterior infirmado pelo laboratorista.

Sendo a brucelose uma doença eminentemente alergizante, com predominância de localização focal, a maioria dos sintomas nela observados decorre da sensibilização textural deste ou daquele órgão, desta ou daquela região. Discutimos isto em outra oportunidade. Com o uso sistemático da via intradérmica, dessensibilizante por excelência, no conceito e prática dos alergistas, realizamos suavemente, com substâncias bem toleradas e por via apropriada, a dessensibilização, o que significa supressão dos fenômenos alérgicos e, conseqüentemente, dos sintomas deles decorrentes. Conseguimos, assim, a cura clínica, por vezes com resultados espetaculares, numa elevada porcentagem dos casos tratados.

Cumpra assinalar que nem todos os doentes se curam logo. Certas formas, como as artroses, nevrites, visceropatias, são de cura mais demorada, carecendo insistir nas aplicações meses a fio. De ordinário, as melhoras se acentuam ao cabo de 1 a 2 meses de tratamento; este deve ser continuado, mesmo quando os sintomas tenham desaparecido, pelo menos até terminação das duas séries, fraca e forte. As recidivas são muito raras com esse tratamento, restando a cura clínica permanente.

Dos métodos por nós usados, este se mostrou preferencial, pelos bons resultados colhidos, a inocuidade, a tolerância pelos doentes e a comodidade de emprêgo.

Não há inconveniente que se lhe associem antibióticos, nos casos febris, por exemplo, bem como a terapêutica sintomática, quando indicada, como nas anemias, cardiopatias, artropatias, etc., de origem brucelosa ou não.

Sendo os casos de brucelose até agora verificados em nosso País, provocados por brucelas bovina e porcina, que mais vezes ocasionam casos crônicos, de sintomatologia variada mas persistente, o sucesso obtido com essa terapêutica decorre dos fundamentos acima, da dessensibilização, enquadrando-se nos conceitos de SIGNORELLI, já vistos.

#### TRATAMENTO SINTOMÁTICO

*Febre* — Embora ocorrendo com menos freqüência do que se pensava, a febre é por vezes elevada, a ponto de exigir cuidados do clínico. Contra ela, administrar antitérmicos e envoltórios úmidos. Antipirina e piramido são contra-indicados.

Sobrevindo sudorese abundante, troca de roupas de corpo e de cama. Como anti-sudoral, apenas atropina, nos casos de suores excessivos.

*Obstipação* — É combatida com substâncias de fraco efeito purgativo e, quando possível, com dieta.

*Diarréia* — Quando presente, usam-se calmantes das mucosas ou salinos, em fracas doses.

Nos casos de intolerância gástrica administrar glicose, e, eventualmente, soluções salinas glicosadas para restabelecer a desmineralização, ao lado de líquidos: sucos de frutas, chá, leite, etc.

A *irritabilidade* e o *nervosismo*, bem como a *insônia*, esta quase sempre presente na fase inicial, são combatidos com barbitúricos, cuidando de só utilizá-los enquanto êsses fenômenos forem intensos ou deprimirem demasiado o paciente. Tais drogas não devem ser administradas por tempo prolongado, particularmente em presença de lesões renais. O nervosismo exige ambiente agradável, atenção e tolerância por parte dos que cuidam do doente.

Quando há *depressão nervosa* deve-se fazer psicoterapia, sobretudo nos doentes que se preocupam demasiado com os sintomas que não cessam, particularmente dores articulares, e quando as crises se repetem indefinidamente. Preparar o espírito do doente para um sofrimento prolongado; esclarecer que o mal é de prognóstico favorável, não ameaçando a sobrevivência.

Sintoma comum é a *anemia*, corrigida com preparações ferruginosas, associadas a ácido fólico e vitaminas, junto com a dieta.

Repouso no leito, na fase aguda, ou nos casos de artrites e visceropatias acentuadas.

## TRATAMENTO CIRÚRGICO

Tem indicação em casos bastante limitados. A *esplenectomia* remove um dos maiores reservatórios de brucelas no organismo porém não é suficiente para a cura; entretanto, quando o baço está muito comprometido, impõe-se a intervenção.

Drenagem de abscessos, raspagens ósseas, remoção de quistos e bursas constituem tratamento cirúrgico, nos casos em que há indicação para isso.

---

## BIBLIOGRAFIA

- ABERNATHY, R. & SPINK, W. W.  
1952. J. Clin. Invest., 31(11):947-957.
- BASSETT-SMITH, P. W.  
1903. Brit. Med. J., 2:1589.
- BENNING, H. M.  
1946. J. Amer. Med. Assoc., 130:320-325.

- BERTRAND, L.  
1955. Rev. du Praticien, 5(3):253-260.
- BIANCHI, L.  
1932. Bol. Soc. Med. Chir. Pav., 46(5):809-848.
- BRAUDE, A. I. & Cols.  
1949. J. Amer. Med. Assoc., 141:831-835.
- BRYER, M. S. & Cols.  
1949. Bull. Johns Hopkins Hosp., 84(5):444-460.
- BURNET, E.  
1922. Arch. Inst. Pasteur Afr. Nord, 2:165-211.
- CALDER, R. M.  
1939. South Med. J., 32:451-460.
- JANBON, M.  
1911. La fièvre de Malte en France. Paris: 255 págs.
- CARLE, B. N. & LARSON, C. L.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 155-171.
- CARRILLO-CÁRDENAS, C.  
1952. Rev. Méd. Hosp. General, 15(6):367-370.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 pp.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, April, n.º 46; Sept., n.º 64.
- CASTAÑEDA, M. R. & CARRILLO-CÁRDENAS, C.  
1953. Amer. J. Med. Sci., 226: 504-508.
- CRESWELL, S. M. & WALLACE, C. E.  
1936. J. Amer. Med. Assoc., 106:1384-1386.
- CRISCUOLO, E. & Cols.  
1951. El Día Médico (12):30 pp. Em separata.  
1955. Rev. Fac. Cienc. Méd. Córdoba, 13:18 págs. Em separata.
- CRUICKSHANK, J. C.  
1949. Monthly Bull. Min. Health & Publ. Health Lab. Service, 8:190-202.
- DALRYMPLE-CHAMPNEYS, W.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 11.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 87.
- DEBONO, J. E.  
1939. Brit. Med. Journal, 1(Feb., 18):326-327.  
1949. Lancet, 257(6573):326-329.
- EISELE, C. W.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 148-154.
- EISELE, C. W. & McCULLOUGH, N. B.  
1947. J. Amer. Med. Assoc., 135:1053-1055.
- ELINGER, R. A. C.  
1954. Rev. Asoc. Med. Argent., 68(779-780):419-420.
- EYRE, J. W. H.  
1908. Lancet, 1:1677-1682.
- FLIPPIN, H. F.  
1938. Ann. Int. Med., 12:232-235.

- GOLDFAIN, E.  
1938. South Med. Journal, 31:325-327.
- GREIB, E. & DUQUÉNOIS, P.  
1955. Presse Méd., 63(31):642-644.
- GRIGGS, J. F.  
1948. Calif. Med., 69:205-211.  
1948. J. Amer. Med. Assoc., 136:911-915.  
1949. Ann. Allergy, 7(3):350-358.  
1952. Antib. & Chemoth., 2(6):290-299; 300-306.
- GWATKIN, R.  
1932. J. Inf. Dis., 50:111-118.
- HARRIS, H. J.  
1949. Bull. New York Acad. Med., II, 25(7):458-459.  
1950. Brucellosis (Undulant fever), 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed. New York: 379 págs.
- JANBON, M.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 29
- JANBON, M. & BERTRAND, L.  
1950. Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 66(25-26):1352-1360.  
1950. Sem. Hôp. Paris, 26(65):3127-3131.
- JANBON, M. & COLS.  
1951. Concours Méd., 42. Em separata.
- KILLOUGH, J. H. & COLS.  
1951. J. Amer. Med. Assoc., 145:553-556.  
1953. Ann. Int. Med., 39(2):222-229.
- KNIGHT, V.  
1950. Ann. New York Acad. Sci., 53(2):332-346.
- KNIGHT, V. & COLS.  
1949. Amer. J. Med., 6(4):407-416.  
1950. Amer. J. Med. Sci., 219(6):627-638.  
1951. A. M. A. Arch. Int. Med., 87:835-843.
- LEÓN, A. P. & CANO, C.  
1954. Rev. Inst. Salub. Enf. Trop., 14(1):3-15.
- LEÓN, A. P. & COLS.  
1952. Science, 115(2995):576-577.
- MAGILL, G. B. & KILLOUGH, J. H.  
1953. A. M. A. Arch. Int. Med., 91:204-211.
- MAGRIÑA, N. & FOZ, A.  
1954. Bol. Cons. Gen. Col. Med. España, 17(84):39-45.
- MOLINELLI, E. A. & COLS.  
1950. El Día Médico, 22(76):3307-3362.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 53, add. 1.
- NAVLET, J. & PRIETO, J.  
1949. Medicina Clínica, 7,13(3):188-190.

- ODDO, C.  
1925. Em Signorelli.
- O'NEIL, A. E.  
1933. Em Harris e Huddleson.
- RAINSFORD, S. G.  
1935. Em Huddleson.
- RALSTON, R. J. & PAYNE, E. H.  
1950. J. Amer. Med. Assoc., 142:159-161.
- REILLY  
1941. Em Signorelli.
- ROGER, H.  
1921. Em "Traité de Pathologie Médicale et de Thérapeutique Appliquée,  
XV — Infections a germe connu", Paris: 487-513.
- ROUQUÈS, L.  
1954. Presse Méd., 62(51):1076.
- RUIZ-SÁNCHEZ, F.  
1951. Rev. Invest. Clín., 3(3):229-273.
- RUIZ-SÁNCHEZ, F. & Cols.  
1951. Prensa Méd. Mex., 16(9):191-196.  
1953. Medicina, México, 24(685):449-455.  
1955. Antib. Medicine, 1(3):158-162.
- SIGNORELLI, S.  
1941. L'infezione brucellare nell'uomo. Napoli: 327 págs.  
1949. L'infezione brucellare nell'uomo, 2.<sup>a</sup> ed. Napoli: 437 págs.
- SIMPSON, W. M.  
1930-31. Ann. Int. Med., 4:238-259.
- SPINK, W. W.  
1952. New Engl. J. Med., 247:603-610.
- SPINK, W. W. & Cols.  
1948. J. Amer. Med. Assoc., 138:1145-1148.
- SPINK, W. W. & HALL, W. H.  
1952. J. Clin. Invest., 31(11):958-968.
- SPINK, W. W. & YOW, E. M.  
1949. J. Amer. Med. Assoc., 141:964-966.
- URTEAGA B., O. & Cols.  
1954. Arch. Peruanos Patol. y Clín., 8:437-460.
- WHERRY, W. B. & Cols.  
1935. J. Amer. Med. Assoc., 111:236.  
1935. Amer. J. Trop. Med., 15:415.
- WOODWARD, T. E.  
1949. J. Clin. Invest., 28(5):968-976.
- WRIGHT, A. E.  
1895. Em Roger.
-



## CAPÍTULO XII

---

### Profilaxia

Para evitar a brucelose humana, a medida fundamental e lógica é a *eliminação da doença nos animais*. Isto, contudo, embora possível, é assunto que, para nosso meio, demandará tempo, por exigir a realização de campanha profilática, baseada sobretudo nos fatos epidemiológicos. Sumariamente seria impedir a contaminação das populações urbanas, que ingerem produtos de origem animal e, o que é importante, defender as rurais, inclusive os trabalhadores em frigoríficos e matadouros, contra os riscos a que estão forçosamente submetidos ao lidar com animais doentes ou produtos deles derivados. Pesquisas, visando à obtenção duma vacina preventiva, tornam-se necessárias, igualmente.

A parte relativa à erradicação da doença nos animais será vista no capítulo seguinte, da Brucelose Animal.

Ampliando o que acima foi dito, transcreveremos algumas opiniões de renomados especialistas em brucelose, quanto aos melhores processos de evitar-se a infecção humana.

SIGNORELLI aponta como básicas as seguintes medidas:

- 1) Combate à difusão da doença entre as populações das cidades mediante normas higiênicas oportunas, durante o tratamento dos enfermos, e rigorosa vigilância sobre os produtos alimentares oriundos de animais;
- 2) Proteção das populações rurais e das classes profissionais que possam facilmente entrar em contacto com materiais infectados, por meio de divulgação de medidas higiênicas e de pesquisa e isolamento dos animais doentes;
- 3) Profilaxia imunitária, por meio de vacinas.

A possibilidade da diminuição do número de casos, devidos à ingestão de leite contaminado, pôde ser demonstrada de modo nítido, na Ilha de Malta, quando os soldados passaram obrigatoriamente a usar apenas leite fervido (Fig. 67). Conforme assinala SIGNORELLI, embora mais de 40 anos tenham decorrido, a brucelose humana continua a existir, o que se deve atribuir às diversas modalidades pelas quais os germes podem atingir o homem. A fervura do leite, importante como recurso profilático na doença humana, não constitui a única medida capaz de afastar a infecção, devendo ser completada com normas que impeçam, tanto quanto possível, o contágio, como: a) evitar a ingestão de alimentos crus provenientes de fazendas (lacticínios diversos e verduras), quando não se tenha a certeza de que a fonte donde provieram estava submetida a medidas sanitárias adequadas; b) seguir as medidas higiênicas comuns na profilaxia de qualquer infecção contagiosa, figurando em pri-

meiro plano a higiene individual e da residência, bem como o combate aos insetos (môscas, etc.).

Estendem-se as sugestões de *SIGNORELLI*, para impedir a disseminação da doença entre os indivíduos, do seguinte modo: 1) notificação obrigatória; 2) desinfecção das excreções dos doentes (urina, fezes, es-carro); 3) desinfecção das roupas de cama e objetos de uso pessoal do enfêrmo; 4) desinfecção das mãos, tôdas às vêzes que tiverem tido contacto com brucelosos; 5) pesquisa dos portadores. É claro que êstes recursos são mais eficazes, quando aplicados aos habitantes das cidades, porque, para os que residem no campo ou para os que, profissionalmente, estão sujeitos a contágio, não seriam suficientes para eliminar as possibilidades de infecção, sobretudo, quando os gêrmes fôssem veiculados por via aérea.

*HARRIS*, além das recomendações usuais sôbre a necessária pasteurização do leite e do creme, chama a atenção para os perigos a que se expõem os trabalhadores em frigoríficos e matadouros, os tripeiros, açougueiros, fazendeiros, ordenhadores, granjeiros, veterinários e criadores de cavalos, de bovinos, de carneiros, de cabras e de porcos. Como se vê, sômente a erradicação da doença nos animais possibilitaria uma profilaxia adequada da brucelose humana. Restaria como outro recurso, a vacinação das pessoas que, trabalhando, fôssem obrigadas a entrar em contacto com os gêrmes, inclusive os laboratoristas; entretanto, os resultados, até o momento, são precários e a própria vacina B-19 além de não conferir essa proteção, é capaz, por si só, de produzir a doença, conforme foi visto na Epidemiologia, pois se trata duma vacina preparada com germes vivos, apenas atenuados.

*LEHR*, segundo *HARRIS*, aconselha, como medida protetora, o uso de luvas de borracha por parte dos profissionais, além de orientar sôbre o modo de tratar os animais e as suas carcassas.

*MAZZETTI & TESI* também fazem boa apreciação a respeito da profilaxia da brucelose humana. A questão do leite é abordada, bem como os perigos que encerram as práticas veterinárias e o trabalho comum em fazendas, quando se lida com animais doentes. Os produtos uterinos e fetais, em casos de abôrto bruceloso, são extremamente contagiosos para o homem. Ressaltam o fato de que os materiais contaminados, dispersos pelo ambiente, podem infectar os outros animais domésticos (cães, gatos, porcos, aves) que, por sua vez, tornam-se fontes de contágio. Assim sendo, sugerem as seguintes medidas profiláticas: a) propagar entre as pessoas, afeiçoadas a animais, que êstes podem representar fontes de infecção; aos veterinários, recomendar o uso de luvas de borracha, para impedir a penetração do germe através da pele; b) aconselhar normas rigorosas quanto à desinfecção dos locais habitados por animais doentes; os produtos do abôrto devem ser destruídos, por meio de desinfetantes, ou enterrados profundamente, não esquecendo que as brucelas podem conservar-se vivas e dessecadas no ambiente, por muito tempo, dando origem a infecções pelos aerossóis (pelas vias cutânea, mucosa e respiratória); c) providenciar a desinfecção das excreções, urinas e fezes, dos animais enfermos, tendo em vista que as mesmas podem veicular brucelas e determinar infecções a longa distância como no caso.

do estêrco que é empregado para adubação de vinhedos, hortas, etc., ficando os produtos vegetais contaminados.

Quanto à possibilidade de contágio direto do indivíduo doente para o sadio, MAZZETTI & TESI assinalam como importantes na profilaxia, os seguintes pontos: fazer diagnóstico rápido e preciso, notificação obrigatória, inquérito epidemiológico para apurar a origem da infecção e dispensar ao enfêrmo idênticos cuidados aos exigidos para as outras doenças infecto-contagiosas. A vacinação humana ainda é considerada pouco eficiente, no dizer dos autores.

Numa excelente revisão sôbre as medidas profiláticas aplicáveis à brucelose, VERGE, distingue os mesmos pontos já citados, inclusive os recursos a aplicar na prevenção da doença humana, como a pasteurização do leite e a proteção dos empregados em fazendas, frigoríficos, etc. Manifesta-se menos pessimista do que a maioria dos autores quanto à eficiência da vacinação mas, por sua vez, revela a extrema dificuldade quanto à educação da mentalidade humana no sentido do aproveitamento das regras profiláticas necessárias. No caso da França, a situação é bem semelhante à que ocorre em nosso meio: "Como impor a limpeza a pessoas que ignoram completamente os cuidados indispensáveis a êste respeito, como lavagens de mãos e ensaboamentos necessários, desinfecções obrigatórias? Compreende-se perfeitamente, assim, que esta ignorância e esta carência de interessados se exprimam hoje na temível extensão da brucelose humana no Sul da França". VERGE, citando TREMOLIÈRES, num trecho que bem poderia aplicar-se ao Brasil, afirma que o doente, quando acometido de febre alta, fica muito satisfeito com o diagnóstico de brucelose, preferindo-o ao de malária; sente-se reconfortado, volta aos afazeres diários sem preocupar-se com o seu tratamento e, muito menos, sem pensar na proteção dos circunstantes; parece considerar a brucelose como um inconveniente desprezível, que dispensa qualquer atenção.

LEDESMA & Cols. apresentaram ao Congresso de Brucelose em Montevideu, em 1947, um trabalho sôbre a profilaxia da brucelose humana, ressaltando o aspecto profissional da doença, cujo risco está em função do maior ou menor contacto com o animal infectado. Como pontos básicos na campanha profilática admitem: a) eliminação da brucelose animal; b) intensificação das medidas que protejam os trabalhadores em tôdas as atividades que representem risco de transmissão da doença, do animal para o homem; c) aumento da resistência ao germe buscando uma imunidade eficiente para o trabalhador que está sujeito a infectar-se devido à sua própria profissão; d) higienização do leite e de todos os produtos de origem animal; e) tornar extensivas à brucelose as campanhas de educação e propaganda sanitárias, para instrução dos trabalhadores e das populações sôbre os perigos citados, contribuindo para facilitar a aplicação de providências no sentido de diminuir a incidência.

Sintetizando as opiniões, podemos catalogar como elementos essenciais numa campanha de profilaxia da brucelose humana:

- 1) Eliminação da doença nos animais.
- 2) Pasteurização ou fervura do leite e cozimento de todo alimento de origem animal. Com isto serão eliminadas, praticamente, as possibilidades de infecção dos habitantes das cidades e dos moradores em fazendas, que não lidam diretamente com os animais ou seus produtos. O hábito bastante difundido de beber o leite cru, recentemente colhido, deve ser abandonado; da mesma forma, deve ser abolido o costume, também generalizado no interior, da ingestão de sangue cru, logo após o abate do animal, à guisa de fortificante.
- 3) Higienização e desinfecção permanentes dos estábulos e currais. Os materiais oriundos do abôrto animal devem ser incinerados ou enterrados de mistura com cal, profundamente.
- 4) Deve ser evitada a extração, por leigos, de placentas retidas pelas vacas (bôlsas d'água prêsas). Quando a presença do veterinário fôr impossível para resolver êsses casos, a retirada só deverá ser feita mediante cuidados de proteção e desinfecção, prévia e posterior, da pessoa que realizar a operação (luvas compridas, desinfetantes, etc.).
- 5) Os magarefes e trabalhadores em matadouros, frigoríficos e indústrias de laticínios deverão evitar o contacto direto com os animais e com os seus produtos, utilizando recursos para impedir a infecção (luvas, aventais de borracha, mesas especiais, etc.).
- 6) Principalmente, todos deverão estar sempre atentos à doença, notificando-se as autoridades sanitárias e veterinárias a respeito de surtos ou, mesmo, de casos isolados de perdas de crias, de esterilidade dos animais, etc.

*Vacinas* — As vacinas para uso humano, visando à prevenção da doença, têm sido muito investigadas, a princípio, nos países onde predominava a infecção pela *Br. melitensis*, sobretudo na França, devido à gravidade dêste tipo de brucelose. Últimamente, tais vacinas têm sido preparadas pelos cientistas dos laboratórios norte-americanos, com a finalidade de proteger os trabalhadores das indústrias de carne e, também, com o fim de obter um produto que seja eficaz na eventualidade de empregar-se brucela como agente de guerra bacteriológica.

Os trabalhos iniciais foram bem revistos por MAZZETI & TESI, HARRIS, LEÓN, SIGNORELLI e VERGE.

Em 1945, LISBONNE, segundo VERGE, chamou a atenção da Academia de Medicina de França, para o valor discutível das vacinações humanas contra *Br. melitensis*, porque no Centro de Pesquisas de Brucelose, em Montpellier, 12 pesquisadores, dentre o total de 14, contraíram a doença, apesar das vacinações repetidas. Contudo, o método de DUBOIS & SOLLIER, com uma vacina polivalente (*Br. melitensis*, *Br. abortus* e *Br. suis*), produziu bons resultados entre os trabalhadores de matadouros em Buenos Aires e La Plata, na República Argentina, segundo VERGE.

Recentemente, CARRÈRE & Cols., do Centro de Montpellier, referem suas experiências com uma vacina constituída pela associação duma anacultura, obtida a partir de amostras virulentas de *Br. melitensis*, com uma cultura não patogênica (B. 112). Experimentada em 10 indivíduos que tiveram, posteriormente, contacto diário com brucelas, durante 1 ano, no laboratório, ou com um rebanho infectado, deu bons resultados; nenhum dêles apresentou qualquer sinal clínico ou sorológico de brucelose. As amostras são usadas vivas, apenas atenuadas, devendo, por isto, tal tipo de vacinação ser considerado com reservas.

CARRÈRE & Cols. pensam não serem necessárias revacinações estimuladoras anualmente, porque, os indivíduos, em contacto com animais doentes ou manipulando materiais contaminados com brucelas, sofreriam inoculações acidentais paucibacterianas que manteriam e reforçariam o estado imunitário.

LEÓN, em 1953, depois de rever os trabalhos existentes sôbre a vacinação humana, atribui o insucesso, provavelmente, ao emprêgo de amostras rugosas. Assim, resolveu avaliar a capacidade de induzir imunidade (resistência eficaz) em animais de laboratório e no homem, contra a infecção por *Br. melitensis*, por meio duma suspensão microbiana desta espécie, em fase lisa, totalmente antigênica e morta por formol. Usou a *Br. melitensis* porque é a espécie que predomina, quase exclusivamente, na infecção humana, no México; a escolha do formol, para matar os germes, é resultante dos trabalhos preliminares de LEÓN que observou a conservação integral das propriedades antigênicas das brucelas, quando mortas por êste processo.

As reações imunológicas específicas para *Br. melitensis*, praticadas para julgar do estado imunitário das pessoas em estudo, foram as seguintes: intradérmica, sôro-aglutinação, fixação de complemento e índice opsonocitofágico. O autor conclui que a injeção de doses repetidas (3 a 4) de brucelas mortas pelo formol, aplicadas por via intradérmica, subcutânea ou por ambas essas vias, induzem ao aparecimento de anticorpos que alcançam as características quantitativas que distinguem o estado de imunidade. Esta conclusão pareceu confirmar-se quando os animais de experiência, depois de vacinados resistiram a várias doses mortais de brucelas vivas. LEÓN recomenda a imunização artificial experimental com *Br. melitensis*, morta pelo formol na profilaxia da brucelose humana, em populações muito afetadas pela enfermidade.

MAZZETTI & TESI ponderam, muito razoavelmente, a respeito da vacinação humana, dizendo que as vacinas mortas, preparadas com amostras lisas virulentas de brucelas, são muito tóxicas e podem dar reações locais e gerais indesejáveis; além disto, é possível que sejam, na realidade, de pouca eficácia, à semelhança do que ocorre entre os animais, em que se revelaram completamente ineficientes, pelo menos as vacinas clássicas. Seria interessante o emprêgo de vacinas preparadas com germes de virulência reduzida, que determinassem infecções brandas mas, neste caso, restaria isolar-se tal agente, visto como a B-19, por exemplo, é capaz de produzir infecção.

É claro que a vacinação humana deveria restringir-se, pelo menos atualmente, às pessoas sujeitas a contactos freqüentes com animais en-

fermos ou com materiais contaminados. Para as populações em geral, mesmo aquelas expostas à infecção (de fazendas, etc.), é prematuro aconselhar tal medida, diante da eficácia duvidosa das vacinas obtidas até o momento.

---

#### BIBLIOGRAFIA

- CARRÈRE, L. & COLS.  
1953. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 103.
- HARRIS, H. J.  
1950. Brucellosis (Undulant fever), 2nd ed., rev. New York: 671 págs.
- LEDESMA, C. A. & COLS.  
1947. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 417-423.
- LEÓN, A. P.  
1953. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop., 13(2):81-100.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Ann. San. Publ., 10(5):1195-1325.
- SIGNORELLI, S.  
1949. L'infezione brucellare nell'uomo, 2.ª ed. Napoli: 437 págs.
- VERGE, J.  
1950. Rev. Path. Comp., 50(616):157-162; (617):237-249; (618):331-333.
-

## CAPÍTULO XIII

---

### Brucelose animal

Problema econômico e sanitário dos mais importantes, a brucelose animal tem merecido a atenção dos interessados, dos estudiosos do assunto e, também, das autoridades governamentais de todos os países.

Sob o ponto de vista sanitário, ela constitui, dentre as doenças infecciosas animais transmissíveis ao homem, a mais grave. Isto, não só pelo grande número de espécies domésticas que acomete, aumentando a probabilidade do contágio ao homem, como, também, pelo fato de estar disseminada em todos os continentes aparecendo, em muitas regiões, sob a forma de surtos epizooticos ou permanecendo latente, de modo enzoótico.

Econômicamente, sua gravidade é evidenciável pela simples observação dos totais dos rebanhos bovino, suíno e caprino no mundo; estes valores acham-se reduzidos, em consequência das ações diretas ou indiretas das brucelas sobre os animais. Entretanto, não é só essa diminuição dos rebanhos o que importa; nos bovinos, a queda da produção leiteira, causando grande prejuízo e, nos suínos, o desenvolvimento insuficiente e tardio, são outros fatores responsáveis pelas vultosas perdas econômicas que atingem as pessoas que vivem da exploração e da criação dessas espécies animais.

Não é nosso objetivo estender o capítulo referente à brucelose animal porque o assunto tem sido abordado em diversos trabalhos, inclusive no Brasil. A bibliografia e a experiência acumuladas possibilitariam a feitura duma monografia especial sobre o tema. Portanto, procuraremos em uma exposição generalizada, porém sucinta, focalizar alguns aspectos de maior relevância; nos capítulos precedentes podem ser encontradas referências detalhadas sobre outros pontos.

A parte relativa à profilaxia contudo, sendo essencial para a eliminação da doença tanto no homem quanto nos animais, será mais desenvolvida.

---

#### A — ESPÉCIES ATINGIDAS

A brucelose não seleciona espécie animal para instalar-se. Todos os animais domésticos conhecidos podem ser infectados, natural ou experimentalmente, embora os mais atingidos e, justamente os de maior interesse econômico, sejam os bovinos, os suínos e os caprinos.

A brucelose bovina, quase sempre causada pela *Br. abortus*, existe praticamente em todos os países. Podem surgir, porém, casos de infec-

ção bovina determinados por *Br. suis* e *Br. melitensis*, nas respectivas zonas de predominância destas espécies.

A brucelose porcina foi primeiramente observada por HUTYRA, na Hungria, em 1909, tendo sido o germe estudado, depois, por TRAUM, nos Estados Unidos. Produzida comumente pela *Br. suis*, pode surgir tendo como agente causal a *Br. melitensis* ou a *Br. abortus*.

A brucelose caprina, provocada pela *Br. melitensis*, não causa grande devastação nos rebanhos caprinos e ovinos, mas, sob o ponto de vista sanitário, é a mais importante porque, transmitindo-se ao homem, determina infecção quase sempre grave. Aparece também nos caprinos, embora raramente, a infecção produzida por *Br. abortus* e *Br. suis*.

Para uma apreciação geral a respeito das espécies atingidas, são aconselháveis as obras clássicas de KOLLE & WASSERMANN, HUTYRA & MARKER e FRÖHNER & ZWICK; trabalhos mais recentes e que examinam diversos aspectos da infecção nas diferentes espécies, são os de BERTHELON, MORÁN, D'APICE e outros. As publicações do "Office International des Épidémiologies", da WHO/FAO e dos Congressos ou Reuniões de Brucelose, atualizam os dados mundiais. Em geral essas publicações focalizam mais a incidência nas espécies de maior interesse econômico (bovinos, suínos e caprinos).

*Bovinos* — A observação da brucelose bovina tem sido generalizada. Deixaremos para o tópico relativo à distribuição geográfica, alguns comentários sobre o assunto.

*Suínos* — Apesar da frequência da brucelose porcina ser elevada, a sua incidência é menor porque a distribuição dessa espécie doméstica, sob o ponto de vista pecuário, é mais restrita comparada com a bovina. A brucelose suína é, em certas regiões, bastante comum porque depende da predominância desses animais no local.

*Caprinos* — Também a infecção caprina está limitada aos países em que existem grandes concentrações desses animais, principalmente os da orla mediterrânea, além do México, Estados Unidos e Argentina.

*Ovinos* — São suscetíveis, porém mais resistentes do que as outras espécies citadas e a doença tende a limitar-se espontaneamente.

*Equinos* — Podem apresentar-se com infecção generalizada ou, o que é mais frequente, localizada nos tecidos conectivos, nos tendões, articulações, etc., determinando o mal de garrote e o mal de nuca, às vezes, em associações com actinomicetos.

*Caninos* — São muito sensíveis à doença os cães que vivem em contacto com animais infectados. Os trabalhos de VERGE e de MORSE e seus colaboradores expõem o assunto revendo as pesquisas já realizadas. Os cães podem infectar-se, natural ou experimentalmente, pelas três espécies de brucelas, quer pela ingestão de leite contaminado, quer pela alimentação com placentas, sangue e produtos de aborto de vacas doentes, conforme verificaram MORSE e colaboradores. Segundo MORSE, não parece que o cão desempenhe papel de pouca importância na epidemiologia da brucelose, contrariando as opiniões de VERGE e JÖRGENSEN, como veremos adiante.

*Felinos* — A brucelose nos gatos foi também examinada por JÖRGENSEN e VERGE, entre outros. O primeiro desses autores, baseado em suas experiências, acha que o gato não é muito fácil de infectar-se com *Br. abortus* e de transmitir a infecção, quando ingere leite contaminado e material de abortos. Inoculações por via parenteral dão lugar ao aparecimento de sôro-aglutinações positivas; entretanto, não surgem sintomas clínicos de brucelose nem lesões orgânicas; além disto, não foram conseguidas culturas de *Br. abortus* dos órgãos. A opinião de VERGE é diferente: a brucelose felina seria igual à canina, com a mesma receptividade pelos animais, tendência à infecção inaparente e espontânea, idêntica dificuldade para a realização experimental do processo infeccioso, mesma eletividade das três brucelas pelos órgãos genitais e igualdade das reações sorológicas.

PALLASKE, citado por VERGE, diz que o cão e o gato são capazes de concorrer para a difusão das bruceloses humana e animal, convindo acentuar que a sua influência deve ser bem restrita e não constituiria, no estado atual dos conhecimentos, perigo muito grande, quer se apresente o animal clinicamente infectado, quer seja apenas um portador de brucelas.

*Aves* — Têm sido vistas infectadas, naturalmente, por vários pesquisadores, em diferentes países. Embora a maioria dos autores declarem ser a sintomatologia inaparente e os títulos aglutinantes raros e baixos, além da ausência de lesões, FELSENFELD, revendo as doenças de aves, transmissíveis ao homem, coloca a brucelose entre as mais importantes e, em colaboração com diversos pesquisadores, faz ensaios de infecção experimental declarando: “Deve-se ter em mente a possibilidade de infecção humana causada pela ingestão de carne de galinhas infectadas com brucelas. Os poucos sinais patológicos tornam difícil, ou mesmo impossível, identificar tôdas as galinhas infectadas, durante a inspeção veterinária”.

No trabalho sôbre a brucelose aviária de TAVONI & FACCINCANI, citam-se as principais verificações a respeito e revela-se a sensibilidade de certas raças de galinhas à infecção experimental.

*Roedores* — Várias espécies de roedores, domésticos e silvestres têm sido encontrados naturalmente infectados.

JACOTOT & VALLÉE descreveram casos em lebres.

Rossi, na Argentina, relata detalhadamente a observação dum surto de brucelose numa criação de 2.000 cobaias, sendo isolada *Br. suis*; a amostra possuía notável tropismo para o aparelho ocular, onde causava uma dacrioadenite e conseqüente exoftalmia que evoluía até necrose total do globo ocular. Fêz também uma boa revisão da literatura, sôbre a brucelose em roedores, que se encontra enriquecida com diversas observações de infecções espontâneas em coelhos, ratos, cobaias, camundongos, lebres.

Recentemente, PACHECO & THIAGO DE MELLO conseguiram infecções experimentais em “hamsters” e FLOYD & HOOGSTRAAL observaram a doen-

ça natural e artificial em "gerbils", pequenos roedores existentes nos desertos da Síria e em outros países do Oriente Próximo.

Noutros animais a brucelose também tem sido observada.

## B — ETIOLOGIA

A etiologia da brucelose nos animais é idêntica à descrita para o caso do homem, não sendo necessárias minuciosas referências, a não ser para citar a predileção especial que tem a *Br. abortus* para infectar os bovinos, a *Br. suis* os suínos e a *Br. melitensis* os caprinos, embora, como já foi dito várias vezes, as espécies de brucela possam infectar qualquer animal, natural ou experimentalmente.

## C — DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A distribuição geográfica da brucelose animal é tão ampla que não comportaria o seu exame num simples tópico dum capítulo desta Monografia; por êste motivo, limitar-nos-emos a completar e atualizar o quadro da distribuição no Brasil, organizado por um de nós (M. T. M.), em 1950, para o 3.º Congresso Interamericano de Brucelose, realizado em Washington. Nêle os trabalhos nacionais foram revisados, levando-se em conta, apenas, os títulos de sôro-aglutinação a 1:100 ou mais. Alguns dados podem ser vistos num trabalho de divulgação, de OSMANE HI-RÓLITO. Para o Rio Grande do Sul, informação detalhadas podem ser encontradas nas publicações da Diretoria da Produção Animal do Estado. Não relacionamos os trabalhos com base em provas de anel, embora alguns dêles sejam muito importantes, pelas amplas regiões em que foram feitos, como os realizados em São Paulo (RIOS & COLS.) e no estado do Rio de Janeiro (COSTA; THIAGO DE MELLO). As referências bibliográficas sôbre os autores citados constam da bibliografia geral da brucelose no Brasil (Capítulo XIV).

### Brucelose bovina no Brasil

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infectados	%	
São Paulo.....	Teibaci.....	1919-1922	1 464	234	18,5	Clínica e exame microscópico Aglutinação, clínica, cultura Aglutinação
	Neiva e Mello.....	1928-1930	176	—	10,28	
	Carneiro.....	1933	428	41	9,5	
	Neiva.....	1934	414	28	6,7	Clínica, cultura, aglutinação Aglutinação 1/25-1/800 Aglutinação 1/10, rebanhos indenes Aglutinação
	Mello.....	1935	1	1	—	
	Mello e Rogick.....	1938	600	—	70,0	
	Mello e Rogick.....	1939	542	0	0	
	Rogick.....	1934	—	—	32,3	
	».....	1935	—	—	10,7	
	».....	1936	—	—	6,3	
	».....	1937	—	—	22,7	
	».....	1938	—	—	10,2	

*Brucelose bovina no Brasil*

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infec-tados	%	
Minas Gerais.....	Rogick .....	1939	—	—	3,5	>
	> .....	1937	—	—	19,4	> gado leiteiro
	> .....	1938	—	—	10,5	> >
	> .....	1939	—	—	3,2	> > >
	> .....	1940	—	—	1,23	> > >
	> .....	1941	—	—	0,62	> > >
	> .....	1942	—	—	3,04	> > >
	> .....	1940	—	—	3,95	>
	> .....	1941	—	—	1,99	>
	> .....	1942	—	—	2,55	>
	D'Apice e Penha.....	1945	3 169	633	19,9	>
	D'Apice e Penha.....	1945	1 112	19	1,7	Clínica, vacinados quando bezerros
	Cunha & Bifone.....	1943	100	4	4,0	Aglutinação, frigorífico
	Cunha & Bifone.....	1945	100	2	2,0	>
	Cunha & Bifone.....	1946	200	4	2,0	>
	Lamounier & Pereira.....	1946	522	3	0,57	>
	Rocha.....	1948	2 500	278	11,1	>
	D.D.S.A. — M. Agric.*	1942-1947	1 196	98	8,1	>
	D.D.S.A. — M. Agric.*	1949	828	37	4,4	>
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	6 028	482	7,9	>
	Minas Gerais.....	Neves e Pêres.....	1940	1	1	—
Neves e Peres.....		1940	60	—	45,00	Aglutinação
Neves & Cols.....		1940	528	68	12,87	>
Neves & Cols.....		1940	212	—	27,83	>
Hipólito & Cols.....		1941-1943	2 065	174	8,4	>
Pêres & Neves.....		1941	515	86	13,73	>
Menezes.....		1943-1949	15 980	1 177	7,3	>
> .....		1934	215	6	2,7	>
> .....		1944	235	7	2,9	>
> .....		1945	263	52	19,7	>
> .....		1948	156	63	40,37	>
> .....		1949	216	46	21,2	>
Macedo.....		1949	—	—	39,0	>
D.D.S.A.*		1942-1944	245	1	0,4	>
> .....		1944	57	40	70,1	>
> .....	1949	964	48	4,9	>	
> .....	1949	109	2,3	2,3	>	
Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	6 883	294	4,2	>	
Distrito Federal...	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	1 099	38	3,4	>
Rio Grande do Sul	Finamor & Corrêa.....	1937-1940	1 125	333	29,6	Aglutinação
	> > > .....	1941	804	27	3,02	> gado selecionado
	> > > .....	1942	1 423	40	2,8	> gado selecionado
	> > > .....	1942	457	113	24,72	> gado leiteiro
	> > > .....	1941	—	—	39,56	> clínica
	Silva.....	1941	546	182	33,33	> gado de campo
	> .....	1941	371	102	27,49	>
	> .....	1942	745	166	22,3	>
	> .....	1942	3 400	—	21,79	> gado de campo
	Corrêa & Finamor.....	1943	3 427	169	4,98	Lacto-aglutinação; gado leiteiro
	> > > .....	1943	162	17	10,49	Aglutinação; reprodutores
	> > > .....	1944	6 030	272	4,51	> gado leiteiro
	> > > .....	1944	508	29	5,0	> reprodutores
	> > > .....	1945	570	66	11,5	> gado leiteiro
	> > > .....	1945	3 676	145	3,9	> gado comum
	Corrêa.....	1946	7 488	462	5,7	> reprodutores
	> .....	1947	5 258	322	5,87	>
	> .....	1948	3 974	212	5,33	>
	Peixoto (Dir. Prod. Animal)..	1941	1 900	105	5,5	>
	> > > > .....	1942	3 316	172	5,1	>
	> > > > .....	1943	3 427	160	4,9	>
	> > > > .....	1944	6 030	272	4,5	>
	> > > > .....	1945	2 631	135	5,1	>
	> > > > .....	1946	7 488	432	5,4	>
	> > > > .....	1947	5 258	322	6,1	>
	> > > > .....	1948	3 974	212	5,3	>
	> > > > .....	1949	9 551	1 195	12,5	>
	> > > > .....	1950	11 810	1 333	11,2	>
> > > > .....	1951	17 907	2 290	12,8	>	
Dir. Prod. Animal.....	1952	18 472	1 749	9,4	>	

## Brucelose bovina no Brasil

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infec-tados	%	
Rio de Janeiro...	Dir. Prod. Animal.....	1953	29 611	2 943	9,93	Aglutinação
	» » ».....	1954	23 783	1 508	6,3	»
	Com. Nac. Brucelose.....	1953	25 879	—	8,4	»
	Torres.....	1930	51	8	15,7	Aglutinação; clínica
	Torres.....	1930	14	8	57,1	»
	Mosci.....	1944	522	10	1,9	» frigorífico
	Grey.....	1946	—	—	5,0	»
	D.D.S.A.*.....	1946-1949	7 903	312	3,4	»
	».....	1949	21	13	61,9	» Clínica
	».....	1949	90	8	8,8	»
Com. Nac. Brucelose.....	1953	4 892	310	6,4	»	
Ceará.....	Causey & Causey.....	1940	33	1	3,0	»
	D.D.S.A.*.....	1949	628	—	5,57	» clínica
	Com. Nac. Brucelose.....	1953	166	2	1,2	»
Santa Catarina...	Souza.....	1941	87	25	28,62	Aglutinação, clínica
	D.D.S.A.*.....	1946	44	9	20,45	» gado leiteiro
	».....	1946	131	1	0,7	»
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	84	10	11,9	»
Paraná.....	Palmquist.....	1947-1949	647	11	3,4	Aglutinação; vacas de granjas
	».....	1947-1949	856	126	20,9	» vacas de campo
	».....	1947-1949	733	29	8,59	»
	Schlogel.....	1952	—	—	20,0	» matadouro
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	927	89	9,6	»
Alagoas.....	Menezes.....	1944-1946	12	12	100,0	Aglutinação, cultura, gado leiteiro
	Costa.....	1946	180	—	33,88	» , frigorífico
	Barros.....	1952	—	15	—	» , clínica
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	356	13	3,6	»
Bahia.....	Valo & Cols.....	1946	700	—	3,0	Aglutinação
	Alice.....	1944-1947	886	114	12,84	» , gado leiteiro
	Alice.....	1944-1947	348	6	1,72	» , novilhas
	Alice.....	1944-1947	206	4	1,94	» , gado selecionado
Espírito Santo.....	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	739	33	4,4	»
Maranhão.....	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	535	9	1,6	»
Pará.....	Causey & Azevedo.....	1944-1946	501	142	28,3	Aglutinação, gado leiteiro
	Causey & Azevedo.....	1944-1946	70	7	10,0	» , frigorífico
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	2 657	502	18,8	»
Mato Grosso.....	Xavier.....	1947	—	—	—	Clínica, epizootia, aglutinação
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	800	62	7,7	Aglutinação
Goiás.....	D.D.S.A.*.....	1943	93	1	—	Aglutinação
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	151	9	3,3	»
Rio G. do Norte..	Fricks de Andrade (D.D.S.A.)	1955	794	45	5,6	»
Paraíba.....	Regis (D.D.S.A.).....	1952	302	38	12,5	»
	Regis (D.D.S.A.).....	1953	1 470	102	6,9	»
	Regis (D.D.S.A.).....	1954	1 021	7	0,6	»
Sergipe.....	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	367	1	0,2	Aglutinação
Pernambuco.....	D.D.S.A.*.....	1949	434	49	11,2	Aglutinação
	».....	1949	196	36	13,2	»
	».....	1949	138	1	—	» novilhas
	».....	1949	100	12	12,0	»
	Melo Amorim (D.D.S.A.).....	1952-1953	774	110	14,2	»
	Renato Moraes (D.D.S.A.)....	1953	2 098	235	11,2	»
	Renato Moraes (D.D.S.A.)....	1954	268	10	2,6	»
	Renato Moraes (D.D.S.A.)....	1955	871	32	2,7	»

\*D.D.S.A.: Divisão de Defesa Sanitária Animal, Ministério da Agricultura, Brasil.

*Brucelose suína no Brasil*

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infectados	%	
São Paulo.....	Neiva.....	1934	644	284	44,1	Aglutinação: frigorífico
	Pecego & Cols.....	1936	1 625	761	46,83	> , cultura, frigorífico
	Mosci.....	1944	181	33	18,23	> , frigorífico
	Cunha & Bifone.....	1943	100	20	20,0	> >
	Cunha & Bifone.....	1945	100	20	20,0	> >
	Cunha & Bifone.....	1946	200	67	35,5	> >
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	8 718	2 038	23,2	>
Minas Gerais.....	Neves & Péres.....	1940	75	22	29,3	Aglutinação
	Neves & Cols.....	1940	89	17	19,1	>
	Hipólito & Cols.....	1943	22	1	4,5	>
	Hipólito & Cols.....	1945	80	—	47,5	>
	Hipólito & Cols.....	1951	55	—	1,8	>
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	510	20	3,9	>
Rio de Janeiro....	Cunha & Bifone.....	1942	270	—	24,2	Aglutinação, frigorífico
	Mosci.....	1944	309	37	11,97	> >
	Valle.....	1949	300	6	2,0	> >
Paraná.....	Palmquist.....	1947-1949	255	26	18,43	> , matadouro
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	7 214	1 970	27,3	>
Santa Catarina....	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	3 249	290	8,9	>
Rio Grande do Sul	Silva.....	1945	91	33	40,0	>
	>.....	1947	46	3	6,5	>
	>.....	1947	70	25	37,7	>
	Dir. Prod. Animal.....	1953	2 836	769	27,4	>
	> > >.....	1954	2 689	353	13,1	>
	Valle (Com. Nac. Brucelose)..	1953	2 735	100	3,6	>
Bahia.....	Alice.....	1944-1947	116	36	31,03	Aglutinação, frigorífico
Alagoas.....	Costa.....	1946	120	—	31,66	Aglutinação, frigorífico

*Brucelose caprina no Brasil*

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infectados	%	
São Paulo.....	Carneiro.....	1933	42	1	2,4	Aglutinação
	Artigas.....	1933	150	4	2,6	> , animais leiteiros
	Neiva.....	1934	216	4	1,8	>
Rio Grande do Sul	Wederhake.....	1934	2	2	—	Cultura, animais leiteiros
Ceará.....	Causey & Causey.....	1940	19	2	—	Aglutinação
Minas Gerais.....	Neves & Péres.....	1940	2	2	—	Fixação de complemento, clínica
	França & Cols.....	1952	218	1	0,3	Aglutinação
Rio de Janeiro....	Horta.....	1942	Ign.	—	—	Aglutinação
Minas Gerais.....	Hipólito & Cols.....	1943	71	0	0	Aglutinação
Rio de Janeiro....	Mosci.....	1944	396	8	2,02	Aglutinação, frigorífico
Minas Gerais.....	D.D.S.A.*.....	1949	43	0	0	Aglutinação
Paraná.....	Palmquist.....	1947-1949	27	0	0	Aglutinação, matadouro

\*D.D.S.A.: Divisão de Defesa Sanitária Animal, Ministério da Agricultura, Brasil.

*Brucelose equina no Brasil*

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infec-tados	%	
Minas Gerais.....	Hipólito & Cols.....	1941-1943	253	17	6,7	Aglutinação
Rio de Janeiro....	Pacheco.....	1945	25	15		>
Rio de Janeiro...	Russo.....	1945	85	25	29,4	>
Bahia.....	Alice.....	1944-1947	25	5	20,0	> , mal de garrote
Rio Grande do Sul	Saliés.....	1949	4	4		>

*Brucelose ovina no Brasil*

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infec-tados	%	
São Paulo.....	Neiva..... Mosci.....	1934	208	1	0,4	Aglutinação: frigorífico > >
		1944	185	2	1,08	
Rio Grande do Sul	Corrêa & Muller.....	1949-1950	90	2	2,2	>

*Brucelose canina no Brasil*

Estado	Autores	Anos	Animais examinados			Observações
			Total	Infec-tados	%	
Rio Grande do Sul	Silva	1942	4	3		Aglutinação, cultura
Bahia.....	Alice.....	1948	15	0	0	Aglutinação

A incidência da brucelose, no caso do continente americano, tem sido divulgada em diversos Congressos e Reuniões e, para os outros países do mundo, nas publicações do "Office International des Épizooties", onde os interessados poderão encontrar dados precisos.

Pode resumir-se a situação da brucelose no Brasil dizendo que os trabalhos até agora realizados permitem avaliar a proporção de animais infectados pelas brucelas, em 10% a 20% para os bovinos e em 30% a 40% para os suínos.

Quanto à brucelose caprina, até o momento não foi assinalada no Brasil, pelo menos a causada por *Br. melitensis* ou com os mesmos característicos com que é observada nas zonas em que prevalece. Isto não quer dizer que possamos ficar despreocupados a seu respeito; é necessário admitir a possibilidade do seu aparecimento e impedir a importação de caprinos dos países mediterrâneos, dos Estados Unidos, do

México e da Argentina. Somente em casos excepcionais deverão esses animais ser importados, assim mesmo, acompanhados de certificado de que não possuem brucelose, sendo posteriormente submetidos a quarentena de seis meses ou mais e a exames obrigatórios, em nosso País, até que se confirme a ausência da infecção. Além dessas precauções, devem ser feitos exames periódicos nas cabras das regiões onde há predominância desses animais, para surpreender uma possível introdução da moléstia. É o que temos sugerido às autoridades responsáveis pela defesa sanitária dos rebanhos brasileiros, em várias oportunidades, inclusive quando se reuniu a Comissão Nacional de Brucelose, do Ministério da Agricultura, de que fizemos parte. Com esses cuidados, evitaremos a entrada e a disseminação desse tipo de brucelose no País, hipótese esta que, se verificada, redundaria na multiplicação dos casos humanos, então sob forma grave, exatamente à semelhança do que já aconteceu no México, na Argentina e nos Estados Unidos.

---

#### D — EPIDEMIOLOGIA

Os animais se infectam pela ingestão de alimentos contendo brucelas. A contaminação produzida por aerossóis, embora bem demonstrada experimentalmente, não costuma ser levada em conta, com evidente prejuízo para a profilaxia.

Entre os bovinos, as maiores fontes de bactérias são os materiais provenientes do aborto: fetos, líquidos anexiais e placentas; mesmo os produtos de partos aparentemente normais, de vacas infectadas, são muito ricos em brucelas. Os germes, misturados com a pastagem ou com os alimentos em mangedouras, penetram no tubo digestivo dos animais, por ingestão, e produzem a doença. Nos porcos e cabras, a infecção segue, em linhas gerais, esse mesmo mecanismo de transmissão.

Outros aspectos da epidemiologia são idênticos aos que vimos para a brucelose no homem, excluídos, naturalmente, os detalhes peculiares à espécie humana.

---

#### E — IMPORTÂNCIA ECONÔMICA \*

No capítulo respectivo desta Monografia, assinalamos a grande importância econômica da brucelose.

É bastante que recordemos que a infecção determina, nas vacas, avultado número de abortos, bem como a inviabilidade de parte dos produtos que chegam a nascer. Em todas as espécies atingidas, verificam-se acentuada perda de peso e grande diminuição da produção leiteira.

Este prejuízo financeiro elevado, estejamos certos disso, concorrerá para que sejam tomadas medidas eficazes no combate à doença, mais

---

\* Parte do tópico sobre "Importância econômica" foi publicada em *Brasil-Médico*, 1950, 63(1-4):1-20, por Milton Thiago de Mello.

do que a própria incidência no homem, pois, infelizmente, os interesses econômicos sobrepujam, quase sempre, os sanitários e sociais.

Já vimos que, nos Estados Unidos, a Comissão de Aspectos Sanitários da Brucelose, no "National Research Council" estima que a brucelose seja responsável por uma perda anual de cerca de 100 milhões de dólares para a indústria animal. (SPINK & Cols.). É por este motivo que a luta contra a doença animal, nesse País, ocupa milhares de funcionários federais, estaduais e particulares, e consome anualmente, importância superior a 30 milhões de dólares.

Lembremos, ainda, que BRESSOU, em reunião da Academia de Medicina da França, em 1947, assinalou que os abortos epizooticos atingem 15% a 16% do efetivo leiteiro francês e determinam perda anual calculada em mais de 5 milhões de hectolitros de leite. O rendimento, em leite, baixou de 1.800 litros, por vaca, em 1936, para 1.400, em 1946; ao mesmo tempo, o número de vacas leiteiras caiu de 9 milhões, em 1936, para 7 milhões e meio, em 1946. O total da produção diminuiu de 133 milhões de hectolitros, em 1938, para 90 milhões, em 1946.

Por sua vez, MINGLE, do serviço de combate à brucelose bovina, nos Estados Unidos, demonstrou, em 1949, que as perdas em leite, ocasionadas pela brucelose, podem ser avaliadas na seguinte base: dos 26 milhões de vacas então existentes no País, 5% estavam infectadas e destas, calculava-se que a produção de leite estava diminuída em 20%, o que significava um decréscimo total da produção superior a 6 bilhões de libras, no valor de mais de 50 milhões de dólares, aos preços da época.

No Brasil, são poucos os cálculos feitos para demonstrar os prejuízos econômicos determinados pela brucelose animal, e já foram citados noutro capítulo.

Tomando por base os dados estatísticos sobre produtos de origem animal, fornecidos pelo Serviço de Estatística da Produção, do Ministério da Agricultura, e pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, um de nós (M.T.M.) organizou, em 1950 e 1951, algumas tabelas que, associadas aos dados existentes nos trabalhos relativamente escassos sobre brucelose animal no Brasil, permitem que se tenha um conhecimento geral das proporções das perdas causadas à economia nacional pela zoonose.

*Diminuição do rebanho* — Em primeiro lugar, observemos o rebanho nacional. Na estimativa de 1952, fornecida pelo Ministério da Agricultura, são os seguintes, os totais das principais espécies domésticas, aproximadamente, no rebanho brasileiro:

Bovinos .....	56.000.000
Eqüinos .....	7.100.000
Asininos e muares .....	4.500.000
Suínos .....	31.000.000
Ovinos .....	16.300.000
Caprinos .....	9.000.000

Consideremos como animais afetados pela brucelose, apenas, os bovinos e suínos, em nosso meio, porquanto a brucelose dos solípedes, em-

bora já tenha sido evidenciada no País, não representa grave problema econômico e a infecção caprino-ovina tem sido observada apenas esporadicamente, ainda sem nenhuma significação econômica ou epidemiológica.

Quanto aos bovinos pôde ser feita uma estimativa bem aproximada das perdas que a brucelose determina, porque os estudos a êste respeito são bem adiantados.

É sabido que a brucelose, ao aparecer num rebanho, alastra-se rapidamente a todos os animais e as fêmeas grávidas abortam em grande número (fase de difusão); depois, observa-se um período (dito de estacionamento) em que o número de abortos diminui um pouco e, finalmente, passam a ser mais raros (fase de declínio). Em todos os casos, porém, as brucelas permanecem no organismo do animal, enfraquecendo-o, e eliminando-se pelo leite e pelos dejetos. Mais ainda, cêrca de 30% dos bezerros nascidos de fêmeas infectadas não conseguem desenvolver-se; em geral têm vida efêmera e precária.

Os seguintes dados são importantes: 50% das fêmeas infectadas no período pré-púbere ou em plena maturidade sexual, abortam na primeira prenhez; na segunda gestação, o número de abortos baixa para 25% e, na terceira, apenas 5% a 10% das fêmeas abortam, adquirindo, então, verdadeira resistência ao abôrto, embora continuem infectadas. Foi êste fato que levou o veterinário francês Moussu ao equívoco de declarar que a brucela é um gérme sem importância, para os bovinos.

Por ocasião da feitura do Plano SALTE, foram fornecidos pelo Ministério da Agricultura, à Comissão Elaboradora, os dados que apresentamos a seguir, relativos às perdas de crias de bovinos, evidentemente sem ter havido a preocupação de pôr em destaque o papel da brucelose, nas cifras apresentadas: Aproximadamente 50% do rebanho nacional, portanto cêrca de 23 milhões de bovinos, são fêmeas; destas, 65% estão em condições de procriar, ou sejam, mais ou menos 15 milhões. No entanto, apenas 65% dêsses 15 milhões conseguem procriar, ou seja, cêrca de 10 milhões; assim, 5 milhões de vacas são estéreis. É aí que devemos encarar a brucelose, como a responsável pela esterilidade ou abôrto de grande parte dêsse total, isto porque 10% a 30% das fêmeas infectadas são estéreis. Continua o informe da Comissão Elaboradora do Plano SALTE: os produtos morrem em proporção de 25% antes de chegarem à idade adulta. Ainda aí se observa a influência da brucelose, responsável que é pela inviabilidade de 30% dos bezerros que nascem de reprodutoras infectadas.

Os diversos trabalhos feitos no Brasil, em grande número de animais, no sentido de avaliar as proporções da incidência da brucelose, permitem-nos assegurar que 10% a 20% do rebanho bovino encontra-se infectado. Naturalmente, existem porcentagens maiores, como em Belém do Pará, onde 40% dos bovinos examinados estavam doentes. Nos estados do Rio de Janeiro e de São Paulo, cêrca de um terço dos rebanhos leiteiros estão infectados. O prejuízo anual, apenas para o Rio Grande do Sul, calculado em 1949, por NEVES DA SILVA, somente por perdas de crias, é avaliado em 40 milhões de cruzeiros; no estado do Rio de Janeiro, os danos andavam em tórno de 15 milhões de cruzeiros, em cálculos feitos por THIAGO DE MELLO, tomando por base os dados de 1949.

Relativamente aos suínos, não existem elementos precisos e abundantes que permitam avaliar o montante do prejuízo em perdas de crias. Em compensação, já está bem sabido que a incidência da infecção é muito maior do que a verificada entre os bovinos. Encontram-se infectados 30% a 40% dos porcos e isto traz, evidentemente, uma grande baixa no total de cabeças, pois, também nesta espécie animal, o abôrto não é raro e a esterilidade dos reprodutores de ambos os sexos é freqüente.

*Diminuição da produção* — Os prejuízos que a brucelose causa à economia nacional poderão ser mais bem avaliados se examinarmos, mesmo de modo superficial, o valor da produção brasileira, a qual, no decênio 1940-1949, mostrou uma ascensão progressiva, em quantidade e em valor, justamente dos produtos oriundos de espécies domésticas suscetíveis de serem atingidas pela brucelose. Os valores a seguir, colhidos em publicações oficiais, demonstram a importância econômica da produção brasileira de origem animal, e devem estar presentes, para efeito de comparação, ao cogitar-se dos aspectos econômicos da brucelose animal.

*Valor da produção brasileira de origem animal (sòmente dos estabelecimentos sob inspeção federal) e da produção de café, no decênio 1940-1949*  
Em Cr\$ 1.000,00

Produtos de origem animal	Anos									
	1940	1941	1942	1943	1944	1945	1946	1947	1948	1949
Dos matadouros em geral:										
Carnes.....	2 164 945	2 415 102	2 618 020	2 855 793	3 363 306	3 918 468	4 920 287	5 738 653	6 494 770	7 318 400
Couros e peles....	251 018	277 112	271 104	375 446	374 899	430 909	580 296	728 266	244 213	785 565
Banha, composto e toucinho.....	233 010	259 544	614 516	840 797	1 151 199	1 175 454	1 517 764	2 288 48	12 267 736	2 100 733
Salsicharia.....	—	—	—	—	—	—	—	390 825	373 696	509 851
Sêbo.....	61 298	80 461	139 526	135 744	200 747	156 570	248 499	290 099	393 271	303 557
Outros produtos..	157 680	187 643	244 437	256 282	332 285	464 190	635 556	490 446	425 065	457 450
Das fábricas de laticínios:										
Lacteínios.....	305 917	368 063	377 444	490 878	588 185	760 866	878 177	1 200 990	1 247 899	1 531 350
Total.....	3 173 871	3 587 927	4 365 050	4 954 942	6 010 622	6 906 459	8 730 582	11 127 763	11 946 654	13 006 909
Café.....	1 377 833	1 358 999	1 334 285	1 737 744	2 392 644	3 717 173	5 336 074	5 532 486	6 450 919	8 485 763

Relacionamos, com o mesmo objetivo, alguns dados sôbre a produção de café, no mesmo decênio, pois êste produto é geralmente aceito como o ponto de apoio da balança econômica do Brasil (Fig. 69). Já em 1952 o total da produção animal elevou-se a 2 milhões de toneladas, no valor de quase 22 bilhões de cruzeiros.

Pelos números acima vemos que o valor da produção de carne (bovina e suína) superou, quase sempre, o do café; se compararmos com o total da produção de origem animal, a diferença é impressionante. Car-

nes, lacticínios, gorduras e couros são produtos obtidos mediante pesado tributo pago à doença. Vejamos em que se baseia este ponto de vista.

*Produção de carnes* — Foi a seguinte a produção de carnes, em 1952, nos estabelecimentos sujeitos à Inspeção Federal:

Carnes de:	Toneladas:	Valor em Cr\$:
Bovinos .....	974.620	10.772.220.000
Suínos .....	132.959	1.876.170.000
Ovinos .....	22.301	171.170.000
Caprinos .....	12.896	110.773.000
Soma ....	1.142.776	12.930.333.000

Como pode ser visto, somente o valor da produção de carnes bovinas e suínas foi superior a 12 bilhões de cruzeiros. É um grande patrimônio a defender. Imagine-se qual não seria o montante dessa produção se o rebanho bovino não estivesse infectado na proporção de 10% a 20% e o suíno 30% a 40%. *O animal infectado tem seu rendimento em peso diminuído de mais de 15%.*

Só no estado do Rio Grande do Sul, temos estes números, bastante significativos, colhidos da publicação de NEVES DA SILVA: Anualmente são abatidos nesse Estado, cerca de 1.500.000 rezes, sendo 90.000 atacadas de brucelose (6%). Como a diminuição de peso nos animais doentes alcança a média de 15%, ou sejam, 60 quilos por cabeça, temos uma perda anual de 5.400.000 quilos de carne, ou cerca de 16 milhões de cruzeiros, ao preço da época (1949).

*Produção de gorduras* — Em 1952, a produção de gorduras, nos estabelecimentos sob Inspeção Federal, foi a seguinte:

Gordura:	Toneladas:	Valor em Cr\$:
Banha .....	81.824	1.301.223.000
Composto ....	4.108	63.554.000
Toucinho .....	114.058	1.857.311.000
Sêbo .....	40.206	362.222.000
Salsicharia ...	54.119	1.007.647.000
Soma ....	294.315	4.591.957.000

Essas gorduras e os produtos de salsicharia, provêm de bovinos e suínos. Ora, *os animais infectados com brucelas têm seu rendimento em peso, inclusive gorduras, diminuído de mais de 15%* e já vimos que os rebanhos bovino e suíno estão contaminados nas proporções de 10% a 20% e 30% a 40%, respectivamente. É fácil depreender, portanto, que bem maior seria a produção de gorduras, se os rebanhos estivessem indenes de brucelose.

*Produção de Lacticínios* — Como lacticínios são considerados todos os produtos de origem láctea, tais como caseína, creme, doces de leite,

farinha láctea, lactose, leicau, leite condensado, leite desnatado, em pó e pasteurizado, manteiga, quefir, queijo e requeijão, além do leite em natureza. Não considerando a enorme quantidade de leite e produtos derivados que não passam pela fiscalização da Inspeção Federal, foram os seguintes os dados para o ano de 1952:

Lacticínios:	Toneladas:	Valor em Cr\$:
Total .....	273.465	2.379.776.000

*A vaca leiteira, quando brucelosa, tem seu rendimento leiteiro diminuído de 20%.*

Os dados conhecidos sobre a distribuição da brucelose entre o rebanho leiteiro, não dão indicações de taxas inferiores a 20%. Em Pôrto Alegre, por exemplo, 20.000 vacas abasteciam de leite, em 1949, a cidade, segundo NEVES DA SILVA; dessas, 4.000 se achavam infectadas, ou sejam 20%, o que causava um prejuízo de 7 milhões e meio de cruzeiros, aos preços da época. Em Belém do Pará, de 253 vacas leiteiras examinadas, 160, ou cerca de 63,2% encontravam-se infectadas. Para o estado do Rio de Janeiro, THIAGO DE MELLO calculou os danos quanto à diminuição de lacticínios, em 12 milhões e meio de cruzeiros, anualmente, baseado em dados estatísticos relativos a 1949.

As perdas econômicas some-se o grande perigo que representa a ingestão de lacticínios contaminados, sabendo-se que os animais infectados, embora sem doença aparente, eliminam as brucelas com o leite, pelo menos a maior parte dêles; é por isto que não se deve transigir no tocante à pasteurização do leite.

*Produção de couros de bovinos e suínos* — Em 1952, a produção de couro de bovinos e suínos, em estabelecimentos sob Inspeção Federal, foi a seguinte:

Couros:	Toneladas:	Valor em Cr\$:
Bovinos .....	136.828	868.304.000
Suínos .....	5.099	37.437.000
Soma ....	141.927	905.741.000

A produção de couros decorre, evidentemente, do número de animais abatidos. Ora, fazendo-se o abate em menor escala, devido à diminuição do rebanho, isto afetará a obtenção desses artigos.

Antes de concluir o presente tópico desejamos referir que por ocasião da 1.<sup>a</sup> Conferência Nacional de Brucelose, realizada na República Argentina, em julho de 1947, foi apresentado pela Comissão encarregada do tema: *Repercussão econômica determinada pela Brucelose, sob o duplo aspecto humano e animal*, um projeto de lei de combate à brucelose, posteriormente aprovado. Na justificativa, entre outros itens, havia um relacionamento com os inconvenientes que se apresentam num rebanho infectado com brucelose. Pela maneira objetiva com que foi feita a síntese, passamos a transcrevê-la:

1.º — Diminuição do número de produtos, pela expulsão prematura das crias. O sintoma abôrto, o único que em geral alarma o criador, reduz a cifras baixas a porcentagem normal de partições, especialmente nos rebanhos que, pela primeira vez, sofrem as conseqüências da zoonose. Esta redução chega, em alguns casos, até a 40% dos números normais. Posteriormente à instalação da doença no rebanho, a porcentagem de abortos diminui paulatinamente, devido à auto-imunização e dessensibilização alérgica das fibras lisas do útero, mas em troca aparecem outros fenômenos igualmente prejudiciais à criação, como a esterilidade.

2.º — A esterilidade determinada pela brucelose pode apresentar vários graus, desde a temporária até a permanente ou absoluta, podendo ser motivada por alterações dos ovários ou do útero. Na esterilidade ovariana, o cio não se apresenta ou, então, apresenta-se repetidamente, como na ninfomania e dificilmente se consegue a fecundação. As lesões que a brucelose provoca no útero, impedem que se processe normalmente a fecundação e, por isso, é necessário realizar várias montas, para que ela se efetue, assim mesmo quando não existe a esterilidade permanente devida à ação inflamatória dos germes de infecção secundária. Aproximadamente 40% dos casos de esterilidade permanente ou temporária devem-se à brucelose.

3.º — Diminuição da capacidade reprodutora — As causas apontadas anteriormente obrigam a repetir a monta 3, 4 ou mais vezes, nas vacas que abortaram devido à brucelose e, em conseqüência, passam-se vários meses desde o momento da expulsão do feto até o animal conceber novamente.

Calcula-se que, por êste motivo, as vacas afetadas de brucelose têm uma cria cada 18 a 20 meses, enquanto que os animais de rebanhos indenes, fazem-no cada 11 meses e meio ou 12 meses. Isso, além de diminuir o valor do animal como reprodutor, exige a permanência de maior quantidade de reprodutores machos nos currais, que devem ser submetidos a trabalho mais esgotador; conseqüentemente, exige maior inversão de capital para a compra de maior quantidade de machos.

A média geral de montas necessárias para que uma vaca normal conceba é calculada em 1 e meia, enquanto que se eleva a 4 ou 5, nos rebanhos infectados.

4.º — Diminuição da produção leiteira — A interferência da brucelose no período de gestação, assim como a esterilidade ovariana ou uterina e a freqüente localização dos germes no tecido mamário, originam, logicamente, baixa apreciável na produção total de leite no País, calculada em 120 milhões de litros. Para êste cálculo foram levados em conta os dados publicados pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, segundo os quais a diminuição da produção leiteira nos estabelecimentos atingidos de brucelose, é de cêrca de 20 a 25%.

5.º — Diminuição do valor comercial da fazenda — É bem sabido que nas operações correntes de venda de fazendas para a reprodução ou para produção leiteira, é muito diferente o preço que vigora quando se estipula que a fazenda é vendida livre de brucelose. Dessa maneira, pode-se calcular o preço em mais 20% para as fazendas do tipo de granjas leiteiras, quando se tem a garantia de que as mesmas estão indenes de

brucelose, o que significa o mesmo que uma redução de 20%, quando não se pode garantir tal situação.

6.º — Prejudica o prestígio comercial das fazendas de gado, tornando mais difícil a venda dos exemplares pertencentes a estabelecimentos afetados.

7.º — Causa perda de alimentos, já que é necessário dispor de pastagens e reservas de forragens, destinadas a animais improdutivo, como são os infectados pelas brucelas.

Como se fôsse pouco tudo isso, junte-se a desmoralização que lavra entre os produtores, que vêem malogrados seus esforços de constantes progressos, pela difusão alarmante que adquire dia a dia a brucelose e que abala a economia da fazenda e até mesmo a saúde do proprietário ou de seus parentes e empregados.

Tôdas estas razões fundamentam de sobra um programa amplo e integral de luta contra a brucelose, para cuja realização existe a experiência de países que já tiveram êxito em tais propósitos”.

---

## F — PATOLOGIA E CLÍNICA

Para o estudo da patologia da brucelose animal, serve de bom exemplo a doença nos bovinos.

Durante muito tempo pensou-se que a brucelose bovina era peculiar às fêmeas, localizando-se os germes de preferência na placenta e determinando o único sintoma aparente — o abôrto; os animais jovens e os adultos machos seriam pouco suscetíveis. Contudo, verificou-se, mais tarde, que êsses conceitos eram errôneos. Além das localizações uterinas e mamárias, bem como as orquites, foi verificado que outras podiam ocorrer, à semelhança do que acontece no homem.

A influência do macho na disseminação da brucelose, contestada durante algum tempo, parece, atualmente, bem demonstrada. O sêmen do animal infectado é capaz de veicular brucelas. Assim sendo, mesmo nos casos de inseminação artificial, existe a possibilidade de irromper a doença num rebanho, desde que o sêmen utilizado provenha de touros infectados. Não é só a presença de lesões visíveis nos touros (orquites, artrites) que indica a sua capacidade de veicular brucelas; desde que estejam infectados, o seu esperma poderá conter os germes, sem que nenhum sintoma o demonstre. Às vêzes, até a prova de sôro-aglutinação é negativa, apesar de ser positiva a que é feita com o líquido espermático. O uso de diluidores contendo estreptomina, preconizado pelos técnicos norte-americanos com a finalidade de aumentar o prazo de viabilidade do esperma, garante uma esterilização do material com relação às brucelas. FOOTE & BRATTON, por exemplo, verificaram que 2 mg de polimixina (D, B ou E) ou 100 microgramas de aureomicina por ml de sêmen, não tinham efeito prejudicial para os espermatozóides, sendo altamente bactericidas. Os mesmos autores, noutras experiências, confirmando pesquisas de outros, concluem que a adição de penicilina e estreptomina, isoladas ou combinadas com polimixina e sulfanilamida,

adicionadas ao sêmen com diluidor de gema de ovo + citrato de sódio, aumentavam a capacidade fecundante do material. ALBERTSEN preconiza a junção de 1 mg de estreptomina por ml de diluidor, com o que se obtêm a morte das brucelas.

A infecção dos animais, conforme já foi visto, processa-se pelo contacto e pela ingestão de materiais contaminados; não deve ser desprezada e esquecida a possibilidade de transmissão pelos aerossóis.

Admite-se que a primeira localização dos germes é nos gânglios linfáticos regionais, onde as brucelas passam a multiplicar-se durante períodos variáveis. Daí elas são levadas, por via linfática, ao sangue que, por sua vez, as transporta para o restante do aparelho linfático, para o fígado e para o baço. Esta fase é a septicêmica, período em que os germes são mais facilmente isolados do sangue. Diversos outros aspectos da patogenia foram pesquisados por HOERLEIN e seus colaboradores, em Iowa, e WASHKO & Cols., em Indiana.

O período de incubação não é assinalado por sintoma algum. Sua duração é muito variável, oscilando entre 1 a 2 meses, podendo prolongar-se por muito mais tempo. Para o caso da infecção bovina, THOMSEN realizou experiências em animais dum rebanho isento de brucelose. Nas vacas infectadas por meio dum touro (prepúcio contaminado artificialmente) no momento da cobertura, a incubação foi em média de 225 dias, ao passo que quando a infecção experimental foi realizada em vacas após 7 meses da cobertura, a incubação durou apenas 53 dias. Concluiu THOMSEN, dêsse fato, que quanto mais jovem o feto no momento da infecção, maior o período de incubação.

Tanto nos bovinos quanto nos suínos, tem-se a impressão de que as brucelas apresentam tropismo acentuado para os órgãos genitais, seguindo-se os gânglios linfáticos, ossos, baço, fígado e glândulas mamárias, além de outras localizações menos freqüentes. No aparelho genital determinam lesões que impossibilitam os animais de ambos os sexos de efetuarem normalmente a função reprodutora.

Nas vacas, as principais conseqüências da infecção brucelosa são o aborto e a esterilidade. O aborto decorre quer de alterações nos cotilodôneos placentários (Fig. 152), quer de infecção e morte do feto, com expulsão consecutiva. A fêmea que adquire a brucelose pela primeira vez, geralmente aborta logo na primeira concepção; nas gestações seguintes, poderá abortar ou não; ao fim de alguns anos, raramente aborta.

Embora sejam mais aparentes as localizações nos órgãos genitais, as extra-uterinas, tais como a esplênica, hepática e ganglial, são também muito importantes.

Deve-se considerar que a brucelose nos bovinos e noutros animais domésticos é sempre generalizada, da mesma forma que no homem. Reconhece-se que um grande número de germes chega aos envoltórios fetais e ao tecido mamário, mas isto não é o suficiente para afirmar-se que essas estruturas sejam mais suscetíveis ou que haja maior predileção dos germes pelas mesmas e sim que há menor capacidade reacional de tais órgãos à infecção. Pesquisas realizadas mostram ser o aborto, principalmente, resultante duma reação de tipo alérgico e o desaparecimento

de tal sintoma em gestações consecutivas representa uma resistência adquirida pelos tecidos placentários ao desenvolvimento das brucelas, sobretudo uma defesa do epitélio coriônico ao processo normal de destruição resultante do parasitismo intracelular.

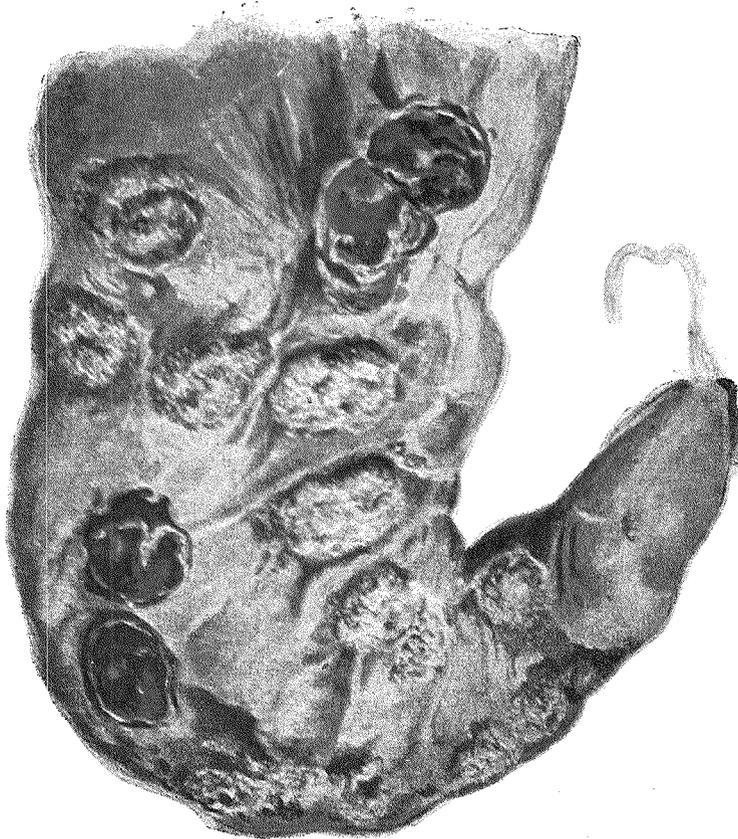


Fig. 152 — Lesões nos cotilédneos placentários em caso de aborto bruceloso bovino. Segundo KITT, em FRÖHNER & ZWICK.

Nas porcas observa-se, também, com muita frequência, o aborto, assim como a esterilidade, ambos determinados pelas localizações uterinas e ovarianas. A infecção uterina é, quase sempre, do tipo miliar (Fig. 153).

Nos reprodutores machos, bovinos ou suínos e de outras espécies, os germes invadem os órgãos genitais, causando orquites, epididimites, etc. (Figs. 154, 155) e levando muitas vezes, à esterilidade, pelas profundas alterações que se verificam.

A esterilidade nos machos é uma grave consequência, principalmente quando se lida com reprodutores selecionados e de alto preço. Um perigo bem maior, entretanto, se apresenta quando as funções espermato genéticas e genésicas ainda não foram comprometidas ou aboli-

das. Surge o inconveniente sério da propagação da doença, num rebanho indene, por intermédio do esperma contaminado com brucelas. Daí ter sido o problema objeto de especial atenção em várias Reuniões e



Fig. 153 — Nódulos miliares em placenta de porca brucelosa. Segundo THOMSEN.

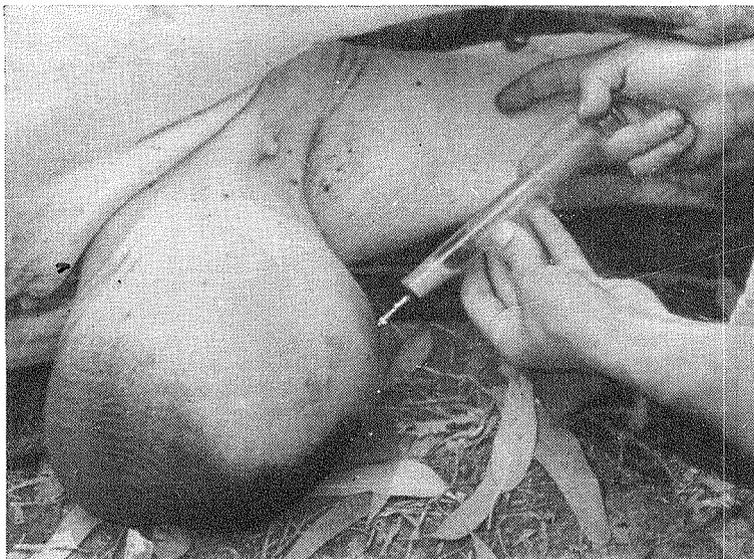


Fig. 154 — Orquite brucelosa em bovino; coleta de líquido. Segundo HIPÓLITO & Cols.

Congressos, recomendando-se que os porcos e touros que vão servir na reprodução, pelo menos os fornecedores de material para a inseminação artificial, sejam rigorosamente controlados quanto à brucelose, por meio

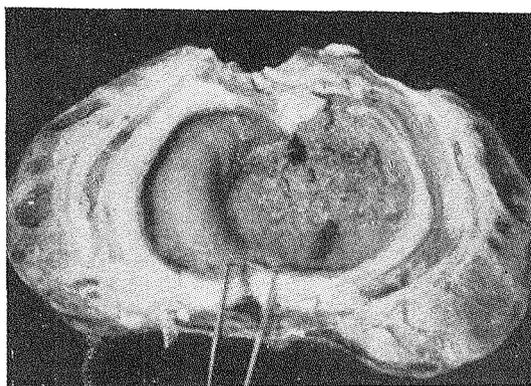
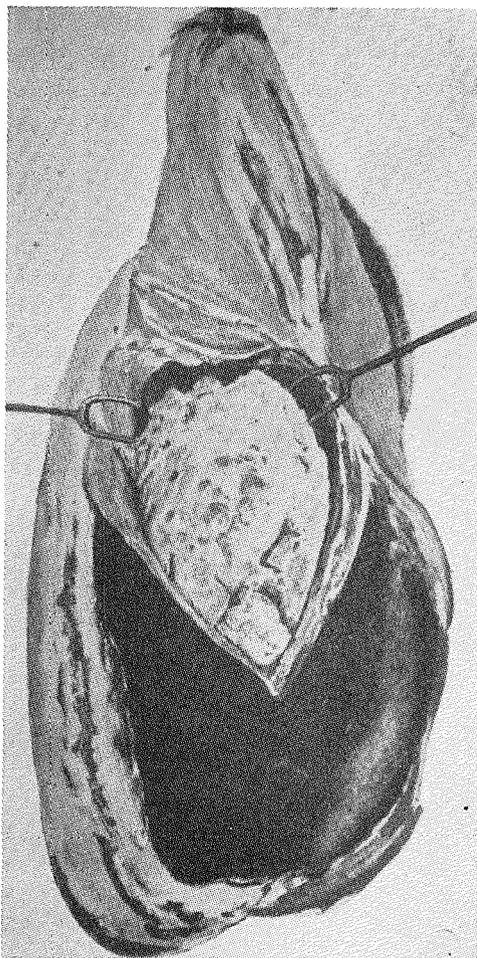


Fig. 155 — Necrose testicular na brucelose bovina. Em cima, segundo HUTYRA & Cols. Em baixo, segundo HIPÓLITO & Cols.

de provas diagnósticas repetidas (sêro-aglutinação, espermaglutinação, espermocultura, etc.) e que sejam conservados inteiramente ao abrigo da infecção. Ainda com relação à técnica da inseminação artificial, convém lembrar a necessidade de rigorosa esterilização do material (espéculo e sondas) usado na mesma, bem como a desinfecção das mãos do operador, que poderão transportar passivamente as brucelas, dos órgãos genitais da fêmea infectada, para os das sadias. Além disso, juntar ao sêmen, substâncias antibióticas, sobretudo estreptomicina (FOOTE & BRATTON; ALBERTSEN).

Quanto às lesões microscópicas, observadas na brucelose animal, não diferem das que já foram vistas no capítulo correspondente, inclusive o granuloma, que também está presente, com tôdas as suas características.

---

## G — DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da brucelose animal não é feito clinicamente, a não ser no abôrto epizootico das vacas mas, mesmo neste caso, pode haver engano pela possibilidade de tratar-se de vibriose, tricomonose, etc.

Para o diagnóstico da infecção nos animais domésticos, a prova fundamental é a de sêro-aglutinação. É evidente que o isolamento de germes tem alguma importância mas não idêntica à que apresenta no diagnóstico da brucelose humana, a não ser sob o ponto de vista epidemiológico, quando se deseja apurar se o leite de determinados animais ou rebanhos apresenta brucelas. As técnicas de isolamento e cultivo são as mesmas vistas anteriormente.

A sêro-aglutinação é feita com o sangue colhido na veia jugular (Fig. 155-A) e deixado coagular espontaneamente.

Tôdas as outras provas são relativamente secundárias; quando executadas, seguirão as normas já descritas.

A sêro-aglutinação deve ser feita com os mesmos detalhes vistos no capítulo correspondente desta Monografia e a sua interpretação realizada da mesma forma. A prova rápida só deveria ser feita em condições de padronização de material e de técnica, assim mesmo funcionando como prova de triagem. Infelizmente, como vimos, durante muito tempo, na maioria dos países, concedeu-se-lhe importância demasiada, sendo bem provável ter sido êste fato um dos motivos responsáveis pela lentidão dos resultados das campanhas profiláticas nela baseadas.

Repetindo, a prova recomendável é a sêro-aglutinação lenta, em tubos, feita com antígenos padronizados e aferidos, e obedendo à técnica descrita no capítulo do Diagnóstico.

O título a considerar positivo, na brucelose animal, é semelhante ao da infecção humana, ou seja, 1/80 a 1/100 em diante. Para o caso de rebanhos indenes, títulos suspeitos esporádicos devem ser considerados com muita reserva; em geral traduzem a presença de aglutininas inespecíficas, assunto sôbre o qual já falamos alhures. Quando os rebanhos são infectados, porém, êsses títulos podem representar indício

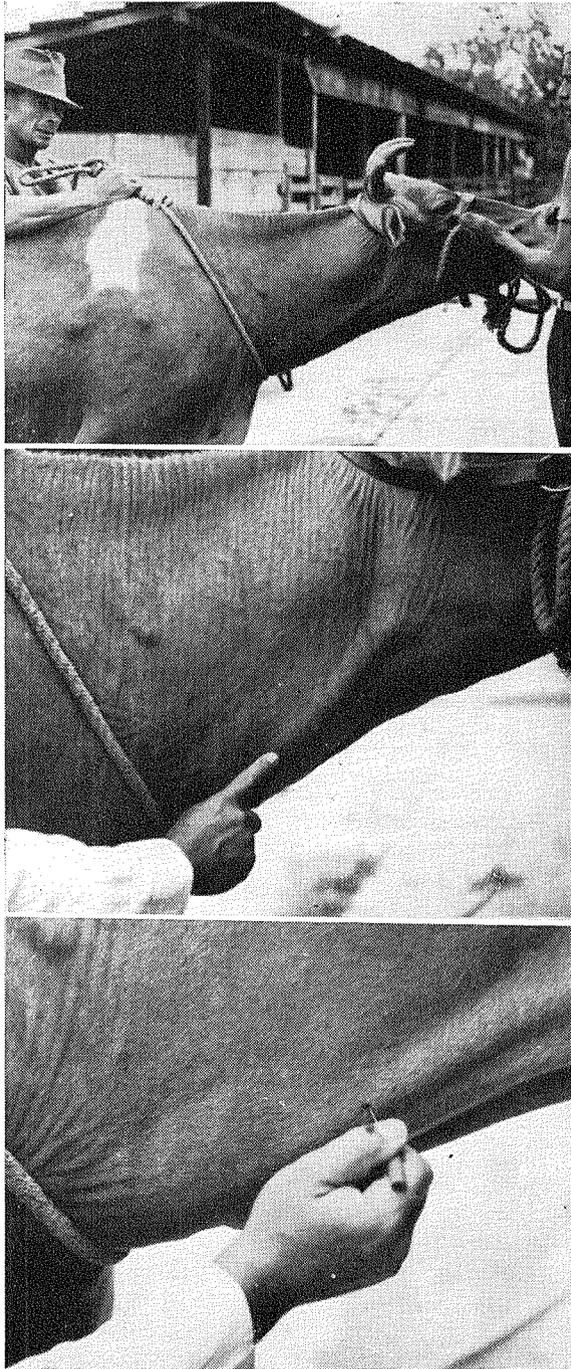


Fig. 155-A — Fases da coleta de sangue da jugular de bovino, para obtenção do soro necessário à realização da prova de soro-aglutinação. Gentileza de "O Mundo Agrário".

de doença e, assim sendo, os animais devem ser submetidos a novo exame, dentro de 2 semanas. Segundo MOORE & MITCHELL, o número de vacas apresentando reações suspeitas e que passam a negativas 6 meses depois, varia inversamente com a extensão da enfermidade no rebanho (estudos baseados no exame de 828 animais suspeitos, dum total de 11.108, em 348 rebanhos).

Além da aglutinação com o soro podem ser feitas outras, com diferentes líquidos, principalmente com o leite, assunto de que nos ocuparemos adiante. Em certos casos é conveniente fazer aglutinações de brucelas com sêmen ou com líquidos vaginais e uterinos, bem como de coleções purulentas. Para isso, tais líquidos são centrifugados e a prova é feita com o sobrenadante límpido. Frequentemente os títulos obtidos são superiores aos encontrados no soro sanguíneo, o que parece indicar uma produção local de aglutininas, como admitem os autores que têm feito pesquisas dessa natureza. JEPSEN & VINDEKILDE, colhendo líquidos da mucosa uterina por meio de tampões de gaze (colocados na vagina, durante uma hora e depois transferidos para frascos contendo solução salina), conseguiram demonstrar formação local de aglutininas nos órgãos genitais de vacas infectadas; em muitos casos os títulos eram mais elevados do que os do sangue.

Quanto à possibilidade de ocorrerem reações positivas para brucelose em animais que não estejam infectados por brucelas, isto parece menos comum do que em medicina humana.

DARNELL & WILLADSEN, por exemplo, em 104 casos de abortos em vacas, considerados por brucelose, pelos veterinários, conseguiram demonstrar (pelo exame microscópico da placenta e pela prova de soro-aglutinação repetida 1 mês depois da primeira) apenas 4 animais como infectados, dos quais um foi depois classificado como apresentando reação inespecífica. Portanto, apenas 3 vacas mostraram provas positivas, ou sejam, 0,08% do total das examinadas ou 2,6% das que apresentaram abôrto.

Relativamente à vibriose, também uma das causas de abôrto em bovinos, parece não haver possibilidade de surgirem reações cruzadas, pelo menos é o que resulta das experiências de PLASTRIDGE & Cols.; em certos rebanhos com vibriose, não havia brucelose; noutros, havia concomitância de ambas as doenças. Dizem êsses autores que se bem que certas vacas, vacinadas quando bezerras, pudessem abortar em consequência de brucelose, o abôrto determinado por vibriose era observado também (em vacas igualmente vacinadas quando bezerras), atribuindo os proprietários, erroneamente, os abortos à deficiência da vacina antibrucelosa (falta de proteção dos animais).

Sobre as relações sorológicas entre brucelose e febre Q, o assunto foi visto no capítulo do Diagnóstico (Fig. 143).

A aglutinação de brucelas com sangue total, parece não ter ainda seu valor devidamente provado na brucelose animal, apesar de os trabalhos de CEDRO indicarem-na como adequada para êsse fim (Fig. 144), o que seria a confirmação dos trabalhos iniciais de WELCH & MARSH, feitos em 1935.

A prova intradérmica tem sido experimentada, sobretudo em caprinos, existindo diversos tipos de antígenos, mas o principal é a melitina; segundo CARRÈRE & COLS., esta não determina a formação de anticorpos de modo que pode ser praticada mesmo antes da sêro-aglutinação. O alergeno de OTTOSEN & PLUM, de Copenhague, parece fornecer resultados inferiores à melitina, segundo CARRÈRE & RENOUX.

*Prova de anel* — Um tipo especial de aglutinação de brucelas tem se revelado, ultimamente, de enorme interesse na profilaxia da brucelose: a prova de anel em leite. Esta prova permite diagnósticos muito rápidos e simples, dos rebanhos infectados por brucelose, modificando inteiramente as perspectivas, antes reservadas ou sombrias, da profilaxia da infecção, principalmente em País com deficiência de recursos técnicos, como o nosso.

A prova se baseia no fato de que o leite de vacas infectadas apresenta uma substância (que muitos consideram aglutininas) que determina a aglutinação das brucelas; estas, aderindo aos glóbulos de gordura do leite, sobrenadam quando a mistura é deixada em repouso durante algum tempo. Em consequência, se as brucelas tiverem sido coradas, forma-se na superfície do leite uma camada de creme, colorida, um anel ou disco.

A *prova de anel* foi pela primeira vez empregada por FLEISCHHAUER, na Alemanha, em 1937, tendo sido chamada de "Abortus Bang Ring-Probe" (A. B. R.) pelos autores alemães e de "ring test" pelos de língua inglesa. Durante muitos anos a prova logrou aceitação nos países escandinavos, bem como Alemanha e Suíça, isto porque a guerra impedia maior divulgação. Cessado o conflito, logo generalizou-se seu emprego, principalmente quando os pesquisadores norte-americanos dela tiveram conhecimento. Atualmente é considerada a melhor arma de que se dispõe para o combate à brucelose animal porque permite imediata identificação de rebanhos infectados, mesmo à distância, nas usinas de laticínios, pois a prova é eficiente, também, com os leites misturados de vários animais.

Embora o antígeno possa ser colorido com diversos corantes, os que lograram maior generalização foram os preparados com hematoxilina, de acordo com a técnica original de FLEISCHHAUER ou suas numerosas modificações, e os com sais de tetrazólio, segundo as investigações originais de BENDTSEN, em 1950. É interessante referir que antes dos pesquisadores americanos tomarem conhecimento da prova, PRADINES BRASIL, no Uruguai em 1946, preparava o antígeno corando as brucelas (10% de germes) com tionina, obtendo bons resultados.

Até o momento a prova é eficiente e prática somente para leites de vacas. As pesquisas para sua adaptação a leites doutras espécies animais, principalmente cabras e ovelhas, são muito intensas e algumas modificações úteis começam a aparecer, conforme têm publicado autores europeus, sobretudo. (ALIVISATOS & EDIPIDES; SRAKOCIC; PALTRINIERI; RENOUX & CORDIER; CARRÈRE & COLS.; D'ALO; LEVI).

Atualmente a tendência é para o uso do antígeno corado com tetrazólio, em virtude de ser mais fácil de preparar, ser mais uniforme em

suas características e, principalmente, ser feito com um corante vital que não lhe altera a sensibilidade.

No Brasil, desde 1950, temos procurado difundir as vantagens do emprêgo da prova de anel para facilitar a profilaxia da brucelose em nosso meio. Infelizmente, como até essa época o assunto não tivesse merecido aprovação oficial das autoridades veterinárias que, mesmo, recusavam-se a examinar a questão, quase nada conseguimos. Apesar disso um de nós (M.T.M.), no fim desse ano e em 1951, preparou muitos frascos de antígenos que enviou, juntamente com instruções detalhadas para a realização da prova e tubos convenientemente marcados, para centenas de veterinários de todo o País. As respostas recebidas foram numerosas e, em alguns Estados, as próprias autoridades veterinárias estaduais se interessaram pelo assunto. Em 1954, o Instituto Biológico de São Paulo, graças ao notável esforço do Dr. MÁRIO ROS, chefe da Seção de Assistência Veterinária, empreendeu um inquérito de larga envergadura nos rebanhos leiteiros do Estado, o que revelou a existência, em média, de mais de um terço dos rebanhos infectados.

Como a literatura sobre a prova de anel é extremamente grande, pois se trata da maior conquista dos últimos anos na luta contra a brucelose, limitar-nos-emos a enviar os interessados às publicações da "WHO/FAO Brucellosis Information Series" e aos Relatórios dos Peritos em Brucelose da Organização Mundial de Saúde. O melhor e mais completo trabalho sobre o assunto é a recente revisão de TALLMAN & HERMAN, pesquisadores da Universidade de Missouri.

Para o preparo do antígeno corado com hematoxilina, a melhor técnica publicada é a do "Bureau" de Indústria Animal dos Estados Unidos, de junho de 1953. Contudo, as próprias autoridades norte-americanas no assunto, Drs. ROEPKE e MINGLE, em cartas dirigidas a um de nós (M.T.M.) tendem, no momento, a empregar os antígenos corados com tetrazólio.

As transcrições a seguir são, primeiro, da técnica de preparo do antígeno corado com tetrazólio, tal como deveria ter sido publicado pela Comissão Nacional de Brucelose, no momento em que se elaborava o Plano de Profilaxia a que já nos referimos anteriormente (1952); em seguida, cópia da carta que endereçamos a mais de 600 veterinários espalhados por todo o País, em 1951, solicitando cooperação no sentido de ser mais bem conhecida a incidência da infecção em nosso meio; finalmente, a maneira de realizar a prova de anel no leite e as fichas destinadas a recolher informações epidemiológicas. O inquérito foi delineado para provas individuais nas vacas, daí o modelo das fichas feitas, que visavam, inclusive, às informações epidemiológicas sobre cada animal. As instruções para a realização da prova foram transcritas em diversos trabalhos, inclusive nos de BIFFONE, FRANÇA e outros.

*"Técnica de preparo do antígeno de Brucella abortus para a prova de anel em leite* — Não existindo técnica padronizada ou recomendada internacionalmente para o preparo de antígenos corados de *Brucella abortus* para a prova de anel em leite (ABR ou "ring test"), a seguinte técnica é recomendada:

I. *Preparação do antígeno* — É utilizada a amostra aeróbia de *Br. abortus* (amostra 99) do Laboratório Veterinário do Ministério de Agricultura e Pesca da Inglaterra ou a amostra atenuada aeróbia de *Br. abortus* (amostra 19) do "Bureau" de Indústria Animal dos Estados Unidos.

A técnica para a conservação das amostras e o preparo das suspensões é a mesma constante da "Técnica para o preparo do antígeno de *Br. abortus* para a prova lenta", até a filtração das suspensões em algodão de vidro ou gaze e algodão.

Para cada 100 ml da suspensão viva concentrada assim obtida, adicionam-se 5 ml de solução aquosa a 1%, de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio, esterilizada em autoclave. A mistura é deixada na estufa a 37°C dum dia para outro (16 a 20 horas). No fim dêsse prazo os germes estão intensamente corados em vermelho. A suspensão é morta pelo calor em banho-maria a 60°C durante 30 minutos.

Centrifuga-se, despreza-se o sobrenadante e re-suspende-se em salina fenicada e glicerizada (0,5% e 1,0% respectivamente). Centrifuga-se outra vez, despreza-se o sobrenadante, re-suspende-se na mesma solução e filtra-se em algodão e gaze, tendo previamente desfeito todos os grumos. Dilui-se de modo a ser obtida uma concentração correspondente à densidade de 4% de células por volume, determinada em tubos de Hopkins. Verifica-se a esterilidade do produto e testa-se o mesmo com leite de vacas reconhecidamente brucelosas e de outras não infectadas".

## II.

"Rio de Janeiro, ..... de 1951.

Prezado Colega

Saudações

Conforme o Colega não ignora, a brucelose ou abôrto infeccioso é um dos mais sérios problemas para a nossa criação de bovinos, quer pelos prejuízos de ordem econômica determinados por ela, quer pela possibilidade de se transmitir ao homem, causando uma das mais importantes doenças humanas dos tempos atuais.

A brucelose bovina só pode ser combatida eficientemente se forem conhecidos os focos em que incide, para que se adotem as necessárias medidas profiláticas.

Até bem pouco tempo não se dispunha duma técnica rápida e simples, por meio da qual se pudesse avaliar o grau de infecção de um rebanho. Com a introdução, na prática, da chamada *Prova do anel* ("Ring Test") já em uso corrente em alguns países, tem sido possível, com extrema simplicidade e rapidez, verificar o estado de infecção das vacas em lactação, o que dá uma idéia do índice de infecção do rebanho; mais ainda, permite evidenciar justamente aquelas fêmeas cujos leites são perigosos para o consumo público exigindo cuidados especiais de pasteurização antes de serem ingeridos.

O Comitê Brasileiro de Brucelose, em colaboração com a Divisão de Defesa Sanitária Animal do Ministério da Agricultura, o Serviço de Veterinária do Exército e o Instituto Oswaldo Cruz, está interessado em obter os dados relativos à distribuição e ao índice de infecção da brucelose bovina no Brasil, o que é conhecido apenas em alguns pontos do País. Para isso contamos com a colaboração do prezado

Colega, estando prontos a fornecer informações a respeito da doença, antígenos para provas diagnósticas, etc..

Esse inquérito é da maior importância para o estabelecimento de normas profiláticas, ora em estudo pela Divisão de Defesa Sanitária Animal, dados os prejuízos econômicos que a brucelose está causando à nossa pecuária.

Por isso, esperamos que o colega realize as provas de anel em leite da maior quantidade de vacas de que puder dispor. Para que o inquérito possa ter maior amplitude, será interessante instruir os auxiliares técnicos sobre o modo de efetuar a prova.

Estamos enviando o material necessário, bem como as instruções sobre a maneira de realizar a prova. Caso seja necessária maior quantidade de material (antígeno, tubos, fichas, etc.), o Colega poderá pedir pela via mais rápida, que será imediatamente providenciada a remessa.

Evidentemente, o prezado Colega poderá fazer dos resultados que obtiver, o uso que bem entender. Desejariamos, apenas, receber, devidamente preenchidas com esses resultados, as fichas que lhe enviamos.

Fica subentendido que tôdas as informações que recebemos serão consideradas por nós de ordem confidencial e seu nome somente constará de trabalhos que eventualmente forem realizados sobre o assunto, com o seu expresso consentimento.

Antecipadamente gratos, subscrevemo-nos, às ordens

a) MILTON THIAGO DE MELLO”

III. *“Técnica para execução da prova de anel em leite — Colocar num tubo de hemólise, de 13 x 75 mm ou 13 x 100 mm, um mililitro (1 ml ou 1cc) de leite fresco. Adicionar 1 gota do antígeno corado. Misturar bem, durante meio a um minuto, inclinando diversas vezes o tubo e evitando, tanto quanto possível, a formação de espuma. Deixar o tubo em repouso, na posição vertical, durante meia a uma hora na estufa a 37°C ou uma a duas horas à temperatura ambiente (quanto mais baixa a temperatura ambiente, maior deverá ser a incubação).*

Nas provas positivas forma-se, depois do prazo de incubação, um anel ou disco vermelho na superfície do leite que está completamente descorado ou apenas ligeiramente corado pelo antígeno. Nas provas negativas forma-se, apenas, um anel branco ou amarelado, na superfície do leite que está corado pelo antígeno. Nas provas suspeitas, o leite ainda se mantém corado pelo antígeno mas o anel também é ligeiramente corado.

Os resultados são expressos da seguinte forma:

- +++ anel inteiramente vermelho, de cerca de 2 mm de espessura ou mais, sobre a coluna de leite que está completamente descorado (positivo).
- ++ anel semelhante ao descrito acima porém a coluna de leite não fica totalmente descorada (positivo).
- + formação de anel sem descoramento apreciável da coluna de leite; coloração quase idêntica do anel de creme e da coluna de leite.
- 0 anel branco, de creme, no alto de uma coluna de leite que se apresenta corado pelo antígeno (negativo).

Quando a prova fôr feita com leite de vacas, individualmente, não misturados, os resultados +++ e ++ são considerados positivos; o resultado + suspeito e o 0 negativo. Quando a prova fôr feita com misturas de leites, as provas +++, ++ e + são consideradas positivas. Observações: O leite deve ser fresco, de ordenha do mesmo dia e sem ter sofrido fervura ou pasteurização; o leite conservado na geladeira (+4°C) pode ser usado durante uma semana devendo ser previamente bem homogenizado.

A suspensão de brucelas que constitui o antígeno, está morta, não oferecendo a sua manipulação perigo algum de contaminação para o operador. Deve ser conservada na geladeira; na falta desta, em local fresco. Agitar antes do uso.

Os tubos de hemólise fornecidos estão marcados com um traço correspondente aproximadamente a 1 ml (um mililitro ou 1cc). O leite deve ser despejado cuidadosamente até alcançar essa marca. O recipiente que servir para distribuir o leite no tubo deve ser individual ou lavado e enxuto depois de cada distribuição. Os tubos podem ser usados indefinidamente.

Depois de feita a leitura final da reação, lavá-los em água corrente de modo que não fiquem resíduos de leite ou antígeno em seu interior; fervê-los em água durante 10 minutos; enxugá-los mantendo-os com a boca para baixo.

Cada tubo deverá ser marcado a tinta ou lápis, em esparadrapo ou papel, com o número ou o nome do animal, para evitar confusões.

Os resultados serão registrados nas fichas fornecidas.

É conveniente misturar os leites das 4 tetas. Se a prova fôr executada com leite de 1, 2 ou 3 tetas, indicar abreviadamente quais foram estas (AE, AD, PE, PD). Nos animais portadores de mastites é preferível fazer a prova com o leite de cada teta, indicando qual a teta ou as tetas afetadas.

Não deve ser utilizado o colostro ou o leite de vacas na fase final da lactação”.

Anexamos um modelo de ficha para registro dos resultados das provas de anel em leite (Fig. 156).

Segundo Rossi & Cols., o leite pode ser conservado com bicromato de potássio (aproximadamente 0,2%) durante várias semanas, à temperatura ambiente ou na geladeira.

Além das várias modificações feitas nos antígenos originais empregados na prova do anel, surgiram outras quanto à realização da prova propriamente dita.

Rossi & Cols. têm feito várias alterações, visando ao uso de leites aquecidos, etc.

KING relatou uma interessante modificação fazendo a prova em *tubos capilares*, com evidente economia de antígeno. No entanto a prova exige certa delicadeza de manipulação prestando-se mais a trabalhos no laboratório. Na opinião do autor, o método parece mais efi-

ciente do que a técnica em tubo, servindo melhor para o diagnóstico individual do que o outro.

RESULTADO DE PROVAS DE ANEL EM LEITE

Fazenda ou propriedade..... Tem havido aborto na fazenda ou propriedade? (Sim, não ou ignorado).....  
 Proprietário(s)..... Tem sido verificados casos de retenções placentárias? (Sim, não ou ignorado).....  
 Distrito..... Já foram realizadas provas diagnósticas para brucelose, entre os animais da fazenda ou propriedade? (Sim, não ou ignorado) Em caso afirmativo, quando e quais os resultados?  
 Município.....  
 Estado ou Território.....  
 Total de bovinos na fazenda ou propriedade.....  
 Antígeno nº.....

Nº ou nome do animal	Idade	Resultados (++,+,+ ou 0)	Passado de aborto ou de retenção placentária? (Sim, não ou ignorado)	Vacinado contra a brucelose? (Sim, não ou ignorado). Em caso afirmativo, em que ano?

.....de.....de 195

Med. Vet.

Fig. 156 — Modelo de ficha para registro de resultados de provas de anel em leite e informações epidemiológicas. Segundo THIAGO DE MELLO.

Por sua vez, BLAKE & Cols. introduziram um método que, se fôr convenientemente padronizado, poderá prestar melhores serviços devido à sua grande simplicidade. Consiste em fazer uma prova rápida com o leite, *em lâmina*, usando o mesmo antígeno empregado na prova de anel (Fig. 157). Segundo os autores, as vantagens das provas em lâminas são as seguintes: a prova não é limitada ao leite de bovinos ou ao

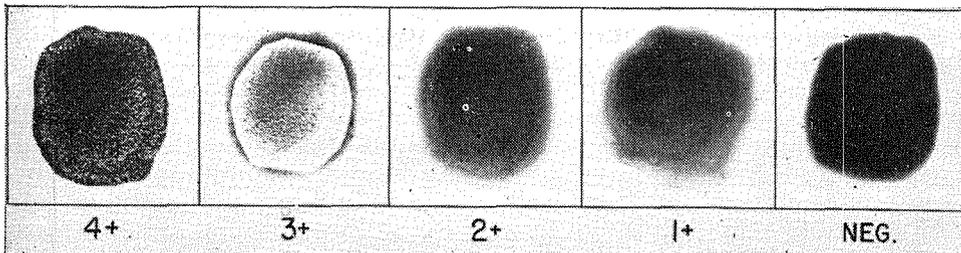


Fig. 157 — Resultados de prova rápida com antígeno corado e leite. Segundo BLAKE & Cols.

creme; permite identificar 99,7% das amostras de leite colhidas de vacas infectadas; são necessários apenas 12 minutos para a leitura da prova; o leite de cabras também pode ser usado; pode ser utilizado o mesmo material empregado nas provas rápidas em placas. Para o caso do leite de cabras essa prova em lâminas seria de grandes vantagens mas ALIVISATOS & BELEZOU não obtiveram bons resultados.

Convém referir, de passagem, que a idéia de aglutinação de brucelas coradas, usando leite, não é nova. Em 1942, CASTAÑEDA, em sua monografia, aconselhava o seu emprêgo, dando detalhes para a execução. O antígeno era o mesmo que usava para aglutinação com sangue total, corado com azul de metileno; empregava lâminas de vidro ou placa de porcelana escavada, fazendo a leitura contra um fundo branco. Nas provas positivas os grumos de brucelas coradas em azul destacavam-se nitidamente do leite, orientando-se para a periferia da gôta; formava-se, então, um anel azul, de espessura variável de acôrdo com a concentração de anticorpos. A leitura devia ser feita até 1 minuto após a mistura.

É sabido que uma das limitações da vacinação contra a brucelose consiste na formação de aglutininas que não são diferenciáveis, pelas provas comuns, das que se formam na infecção natural. Por êsse motivo, VAN DRIMMELEN propôs, em 1951, uma prova de anel modificada que, segundo êle, permite o *reconhecimento de animais vacinados*.

Consiste em tomar uma amostra do leite da vaca suspeita e diluir a 1/10 com leite duma vaca sabidamente negativa e com prova de anel negativa. Distribuir 1 ml da diluição num tubo de 10 mm de diâmetro, pingar uma gôta de antígeno e incubar durante 40 a 60 minutos a 35° a 45°C. Uma prova com o leite do animal suspeito, sem diluir, é feita na mesma ocasião, noutro tubo. Após a incubação, resultados de 4 ++++ em ambos os tubos indicam infecção ativa por brucela mas isto apenas em vacas que tenham sido vacinadas mais de 6 meses antes da prova e que não estejam em final de lactação ou recentemente paridas. Uma vaca vacinada pode apresentar ambos os tubos completamente negativos ou resultados até 4 ++++ no leite não diluído e de 1 + a 2 ++ (camada de creme incompletamente corada e colunas de leite incompletamente brancas) na diluição a 1/10 com leite normal. Essa prova foi experimentada por OGONOWSKI, do Laboratório de Weybridge, com resultados discordantes não permitindo identificar uma grande parte de animais infectados.

Verificou-se que a prova de anel, em amostras de leite individuais de vacas infectadas ou não, pode fornecer falsos resultados. Para eliminar êsses inconvenientes, algumas provas modificadas têm sido feitas. A mais importante é de РОЕРКЕ & Cols., que consiste em aquecer o leite do animal suspeito, já distribuído no tubo de prova, a 65°C durante 1 hora; depois, homogenizar por meio de agitação, enquanto quente, e reconstituir o volume com 5 gôtas de vários cremes negativos misturados. Isto é necessário porque às vêzes a temperatura elevada inativa o creme na amostra em exame e a reação é negativa embora existam aglutininas específicas no leite. Deve-se esperar aproximadamente 10 minutos para

que o novo creme se misture bem com o leite e se obtenha o equilíbrio da mistura. Somente então se coloca uma gôta do antígeno da prova de anel e faz-se a incubação e a leitura da maneira habitual.

Seguindo essa técnica, THIAGO DE MELLO & NÍBER SILVA verificaram que, em alguns casos, certos leites que davam reações positivas na prova comum, passavam a negativos e outros, que eram negativos a essa prova (aparentemente por deficiência de gordura), davam provas positivas. Os resultados obtidos com as provas modificadas eram coincidentes com os observados nas provas de sôro-aglutinação lenta, em tubos.

À vista dos resultados, parece bastante útil que essa modificação seja introduzida na rotina.

A prova de anel pode ser adaptada ao diagnóstico da brucelose empregando *outros líquidos orgânicos*, em vez de leite, como propõem TALLMANN & EDMONDSON e TALLMANN & HERMAN. Dêsses líquidos, o mais importante é o sêmen. TALLMAN & Cols. diluem-no com leite negativo à prova de anel mas que possua adequada proporção de gordura. O sêmen é diluído no leite a 1/25, 1/50, 1/100 e 1/200. Para cada 2 ml de cada uma dessas diluições colocada num tubo de ensaio, pingar 2 gôtas de antígeno e proceder como nas provas comuns, com leite. Os resultados preliminares dos autores indicaram boa correlação com a sôro-aglutinação, para identificar animais infectados. Com a crescente expansão da inseminação artificial, esta prova pode tornar-se valiosa para verificar rapidamente amostras desconhecidas de sêmen. Também o sôro sanguíneo pode ser empregado usando essa modificação da prova de anel, conforme verificações de Rossi & Cols., sendo a leitura feita com o depósito dos germes corados; a prova é bastante engenhosa, merecendo maiores estudos visando à sua utilização na rotina.

---

## H — TRATAMENTO

O tratamento da brucelose animal tem sido intensamente investigado, embora não alcance a extensão do que ocorreu em medicina humana. Os motivos para a limitação das pesquisas são essencialmente de ordem econômica, pois, financeiramente, é preferível sacrificar o animal doente do que tentar tratá-lo, sobretudo levando-se em conta os altos preços dos medicamentos e a sua ineficácia, na grande maioria.

Assim sendo, tôdas as modalidades de agentes terapêuticos das mais diversas origens, citados nos capítulos desta Monografia, foram experimentados, inclusive os regimes dietéticos, com suplementação de sais minerais em doses mínimas (micronutrientes), que também se revelaram ineficientes, segundo as experiências de BERMAN & Cols., aliadas a algumas pesquisas de outros autores sobre o assunto.

O emprêgo de antibrucelina, uma hidroquinona de síntese, forneceu resultados favoráveis com os pesquisadores italianos, embora discordando dos obtidos, mais tarde, pelos argentinos.

Com o aparecimento dos antibióticos, foram êles aplicados à terapêutica da brucelose animal, particularmente no tratamento da infecção bovina, suína e eqüina, sem resultados apreciáveis.

Uma referência especial deve ser feita com relação ao antibiótico micoína. Descoberto na Alemanha, foi objeto duma série de pesquisas aí realizadas por LEMBKE e seus colaboradores; êstes trabalhos e mais o de ROSSI, na França, e de THIAGO DE MELLO & NÍBER DA PAZ M. SILVA, no Brasil, têm mostrado: 1.º) que a micoína tem atividade "in vitro" contra as brucelas; 2.º) que o seu emprêgo no tratamento de bovinos infectados tem dado bons resultados em muitos dêles, devendo assinalar-se que é a primeira vez que um antibiótico exerce algum efeito na brucelose bovina, em condições experimentais e naturais. Na Alemanha e na França, o antibiótico tem sido injetado intravenosamente; no Brasil, as experiências têm sido realizadas por via venosa ou muscular. Observou-se que o extravasamento da solução para o uso venoso determina a formação de edemas, às vêzes volumosos, mas sem conseqüências para os animais; diluidores oleosos especiais podem ser empregados para as injeções intramusculares, de maneira a evitar-se êsse inconveniente.

Na Alemanha, LEMBKE e seus colaboradores, realizaram duas séries de trabalhos experimentais. Na primeira, em 1946, foram tratadas 10 vacas com brucelose crônica, sendo de tôdas obtidos partos normais; de duas delas ainda se cultivaram brucelas do sangue mas de nenhuma o germe foi isolado do leite. Evidentemente, o número pequeno de animais impede maior apreciação e, tendo em vista a existência de abortos anteriores nestas vacas, fica-se na dúvida se, realmente, a gestação normalizada foi devida ou não ao tratamento. Os autores concluem o seu trabalho, dizendo que antes de entregar o medicamento aos veterinários seria preciso confirmar estatisticamente os seus efeitos curativos, com a utilização em maior escala. Em 1948, repetiram-se as experiências, sob a direção de LEMBKE, em duas fazendas com elevado índice de infecção, num total de 286 bovinos; na primeira, de 200 vacas, apenas 4 abortaram após o tratamento sendo uma por traumatismo e 3 outras por causas ignoradas, os autores não as considerando devidas à brucelose porque os exames bacteriológicos e sorológicos foram negativos; noutra fazenda, 86 fêmeas gestantes foram tratadas e destas 8 abortaram; entretanto, não foi possível evidenciar brucelas nos líquidos placentários, nos envoltórios fetais e no feto, por exames bacteriológicos, acreditando LEMBKE que tenha havido uma reação do tipo Herxheimer que determinou o abôrto após o tratamento.

Na França, outras duas séries de experiências foram feitas, sendo os resultados publicados em 1950 e 1954. Na primeira, ROSSI & BRUYÈRE procuraram tratar vacas recentemente infectadas e que pertenciam a fazendas onde não havia brucelose anteriormente. Se não mais ocorressem abortos, isto indicaria eficiência terapêutica, em confronto com animais em idênticas condições, localizados noutras fazendas e não tratados. Em 54 fazendas, reunindo 611 fêmeas em idade de reprodução, em geral 7 a 9 em cada rebanho, haviam sido constatados 116 abortos. Recebidas as comunicações logo que surgiam os primeiros abor-

tos, eram tratadas as fêmeas que apresentavam reações positivas; excluídas as que já haviam perdido a cria, foram tratadas 199 e, de 2 em 2 meses depois, feitas novas sôro-aglutinações. Abortaram 32 vacas, sendo que 4 durante o tratamento, quando o animal já se preparava para a expulsão prematura do feto. De modo geral, a proporção de abortos foi de 25% a qual, comparada com a observada noutras fazendas, mostrou-se favorável ao antibiótico: num rebanho, de 5 vacas com reações positivas e não tratadas, abortaram 4; noutro, de 35 vacas com reações negativas e que se positivaram entre duas sôro-aglutinações sucessivas, 15 abortaram (42,8%); em 22 rebanhos, com um total de 334 fêmeas vacinadas com a amostra B-19, observaram-se abortos em 33 de 78 que tinham reações positivas (42,3%). Os autores concluíram esse primeiro trabalho dizendo: "O tratamento com a micoína, das vacas recentemente infectadas, pela técnica que empregamos, se não suprimiu radicalmente os acidentes brucélicos, mostrou, pelo menos, resultados satisfatórios e encorajadores". Propõem, ainda mais, uma associação do tratamento com a vacinação.

Num segundo trabalho, Rossi não esconde o seu entusiasmo pelos resultados alcançados não só com a sua primeira experiência como, também, com as últimas que empreendera. A observação dos animais, decorridos mais de 3 anos do tratamento, mostrou que não se registraram abortos. Suas novas pesquisas orientaram-se, da mesma forma que as anteriores, para as fazendas em que a brucelose aparecera recentemente; só as fêmeas infectadas (sôro-aglutinação) foram submetidas ao tratamento, num total de 65 fazendas que possuíam 724 vacas, onde 116 (16%) haviam abortado 2 a 3 semanas antes; 389 eram positivas à sôro-aglutinação mas ainda não haviam abortado (231 com mais de 6 meses de gestação, 124 com menos de 6 meses e 34 não gestantes); foram tratadas 357, com injeções intravenosas de 0,35 g a 0,45 g de micoína diluída a 1/200 em solução salina, por 3 vezes, de 2 em 2 dias. Os resultados comparados foram os seguintes:

28% de abortos em 219 vacas não reagentes no momento do exame inicial e sem tratamento;

52% de abortos em 32 vacas reagentes e que não haviam sido tratadas, conservadas como testemunhas;

17,3% de abortos em 357 vacas reagentes e que foram tratadas; em 8 das 62 que abortaram, havia indícios, no momento em que foram tratadas, de que se iniciava o aborto.

Sabendo-se que a primeira incidência da brucelose numa fazenda provoca o aborto na maioria das fêmeas, a proporção de 17% de acidentes de gestação após o tratamento ainda é bastante favorável à terapêutica.

As experiências no Brasil foram feitas principalmente por THIAGO DE MELLO & Cols., em duas fazendas com infecção antiga e visaram mais ao controle bacteriológico após o tratamento. Além de menor número de abortos, constataram queda progressiva dos títulos de sôro-aglutinação (Fig. 145) e diminuição dos isolamentos de germes do leite e do sangue das vacas tratadas.

Levando-se em consideração que o critério de eficácia do tratamento da brucelose não pode basear-se numa única prova e sim num conjunto de observações, não se devendo absolutamente desprezar, para o caso especial dos bovinos, os resultados clínicos (diminuição ou desaparecimento dos abortos), o tratamento com micoína revela-se bastante promissor, sobretudo para os animais cujo valor compense o gasto com a medicação.

Não deve ser esquecido que, para qualquer antibiótico, por maior que seja a sua eficácia, os resultados são obtidos como tratamento e não como profilaxia; assim sendo, associar a vacinação com uma terapêutica eficiente, para os animais em que isto fôsse compensador, seria um bom recurso para a eliminação da doença numa propriedade.

Também na brucelose eqüina, em casos de mal de garrote, foram obtidos resultados favoráveis com a micoína, segundo Rossi.

Resultados completamente negativos foram obtidos por LARSEN & GILMAN, com a aureomicina, no tratamento da brucelose bovina.

---

## I — PROFILAXIA

É na profilaxia que se encontra o processo de solucionar com êxito o problema da luta contra a brucelose. As discussões sôbre o assunto têm sido intermináveis, o que demonstra a vitalidade dos esforços dispendidos no sentido de combater a zoonose. Aos poucos, porém, como resultado das campanhas em larga escala, procedidas em diferentes regiões, já se pode concretizar a tendência que parece a mais útil.

Observam-se duas grandes direções na campanha contra a brucelose animal: a eliminação dos reagentes e a vacinação. Acompanham estas medidas as normas profiláticas usuais nas doenças infecto-contagiosas: diagnóstico precoce, quarentena, desinfecção de locais, destruição de secundinas e fetos mortos, etc.

A eliminação dos animais infectados sendo uma medida drástica e dispendiosa, torna-se bem sucedida, conseguindo afastar o agente infectante, quando realizada tencnicamente com perfeição. A semelhança do que ocorre com a aftosa e a tuberculose, em condições idênticas, resultados satisfatórios são alcançados somente nos países que se dispõem a gastar grande capital e onde prevalece o acatamento às leis sanitárias, por parte dos proprietários de animais e das autoridades competentes. O sacrifício dos animais doentes tem sido mais aplicado na profilaxia da brucelose suína pela ausência de medida protetora contra esta, pela inexistência de qualquer tipo de vacinação e porque os suínos são relativamente mais baratos e mais prolíficos, sendo destinados apenas a produção de carnes e produtos derivados.

Para os bovinos, o sistema de eliminação, adotado, por exemplo, em alguns estados norte-americanos, tem reduzido consideravelmente as taxas de infecção sem conseguir, entretanto, erradicar a doença. O

sacrifício e a eliminação dos reagentes têm permitido prever a total erradicação da brucelose na Dinamarca, segundo THOMSEN e BRUHN.

Sôbre a vacinação, em virtude de sua grande importância na profilaxia, faremos uma revisão mais detalhada, posteriormente.

#### PLANO DE PROFILAXIA DA BRUCELOSE ANIMAL NO BRASIL \*

Em qualquer país, para a profilaxia da brucelose animal, é necessário seguir uma determinada orientação. A princípio, era bem difícil escolher uma norma entre as muitas oferecidas pela grande massa de trabalhos esparsos na literatura. Com o tempo, felizmente, algumas medidas gerais foram estabelecidas e o Grupo de Peritos em Brucelose, da WHO/FAO, divulgou-as recentemente, como transcreveremos adiante.

Para o caso especial do Brasil, a profilaxia da brucelose bovina, sobretudo, tem sido bastante prejudicada pelo desconhecimento das normas estabelecidas. Desejando cooperar com as autoridades do Ministério da Agricultura, um de nós (M.T.M.) elaborou, em 1951, um esboço de plano de profilaxia, que foi entregue à Divisão de Defesa Sanitária Animal e publicado no seu Boletim.

As bases para um plano profilático referente à brucelose, devem consistir, a nosso ver, inicialmente na mais ampla informação e divulgação de conhecimentos sôbre a doença e sua importância. Não é possível a colaboração dos criadores com as autoridades, se desconhecem a infecção e os seus efeitos; os próprios técnicos, muitas vezes, também não estão suficientemente informados, prejudicando enormemente a profilaxia com medidas unilaterais e inoperantes, contribuindo dêste modo para a desmoralização das campanhas, além da perda de tempo e do prejuízo financeiro.

Como os métodos profiláticos variam de acôrdo com o grau de incidência, é indispensável proceder a um levantamento prévio da distribuição da doença nos rebanhos, o que poderá ser feito com o auxílio da prova de anel em leite, como tem sido realizado, sob a nossa orientação, nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e outros. Em seguida, as provas de sôro-aglutinação, aplicadas aos animais suspeitos, pertencentes aos rebanhos infectados, bem como aplicadas aos suínos e caprinos, permitirão o conhecimento do que realmente existe.

De acôrdo com os resultados dêsse levantamento prévio, serão adotadas as normas profiláticas aconselháveis e necessárias para o caso, redundando numa enorme economia de pessoal e de material e na obtenção de resultados precisos, ao invés do desperdício e da desorientação comuns nas campanhas que têm sido iniciadas até o presente. Em geral, concede-se muita importância à elaboração de leis e à criação de órgãos especiais para contrôle, os quais, infelizmente, não conseguem o seu objetivo, revelando completa ineficiência, porque só a educação dos fazendeiros e dos técnicos permitirá, na verdade, a obten-

\* Parte do tópico sôbre o "Plano de profilaxia da brucelose animal" foi publicada em "Revista Militar de Remonta e Veterinária", 1952, 12(1):1-16, por Milton Thiago de Mello.

ção do êxito. De nada servem as instruções e regulamentos que não serão cumpridos por ignorância mais do que por manifesta intenção de burlá-los.

Portanto, em ordem decrescente de importância seriam as seguintes as medidas básicas para o plano de profilaxia da brucelose animal:

- I — Educação dos fazendeiros e dos técnicos, bem como da população em geral, a respeito da doença
- II — Levantamento da incidência da brucelose animal
- III — Normas profiláticas
- IV — Elaboração de leis especiais
- V — Criação ou adaptação de organizações especiais para a profilaxia

---

I — Educação dos fazendeiros, dos técnicos e das populações em geral.

A) *Dos fazendeiros e das populações.* Esta propaganda deverá ser feita, por todos os meios de divulgação possíveis, diariamente e mais de uma vez por dia. Insistente e objetiva, através de frases curtas, figuras e dados estatísticos significativos.

Os veículos de difusão poderão ser jornais, revistas agrícolas, emisoras radiofônicas, amplificadores, cartazes (em estações ferroviárias, praças e outros logradouros importantes, farmácias, prefeituras, delegacias fiscais, igrejas, cooperativas, exposições e feiras de animais), cinemas (letreiros, filmes, amplificadores), folhetos, exposições.

A propaganda educativa deverá focalizar os aspectos econômicos e sanitários.

Sob o ponto de vista *econômico* ressaltar os prejuízos causados pelas perdas de crias (abortos), esterilidade das fêmeas e morte dos animais jovens nascidos de vacas infectadas, daí a diminuição dos rebanhos e da produção de carnes, laticínios e gorduras.

Os aspectos *sanitários* (de saúde pública) deverão mostrar como se processa a transmissão ao homem, com a ingestão de alimentos contaminados (leite cru, carnes mal cozidas, etc.), pelo contacto com animais doentes (retirada de placentas, manuseio de animais infectados ou suas carcassas). Sobre os males que a brucelose determina no homem, apontar a incapacitação temporária ou permanente, total ou parcial, para o trabalho normal (dores localizadas ou generalizadas, reumatismo, enfraquecimento progressivo, magreza, suores, febre, nervosismo, neurastenia).

Um detalhe importante com relação à campanha educativa geral é o fornecimento dos endereços das autoridades sanitárias a quem os interessados poderão recorrer para maior esclarecimento.

Também pode ser prestada uma orientação sumária sobre os recursos pelos quais pode ser diagnosticada, tratada e evitada a doença. Acentuar a importância da pasteurização ou fervura do leite, do uso de alimentos bem cuidados e do afastamento dos animais doentes.

O objetivo principal duma campanha de educação dos fazendeiros e das populações em geral será obter a cooperação de todos no sentido de permitir e, mesmo, solicitar a presença de veterinários e de autoridades sanitárias nas fazendas e nos estabelecimentos leiteiros, para a realização de provas diagnósticas no sangue e no leite dos animais e, eventualmente, nos servidores desses estabelecimentos. Ainda mais, somente a educação permitirá a execução das medidas profiláticas aconselháveis em cada caso: evitar a entrada de animais infectados nos rebanhos sadios, impedir a transferência de gado doente dum rebanho para outro, isolar e sacrificar animais doentes, aplicar a vacinação nos animais na idade apropriada, estabelecer a higienização dos estábulos e currais, etc.

Apesar da simplicidade desses princípios gerais, imprescindíveis para a divulgação e o conhecimento perfeito da doença, tivemos oportunidade de ouvir, durante as reuniões da Comissão Nacional de Brucelose, uma delegação de técnicos estaduais afirmar o seguinte: "Considera-se de pouca utilidade uma vasta campanha de publicidade capaz de interessar técnicos e a população em geral. Imagina-se que grande soma terá de ser gasta numa propaganda de tal vulto em detrimento do reaparelhamento de laboratórios, contrato de técnicos e práticos para o trabalho efetivo da campanha, pelo interior, junto a cada criador". É bem verdade que, dentro dessa afirmativa, os próprios autores reconheciam a necessidade de uma campanha, embora de caráter individual, pelo interior e de fazenda em fazenda... Como se vê, torna-se preciso fazer a propaganda não só entre os fazendeiros e populações em geral, como também, entre os próprios técnicos.

B) *Dos técnicos* — Focalizando esta classe, vários recursos poderiam ser utilizados com as finalidades de facilitar e ilustrar a propaganda da campanha:

*Reunião preliminar das autoridades competentes:* Secretários de Agricultura e de Saúde dos Estados, Inspetores Regionais das Divisões de Defesa Sanitária Animal e de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Departamento Nacional da Produção Animal do Ministério da Agricultura, dos membros do Comitê Brasileiro de Brucelose, dos Médicos chefes de postos de Saúde do Interior e Veterinários das diversas repartições federais e estaduais, parlamentares, presidentes de cooperativas e demais pessoas interessadas. Nessa reunião, que, provavelmente, seria desdobrada em várias outras, sediadas em locais adequados, seriam expostas, discutidas e estabilizadas as bases para um plano de profilaxia e, também, acertada a participação das diversas entidades, no desenrolar da campanha.

*Estágios e cursos rápidos de treinamento,* em laboratórios especializados seriam muito importantes, não só para a familiarização dos técnicos com os métodos de trabalho a empregar, como para a revisão de conhecimentos atualizados sobre a doença e a sua profilaxia.

*Palestras e conferências* feitas por técnicos com maior experiência, com a finalidade de objetivar, esclarecer e solucionar as questões relacionadas ao assunto.

*Literatura* selecionada, acessível, se preciso mimeografada, seria distribuída, em grande quantidade, aos técnicos, às repartições e demais pessoas interessadas, sem qualquer ônus.

*Intercâmbio das autoridades com os técnicos*, incluindo-se a exposição dos trabalhos realizados, a verificação por meio de visitas frequentes e a apreciação de relatórios sucintos.

## II — Levantamento do índice de incidência

Até pouco tempo considerava-se impossível realizar o levantamento da incidência da brucelose no Brasil.

É bem verdade que o conhecimento do grau de disseminação da doença entre o gado quase selvagem dos pantanais de Mato Grosso, por exemplo, é praticamente impossível mas sendo o destino desses animais o corte e a sua criação abrangendo extensas áreas, a possibilidade de contágio diminui, inclusive pela constante exposição dos germes a agentes naturais poderosos aos quais não podem resistir por longo tempo. É para o gado que tem maior contacto com o criador, para o que é arrebanhado frequentemente e, sobretudo, para o leiteiro, que a atenção deve ser voltada primordialmente e para estes, só a inércia impedirá a realização de um trabalho que determinará o grau de incidência da infecção nos rebanhos. A prova do que afirmamos foi obtida recentemente, no estado de São Paulo, justamente onde até pouco tempo se considerava impossível obter uma estimativa aproximada; a operosidade do Dr. MARIO RIOS e seus colaboradores, do Instituto Biológico do Estado, permitiu avaliar, em alguns meses, num grande trabalho em equipe, a extensão da doença entre o gado leiteiro, com o emprêgo da prova de anel em leite.

A distribuição da brucelose bovina poderá ser determinada por meio de informações epidemiológicas ou pelas reações sorológicas.

Sendo a infecção bovina caracterizada clinicamente pelo aborto e pelas retenções placentárias, é muito fácil obterem-se informações dos fazendeiros, desde que eles estejam devidamente instruídos sobre a necessidade de sua cooperação. Podem ser colhidos dados relativos, por exemplo, ao total de animais do rebanho, ao aparecimento de abortos e retenções placentárias na propriedade, à proporção de fêmeas estéreis, etc. Outros elementos subsidiários dizem respeito a possíveis medidas tomadas com relação à brucelose, tais como a realização de soroaglutinações, os resultados obtidos e em que época, também o emprêgo da vacinação e o seu resultado nos rebanhos.

As reações sorológicas diagnósticas são principalmenete a soroaglutinação lenta e a prova de anel. Utilizando a primeira, todos os animais do rebanho podem ser examinados; com a segunda, só as fêmeas em lactação ou os seus leites misturados nos latões, o que possibilita, mesmo à distância, nas usinas, o reconhecimento de rebanhos infectados.

A prova de soro-aglutinação deve ser a lenta, em tubos. Um dos motivos do insucesso das campanhas profiláticas, em muitos países, concorrendo para a sua desmoralização, tem sido o emprêgo generalizado

da prova rápida, em placas. Alega-se que, pela simplicidade da sua técnica, somente ela poderá permitir o diagnóstico nas fazendas, onde não se tem a aparelhagem encontrada nos laboratórios. Foi a opinião da maioria dos técnicos presentes às reuniões da Comissão de Brucelose, em 1952, das quais participamos.

A prova de aglutinação em placas, realmente, teria utilidade, numa triagem preliminar, se tôdas as condições que ela exige fôsem rigorosamente seguidas. Mas não é isto o que se costuma observar. Antígenos não padronizados e obtidos, às vêzes, de amostras rugosas, material defeituoso e mal preparado (pipetas não padronizadas, quebradas e engorduradas, que deverão medir milésimos de mililitro), são utilizados na prova que declarará infectado o animal. Positivamente é querer exigir demais da prova rápida. Quanto à argumentação a favor da facilidade da execução no próprio estábulo, tem sido verificado que isto nem sempre ocorre. Frequentemente, os sangues colhidos em tubos, são enviados para o técnico, que realiza a prova quase sempre em local afastado da fazenda. Ainda recentemente, por exemplo, foi a norma adotada, por técnicos da Comissão de Brucelose do Ministério da Agricultura, recebendo de todos os Estados do Brasil, tubos contendo sôro ou sangue, para serem submetidos à prova rápida, *muitos dias depois de colhido o material e a milhares de quilômetros de distância das fazendas.*

Se a colheita pode ser feita na fazenda e o sôro ou o sangue enviado a longa distância, principalmente com os recursos de que se dispõem para a conservação e o transporte desses produtos (mertiolato a 1/10.000 e envasamento em frascos do tipo penicilina) o principal argumento contra a prova lenta fica removido. Resta a alegada dificuldade para a sua execução. Esta noção é completamente errônea. Qualquer laboratório organizado poderá efetuar centenas de provas, diariamente, sendo suficiente, apenas, saber fazê-las, o que não é difícil. As causas de êrro são muito menores do que as observadas na prova rápida e somente os seus resultados são precisos.

As provas de sôro-aglutinação, numa campanha profilática anti-brucelosa, deverão ser feitas em laboratórios regionais, estrategicamente localizados nas zonas de criação, para onde deverão convergir os soros ou os sangues. O restante dos soros usados na sôro-aglutinação, poderá ser enviado aos laboratórios centrais, para confirmação do diagnóstico, quando necessário, ou para outras pesquisas.

Para as provas de anel é preferível a sua realização nas usinas de laticínios, em latões individuais procedentes de cada fazenda, como norma de rotina nos trabalhos de contrôle sanitário do leite nas repartições disto encarregadas. Isso permitirá a identificação dos rebanhos infectados e a observação periódica de sua situação no tocante à brucelose. Se os leites são misturados durante o transporte para as usinas, é necessário realizar as provas na saída das fazendas. Os próprios fazendeiros, desde que convenientemente instruídos e alertados sobre a doença, poderão constantemente verificar as condições de seu gado leiteiro, relativamente à brucelose, pelo exame amiudado dos leites dos latões, por meio da prova de anel.

### III — Normas profiláticas

Depois de suficientemente instruídos fazendeiros, técnicos e populações, as medidas profiláticas são de execução relativamente fácil.

Os princípios serão adotados de acôrdo com a incidência e variáveis com as zonas criatórias e o tipo de criação.

Em qualquer caso, evitar que os animais identificados como doentes sejam transferidos dum rebanho para outro.

1) A primeira medida de ordem profilática é a *criação higiênica*, sob todos os pontos de vista, devendo a desinfecção dos currais e dos estábulos tornar-se rotina nas fazendas. É claro que para a criação extensiva haverá uma restrição nos benefícios; entretanto, isto não acontecerá para as criações intensivas.

O modo de desinfetar os locais é importante, para se obterem os melhores resultados, não bastando a aplicação do desinfetante sem uma orientação. Deve-se, preliminarmente, procurar desimpedir o local por meio de remoção de camas, palhas e estêrco, de tôdas as superfícies internas e externas, inclusive reentrâncias. Posteriormente, aplicar o desinfetante escolhido, tendo o cuidado, durante a operação, de esfregar bem. Diversas substâncias podem ser utilizadas para êsse fim, tais como, compostos fenicados e clorados. Os primeiros são bastante eficientes mas deixam no leite um cheiro desagradável. O ácido fênico ou fenol líquido deve ser usado na concentração mínima de 1,5%. Os compostos à base de cloro, como a mistura de hipoclorito de cálcio e cloreto de cálcio (com 30% de cloro livre), devem ser diluídos na proporção mínima de 1%.

Os compostos clorados são os usados, também, na desinfecção de material nas indústrias de laticínios.

2) *Sacrifício* ou *isolamento* dos animais infectados — Seria a medida mais razoável para a eliminação da brucelose animal, porém, como já foi citado antes, envolve problemas consideráveis pelo custo das indenizações. Nos rebanhos onde apenas poucos animais estejam doentes é aconselhável o sacrifício. O isolamento também é recurso bastante útil, em qualquer plano de profilaxia pois, sendo a maior quantidade de brucelas eliminada durante o parto, consegue-se, pelo isolamento das fêmeas na época de terem crias, limitar a zona a ser desinfetada. Se as vacas estiverem isoladas, os abortos, também fontes disseminadoras de germes, não constituirão perigo de contágio tão grande para os animais sadios.

A tendência atual e generalizada não é mais de simples isolamento ou sacrifício e sim, da combinação destas medidas com a vacinação.

3) *Vacinação* — É a vacinação que constitui, atualmente, o principal recurso na luta contra a brucelose.

A melhor vacina em uso é a feita com a amostra atenuada de *Br. abortus*, chamada B-19, isolada pelos pesquisadores do "Bureau" de Indústria Animal dos Estados Unidos. Deve ser feita com rigorismo de técnica e aplicada nas bezerras de 4 a 8 meses de idade (no máximo até 10 meses).

Outros aspectos do uso da vacina B-19 são os relativos às vias para o seu emprêgo. Experiências efetuadas por GREGORY parecem indicar que injeções intracaudais de 1 ml de vacina B-19 conferem a mesma proteção que as inoculações comuns de 5 ml subcutâneamente; além disto a aplicação da vacina é feita com grande economia.

Quanto ao período de proteção conferido pela vacina B-19, não parece ser muito longo, conforme se depreende das experiências de BEACH & Cols., que verificaram, em vacas vacinadas quando bezerras, que após a 3.<sup>a</sup> gestação, a proteção era menor do que depois da primeira.

A B-19 ainda não é uma vacina definitiva porque não dá uma proteção total contra contaminações maciças, é capaz de provocar doença humana e, quando aplicada em animais adultos, apresenta uma série de inconvenientes graves, que serão vistos adiante.

Dentro da imensa literatura sôbre vacinação contra a brucelose, diversos trabalhos têm focalizado o problema dos tipos de vacinas para prevenção da brucelose bovina, devendo destacar-se os de GENEST, de VERGE, de SZYFRES & Cols. e as publicações do Grupo de Peritos em Brucelose, da WHO/FAO.

Na evolução das vacinas tem sido observado o seguinte: uso de vacinas com brucelas mortas, vacinas com germes vivos virulentos, e outras com amostras vivas atenuadas e não virulentas. Dentre as últimas destacam-se a *Br. abortus* B-19, de BUCK, COTTON & Cols., a amostra 45/20, de McEWEN, a amostra mucóide de *Br. suis*, de HUDDLESON e a MBB de ROSENBUSCH & GONZALEZ.

As vacinas feitas com germes mortos, em geral, não conferem proteção. As preparadas com bactérias vivas virulentas, que estiveram em evidência na Europa e chegaram a ser fabricadas e usadas no Brasil, além de não protegerem devidamente, representam grande perigo porque espalham a doença e a introduzem em rebanhos sadios. As vacinas obtidas de germes vivos atenuados, utilizando amostras selecionadas de brucelas, têm tido, nos últimos 25 anos, seu emprêgo muito difundido.

Em 1920, isolaram-se na Argentina, três amostras de brucelas que, repicadas em meios com soros, perdiam a virulência e, quando inoculadas em animais, não determinavam nos mesmos o aparecimento de aglutininas, conferindo-lhes proteção contra germes virulentos. Desde então, foram empregadas em mais de 1 milhão de bovinos, de tôdas as idades, segundo revelou ROSENBUSCH, em 1947, com apreciável redução do número de abortos. Essa vacina tem sua aplicação praticamente limitada à República Argentina.

Cêrca de 10 anos depois, COTTON & Cols. estudaram uma amostra de brucela que, injetada em animais, não determinava a doença mas fazia com que aparecessem aglutininas no sangue; êsse germe, empregado vivo, como vacina, diminuía consideravelmente a quantidade de abortos. O "Bureau" de Indústria Animal dos Estados Unidos passou a fabricar em larga escala a vacina com essa amostra, hoje mundialmente conhecida como B-19. Fêz-se grande propaganda e, em con-

seqüência, vem sendo aplicada em milhões de animais, por tôda parte. Os resultados, que a princípio pareciam dos mais animadores, trazendo a esperança de solucionar o problema da brucelose, deixam ainda muito a desejar porque, em brucelose animal, não basta a vacinação; é necessário acompanhá-la de outras medidas profiláticas que, muitas vêzes, foram e são deixadas de lado, em virtude do entusiasmo e da confiança que a vacina acarreta. Contra o emprêgo da B-19 levantam-se diversas objeções, origem de grande polêmica científica. Entre os seus mais graves inconvenientes convém assinalar a possibilidade de produzir infecção humana, de determinar abortos quando injetada em fêmeas grávidas e de provocar o aparecimento de aglutininas persistentes quando usada em animais adultos. Com tôdas essas desvantagens, a vacina feita com a amostra B-19 ainda é o melhor agente imunizante de que se pode dispor para a profilaxia da brucelose, desde que aplicada em bezerras de 4 a 10 meses de idade.

Na Inglaterra foi utilizada com algum sucesso uma vacina viva atenuada, feita com a chamada amostra 45/20, de McEWEN, a qual não gera aglutininas sendo, em certos aspectos, superior à amostra B-19.

Um dos tipos mais recentes de vacina obtida com germes atenuados é a originada da amostra mucosa de *Br. suis*, estudada por HUDDLESON, a qual, injetada em animais, não determina a doença nem o aparecimento de aglutininas, protegendo-os contra inoculações de germes virulentos. As experiências iniciais foram bastante promissoras mas relatórios recentes (WOODS; BERMAN & IRWIN) têm demonstrado que seu efeito protetor é precário, inferior ao da B-19.

Revedo a literatura sôbre as vacinas antibrucelosas feitas com amostras vivas, de virulência atenuada, GENEST assinala que cêrca de uma dezena de produtos tem sido empregada, relacionando-os cronolôgicamente, da seguinte forma:

Vacina MBB, de ROSENBUSCH & GONZALEZ (1920)

Vacina de HUDDLESON (1922)

Vacina biliada, de BURNET (1928)

Vacina B-19, de BUCK (1930)

Vacina P, de DUBOIS & SOLIER (1932)

Vacina lanolinada, de DUBOIS (1935)

Vacina 45/20, de McEWEN (1937)

Vacina com antígeno glúcido-lipídico e amostra B-112, de LISBONNE & Cols. (1938)

Vacina M, de HUDDLESON (1947)

A êsses tipos podemos acrescentar as vacinas feitas com amostras de brucelas que exigem estreptomomicina para seu desenvolvimento, estudadas por OLITZKI & Cols., em Israel, e por ELBERG & Cols., na Califórnia e citadas no capítulo da Etiologia (resistência aos antibióticos).

Decrescendo o entusiasmo pelas vacinas vivas, feitas com germes atenuados, vêm sendo retomadas as pesquisas, utilizando processos modernos, para obtenção duma vacina morta que seja eficiente na proteção do gado. Destas, a que parece destinada a emprêgo generalizado,

para bovinos e outros animais (o que não acontece com a B-19), é a vacina de LIVE, que consiste numa suspensão de *Br. abortus*, morta pelo éter e misturada com adjuvantes oleosos (óleo de parafina ou "Falba"). Recentemente, LIVE expôs as vantagens desse tipo de vacina que são, em resumo, as seguintes:

a) *Br. abortus* morta pelo éter e misturada com adjuvante, parece constituir um agente vacinatório eficiente, cujo estudo deve ser intensificado;

b) Destinada à vacinação do gado adulto, sobretudo, podendo ser injetada em animais, em qualquer período de gestação e estando afastada a possibilidade de transmitir-lhes a infecção;

c) Sob o ponto de vista da saúde pública, não há inconveniente no emprego da vacina morta no gado leiteiro, porque não se inoculam no organismo germes vivos suscetíveis de serem eliminados pelo leite;

d) Pode utilizar-se a vacina morta, em dose estimuladora, no gado adulto, vacinado quando jovem, se houver necessidade de revacinação.

Deve ser notado, contudo, que o título de aglutininas resultante da injeção da vacina morta misturada com adjuvante mantém-se por muito tempo (resultado idêntico é obtido com o emprego da vacina B-19 no gado adulto).

Outro tipo de vacina morta que poderá fornecer bons resultados é o que utiliza suspensões de brucelas inativadas com luz ultravioleta, como o fizeram SCHLINGMAN & MANNING com uma amostra virulenta de *Br. abortus*.

O emprego de vacinas liofilizadas deve ser incrementado, principalmente no Brasil, onde condições climáticas e de localização de fazendas não permitem a conservação, por muito tempo, do material sob a forma líquida, pois esta exige baixa temperatura. A esse propósito devem ser consultados os trabalhos de BOSGRA e de VERWEY, citados no capítulo da resistência das brucelas aos agentes físico-químicos.

É preciso não esquecer que, em geral, se mede a eficiência da vacina contra a brucelose bovina pela diminuição dos abortos. Este fato constitui o índice da eficácia das melhores vacinas e é o resultado comumente obtido, após o seu emprego. Entretanto, o que se deve objetivar é a obtenção de uma vacina que seja realmente antibrucelosa e não apenas antiabortiva, pois, neste último caso, pode, muitas vezes, existir a infecção sem que exista o aborto.

Sobre a idade adequada para a vacinação dos bovinos convém lembrar que os melhores resultados são os obtidos quando os animais são vacinados dos 4 aos 8 meses de idade.

A opinião da grande maioria dos pesquisadores dedicados ao estudo da brucelose, inclusive a dos componentes do Grupo de Peritos em Brucelose da WHO/FAO, reunidos em Washington, em 1950, é contrária à vacinação de adultos ou apenas a admitem em casos muito excepcionais e nunca indiscriminadamente.

Durante a elaboração das instruções para a profilaxia da brucelose em nosso País, organizadas inicialmente pela Comissão Nacional de

Brucelose, do Ministério da Agricultura, invocaram-se experiências feitas no exterior, principalmente nos Estados Unidos, e as realizadas em nosso País, no estado de São Paulo, para justificar a vacinação do gado adulto.

Os principais estudos sôbre o assunto devem-se a TRAUM e seus colaboradores, na Califórnia. Contudo, o exame cuidadoso dos seus trabalhos não prova uma superioridade do método que seja suficiente para estabelecer o seu uso generalizado, como tem sido aconselhado; aliás, o próprio TRAUM sômente recomenda êsse tipo de vacinação para casos especiais.

Também as experiências de D'APICE & PENHA, republicadas em diversos trabalhos de D'APICE, (ver Capítulo da Bibliografia Nacional), não são convincentes das vantagens da vacinação do gado adulto e os resultados práticos obtidos em 10 anos de trabalho, não mostraram efeito benéfico na profilaxia da brucelose no estado de São Paulo.

Uma observação muito interessante, de HARING & TRAUM, num dos seus artigos, e que foi esquecida pelos adeptos da vacinação do gado adulto, é de que a vacina B-19, quando empregada nas vacas em gestação é, por si só, capaz de causar o abôrto; além disto, é incapaz de impedir os abortos, quando o grau de infecção do rebanho fôr muito elevado. Ora, isto é justamente o contrário do que tem sido apregoado pelos defensores da vacinação indiscriminada. Também HARING & TRAUM alegam não existir, aparentemente, razão alguma para vacinar gado reigente, quer sob o ponto de vista teórico, quer levando em conta os resultados obtidos.

Muitos outros trabalhos existem a respeito das limitações da vacinação do gado adulto e, nos poucos países em que a mesma é permitida, isto só é feito com cautelas especiais. O relatório da Comissão de Aspectos Sanitários da Brucelose, do Conselho Nacional de Pesquisas, dos Estados Unidos, ao comentar o Plano D, norte-americano, que permite a vacinação de gado adulto, em condições quase excepcionais, assim se refere: "Vacinação de adultos: Deve ser usada apenas quando tenha recebido aprovação por escrito das agências de cooperação estaduais ou federais, antes do período de vacinação. Deve ser limitada aos rebanhos em que haja evidência de rápida disseminação de infecção virulenta, indicando a necessidade de medidas de emergência, e apenas depois que o proprietário tenha sido informado, por escrito, de que a vacinação de seus animais adultos pode não evitar o espalhamento da infecção. Os rebanhos em que a vacinação de adultos vai ser adotada, devem ser submetidos à prova de aglutinação, antes da vacinação, e os reagentes identificados, sendo a vacina administrada sômente nos animais sem brucelose, dentro de 10 dias após a realização da prova oficial". (SPINK & Cols.).

A propósito, ainda, da vacinação do gado adulto, um de nós (M.T.M.), publicou, recentemente, um comentário sôbre as decisões tomadas pela comissão elaboradora das instruções para a profilaxia da brucelose, do qual transcrevemos o seguinte:

"Em 1951, apresentamos à Divisão de Defesa Sanitária Animal do Ministério da Agricultura um esboço de Plano de Profilaxia da Bruce-

lose Bovina, em o qual não era aconselhada a vacinação do gado adulto e sim a dos bezerros, ao lado de rigorosas medidas higiênicas, que são de extrema importância.

Essa e outras circunstâncias fizeram com que se organizasse, logo depois, uma Comissão Nacional de Brucelose no Ministério da Agricultura, destinada a elaborar um Plano de Profilaxia da Brucelose Animal (Port. n.º 330, de 21-3-1952, do Ministério da Agricultura), sob a presidência do Dr. ALUÍZIO LOBATO VALLE (Port. n.º 331, de 21-3-1952, do Ministério da Agricultura) e constituída dos Drs. CÍCERO NEIVA, GENÉSIO PACHECO, JOSÉ BIFONE, MILTON THIAGO DE MELLO, LUIZ RAYMUNDO TAVARES DE MACEDO e LEONHARD RIEDMULLER (Port. n.º 35, de 18-6-1952, do Departamento Nacional da Produção Animal).

A Comissão reuniu-se por diversas vezes, dela resultando um plano inicial em que não se recomendava a vacinação do gado adulto como norma de profilaxia, embora alguns dos membros da Comissão fôssem partidários dessa vacinação. Prevaleceu a opinião, que julgamos acertada, de não aconselhar a vacinação do gado adulto como recurso profilático e sim a dos bezerros de 4 a 8 meses de idade, como é feito em quase todos os países do mundo onde existe serviço oficial de profilaxia da brucelose bovina.

Pronto êsse plano, foram convidados alguns representantes de instituições oficiais de certos pontos do País, para tomarem conhecimento dêle e oferecerem sugestões. Disso resultou que o anteprojeto fôsse alterado em diversos trechos, às vezes com evidentes prejuízos para uma conduta séria no que diz respeito à profilaxia da brucelose. Um dos pontos alterados foi o relativo à vacinação do gado adulto, que passaria a ser praticamente indiscriminada.

Tendo a maioria dos membros da Comissão ficado de acôrdo com essa alteração, formulamos o nosso voto discordante, por escrito, no que fomos acompanhados pelo Dr. GENÉSIO PACHECO, que teceu comentários sôbre o assunto nesta revista, por essa época (Brasil-Médico, 1953, 67 (1-2): 18-19). Também manifestou seu ponto de vista, discordando da vacinação de adultos, o Dr. JOSÉ BIFONE. O então Diretor da Divisão de Defesa Sanitária Animal, Dr. ALTAMIR GONÇALVES DE AZEVEDO, presente à discussão final, também declarou-se contrário à vacinação de gado adulto mas seu voto não foi computado em virtude de não fazer parte da Comissão.

Eis a íntegra do voto em separado:

“O anteprojeto das “Instruções para o combate à brucelose animal”, em discussão, prevê a vacinação de adultos, conforme acaba de ser lido, ao contrário do que propusera a Comissão Nacional de Brucelose, em seu trabalho inicial.

O anteprojeto do “Plano de profilaxia da brucelose animal” declarava:

“A Comissão, atendendo a uma série de circunstâncias próprias ao nosso País, não recomenda a vacinação de adultos”. As “Instruções”, que acompanhavam o Plano, não se referiam especificamente ao assunto, prevendo, apenas, quanto à vacinação, a de bezerros entre 4 a 8 meses de idade. Pôsto o assunto em debates com os

representantes de alguns Estados e com outros técnicos, foi introduzido um novo artigo nas "Instruções" permitindo a vacinação do gado adulto.

Achando que a vacinação do gado adulto contra a brucelose, com a amostra B-19, deve permanecer em caráter experimental, portanto absolutamente controlada, em discordância com o que prevê a nova redação das "Instruções", votamos contrariamente.

*Justificação:*

I — A vacinação indiscriminada de animais, de qualquer idade e em qualquer fase de gestação, independentemente de seu estado de infecção, fará com que sejam vacinados: a) animais infectados; b) vacas em gestação.

a) Os animais infectados continuarão infectados, espalhando brucelas, embora o criador tenha a falsa impressão de que estão protegidos. Isso constituirá gravíssimo problema da Saúde Pública.

b) As vacas em gestação poderão abortar em conseqüência da vacinação. As observações nesse sentido são numerosas, dos próprios adeptos da vacinação de animais adultos.

II — A vacinação de adultos, mesmo não infectados, faz com que os títulos aglutinantes da vacinação se mantenham por vários anos, na maioria dos animais, prejudicando quaisquer medidas profiláticas que possam ser tomadas, baseadas na soro-aglutinação.

III — A vacinação de animais adultos não evita que os animais já infectados abortem e em nada altera o curso de sua infecção.

Rio de Janeiro, 21 de Novembro de 1952.

as.) MILTON THIAGO DE MELLO  
GENÉSIO PACHECO".

O anteprojeto foi, afinal, enviado às autoridades competentes. A Comissão parece ter sido dissolvida ou, então, passou a ter existência teórica. Finalmente, passado exatamente um ano, saem publicadas as "Instruções para o combate à brucelose animal", assinadas pelo Diretor-Geral do Departamento Nacional da Produção Animal (D. Oficial, Seção I, 20-11-1953, pág. 19.935). Além de outros pontos discutíveis que não cabe comentar na presente nota, lá está:

"Art. 14 — A vacinação de adultos só será praticada a critério da autoridade veterinária competente, nas seguintes condições:

I) Nas criações extensivas, onde houver infecção e não fôr possível a adoção de medidas propostas nas presentes instruções;

II) Nas criações de gado leiteiro de alta produção ou de gado puro, indenes de brucelose".

Tornou-se oficial, portanto, o que em parte alguma é praticado, a não ser em condições experimentais ou extralegais, ou, então, com severas restrições. No próprio país em que se levantou a idéia de vacinação de gado adulto, vivamente combatida pela maioria de seus técnicos, apesar de feita sob rigoroso contróle (Estados Unidos), fazem-se ressalvas ao método. Assim, por exemplo, TRAUM — o maior propagan-

dista da vacinação de gado adulto, nos Estados Unidos, e o primeiro a experimentá-la — declara enfaticamente:

“Deve ser dito, entretanto, que mesmo os mais antigos defensores da vacinação de adultos, e nós, na Califórnia, estamos entre esses advogados, não recomendamos a vacinação indiscriminada no gado adulto”. (Brucellosis, A Symposium, Bethesda, 1949:225-235).

Mais recentemente, Dr. C. K. MINGLE, da Divisão de Erradicação da Brucelose e da Tuberculose, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, fez um relatório sobre o “Programa em cooperação para a profilaxia e a erradicação da Brucelose” nos Estados Unidos. Esse trabalho foi apresentado à 57.<sup>a</sup> Reunião Anual da “United States Livestock Sanitary Association”, em setembro de 1953. Ao lado duma série de considerações que bem deveriam ser conhecidas dos que pretendem fazer profilaxia da brucelose no Brasil, encontra-se o seguinte tópico sobre a vacinação com a amostra B-19:

“Como tem sido verificado desde 1940, quando a vacinação obteve reconhecimento oficial, o número de vacinações oficiais aumentou novamente durante o ano passado (Julho 1952-Junho 1953), atingindo a soma de 3 688 149, um aumento de 16% sobre o ano precedente. *Embora o entusiasmo pela vacinação dos bezerras esteja sendo mantido e geralmente ampliado, existe uma tendência crescente para evitar a vacinação de adultos, tanto quanto possível. Como resultado de educação e experiência, a maioria dos proprietários de gado estão reconhecendo que as desvantagens relacionadas com a vacinação em idade mais avançada, ultrapassam de muito quaisquer benefícios que esta prática possa dar*”. (57th Ann. Meet. U. S. Livestock San. Ass., Sept. 23-25, 1953, Atlantic City, New Jersey)”.

Outras medidas profiláticas serão vistas na transcrição das conclusões do Grupo Misto de Peritos em Brucelose da WHO/FAO. Antes, porém, é interessante referir trechos do relatório da Comissão do Conselho Nacional de Pesquisas norte-americano, anteriormente citada, que funcionou sob a presidência de SPINK. Em certo ponto declara: “A confusão que tem existido deve ser atribuída, em grande parte, aos ardentes partidarismos dos diversos veterinários a diferentes planos. Em muitos casos, uma boa vontade para aceitar o que se conhece sobre a brucelose, em vez de aderir dogmáticamente ao “plano de estimação”, resultaria em menor confusão por parte do proprietário e do veterinário. Uma das dificuldades tem sido a falta de acôrdo a respeito de processos básicos e de sua aceitação em escala nacional. Em vez de caminharem juntos no contrôle e na erradicação da brucelose, todos têm, em muitos casos, seguido o método mais fácil de criticarem-se uns aos outros. Muitas horas têm sido gastas em discussões acaloradas de detalhes que deveriam ter sido deixados a pessoas mais próximas do trabalho no assunto”.

#### IV — Elaboração de leis especiais

A legislação sobre brucelose, em nosso meio, deve ser feita paulatinamente, tendo em vista que as novas leis não devem colidir com as

anteriores, evitando que se anulem pela execução. Poderiam relacionar-se com os seguintes pontos:

— Obrigatoriedade, por parte dos criadores, em permitir que sua propriedade seja visitada pelos veterinários oficiais e autoridades sanitárias, sempre que necessário.

— Proibição de entrada de bovinos nos rebanhos do País, quando não possuírem atestado de soro-aglutinação negativa ou de vacinação aos 4 a 8 meses, com a vacina B-19.

— Proibição de importação de caprinos oriundos dos países banhados pelo Mediterrâneo, bem como, dos Estados Unidos, México e Argentina.

— Quarentena obrigatória para os animais importados (bovinos, suínos e caprinos).

— Proibição de registro de animais que não venham acompanhados de atestados de soro-aglutinação negativos ou de vacinação aos 4 a 8 meses de idade.

— Padronização das vacinas do tipo B-19.

— Padronização dos antígenos e técnicas diagnósticas.

#### V — Organizações a criar ou adaptar

Ao contrário do que geralmente se admite, a criação de novos órgãos controladores não é essencial para o bom êxito duma campanha profilática antibrucelosa. Esta deverá desenvolver-se em estreita cooperação com as autoridades federais e estaduais (Ministérios da Agricultura, da Guerra, da Saúde e da Educação, Secretarias de Agricultura e de Saúde), sendo suficiente, no início, destacar alguns funcionários das repartições interessadas, que agiriam sob a direção duma Comissão Central, podendo contar com o auxílio voluntário de estudantes de veterinária, medicina e farmácia.

Estudado o território nacional, sob o ponto de vista criatório, seriam distribuídos, conforme a necessidade, os laboratórios regionais, essencialmente destinados ao diagnóstico da infecção, tanto no homem como nos animais. Esses laboratórios funcionariam nas próprias repartições interessadas, ou em cooperativas, coordenando a distribuição de vacinas, além de atuar como fonte de informações sobre a doença.

O problema da condução seria solucionado com a utilização, em número suficiente, de viaturas, de preferência "jeeps", dada a facilidade de acesso desses veículos a locais, às vezes inacessíveis para outros meios de transporte.

Em determinados pontos do País seriam instalados ou adaptados, laboratórios ampliados, que se encarregariam do fabrico da vacina e de antígenos, rigorosamente de acôrdo com as técnicas padronizadas adotadas em estabelecimentos oficiais do País ou do estrangeiro. Esses centros resolveriam os casos especiais que não tivessem solução nos pequenos laboratórios regionais, e funcionariam, por exemplo, sob a orientação técnica do Comitê Brasileiro de Brucelose (órgão filiado ao Co-

mitê Interamericano de Brucelose, Repartição Sanitária Pan-americana e Organização Mundial de Saúde).

Num programa de intensa cooperação, os laboratórios centrais poderiam utilizar instalações já existentes (Estabelecimentos educacionais e Instituições científicas e de Saúde Pública, etc.), bem como o respectivo pessoal, previamente treinado em organizações idôneas (Instituto Oswaldo Cruz, Instituto Biológico de São Paulo, Instituto de Biologia Animal, etc.).

---

Concluindo o capítulo de Brucelose Animal, transcrevemos os trechos de maior interesse do relatório do Grupo de Peritos em Brucelose da WHO/FAO, as Instruções para o combate à brucelose animal no Brasil, atualmente em vigor, e a técnica padronizada de preparo da vacina B-19.

*Anexo I* — A brucelose nos animais.

*Anexo II* — Instruções para o combate à brucelose animal.

*Anexo III* — Preparo da vacina de *Br. abortus* amostra 19.

---

## ANEXO I

### A BRUCELOSE NOS ANIMAIS

(Transcrição de "Raport sur la Première Session du Groupe Mixte WHO/FAO d'Experts de la Brucellose", Organization Mondiale de Santé, Série de Rapports Techniques, 1951, 37:12-21).

#### *Exposição geral*

A luta contra a brucelose dos animais e a eventual erradicação desta repousam em dois princípios gerais: proteger os animais contra a infecção e aumentar a resistência do animal suscetível. Para êsse fim pode-se recorrer a três métodos gerais:

- 1) eliminação dos animais infectados, depois de provas diagnósticas;
- 2) vacinação;
- 3) combinação desses dois métodos.

Qualquer que seja o método aplicado, é essencial realizar a limpeza dos locais e assegurar a observação das regras higiênicas. Neste relatório, os termos "higiene" e "limpeza" referem-se às práticas administrativas e às operações materiais que permitam desinfetar os locais e prevenir a infecção. Essas práticas e processos, no caso da brucelose, compreendem a eliminação do feto abortado, da placenta, das excreções e dos materiais contaminados (fêno, palha, poeiras, objetos sujos, etc.) que podem fornecer abrigo às brucelas. O isolamento dos animais infectados, no momento do parto e nos dez dias seguintes, ou até

que desapareçam as secreções vaginais, constitui, igualmente, uma importante medida higiênica. Além disso, as medidas tomadas em relação aos machos, principalmente aqueles que são utilizados na inseminação artificial, serão objeto de vigilância e terá cabimento a eliminação dos animais infectados. Os materiais contaminados serão removidos ou desinfetados, de modo a impedir a contaminação das águas potáveis, cursos d'água, pastagens, currais e objetos diversos. Os métodos de destruição recomendáveis são o enterramento ou a incineração.

A frequência da infecção bem como a situação econômica e o grau de educação das populações variam de acordo com as regiões. É indispensável, portanto, que os métodos sejam adaptados especificamente aos países, às regiões e aos rebanhos interessados.

*Já se revelou possível extirpar a doença dos países, de regiões ou rebanhos pela simples eliminação dos animais com reação positiva.* Da mesma forma, provou-se que podia ser diminuída a frequência da doença, em proporções elevadas, recorrendo-se exclusivamente à vacinação; as vantagens e os inconvenientes dos métodos de vacinação, porém, devem ser cuidadosamente analisados antes que se decida recorrer a eles. Qualquer que seja, aliás, o método de combate utilizado, o fim desejado, em última análise, deve consistir na eliminação da doença.

Nos rebanhos e nas regiões onde a doença existe no estado agudo, a vacinação é o método de escolha; todavia, não tem cabimento considerá-la como solução definitiva. Nos rebanhos e nas regiões em que o número de animais dando reação positiva é relativamente pouco elevado (menos de 10%), convém utilizar o método 1 anteriormente citado (prova e eliminação) ou o método 3 (prova e eliminação associada à vacinação), de acordo com as condições reinantes no rebanho ou na região.

#### *Métodos de diagnóstico*

a) *Provas de soro-aglutinação* — A prova de soro-aglutinação em tubo é considerada o método de diagnóstico mais seguro para descobrir a infecção no animal. A prova rápida em lâmina, com a condição de ser comparada e ajustada à prova em tubo, e de ser executada com todo o cuidado necessário, pode substituir, na prática, a prova de aglutinação em tubo, quando esta não puder ser efetuada.

b) *Prova de fixação de complemento* — Os resultados da prova de fixação de complemento são relativamente comparáveis aos da prova de aglutinação; todavia, considerando que a primeira não fornece, em geral, indicações mais precisas para o diagnóstico e que é mais complicada para execução que a segunda, é preferível usar a prova de aglutinação como reação corrente ou padrão, de diagnóstico sorológico. A prova de fixação de complemento pode dar lugar a maiores erros de técnica.

c) *Prova de anel em leite ou ABR ("Abortus Bang Ringprobe")* — A reação do anel no leite ou no creme, que tem sido revista recentemente, constitui uma prova útil de presunção ou de triagem, para assinalar os rebanhos infectados. Ela também é útil como adjuvante da prova de soro-aglutinação para controlar a doença nos rebanhos in-

denes, assim como nas regiões pouco infectadas (proporção de rebanhos dando reação positiva inferior a 10%). Nas regiões em que não é possível proceder a provas de sôro-aglutinação, a prova de anel pode ser utilizada para determinar a extensão aproximada da infecção.

Pode-se pensar que esta prova apresente utilidade como prova de presunção nos estudos epidemiológicos visando a encontrar a origem dos casos de doença no homem.

d) *Outras provas diagnósticas* — Outros métodos de diagnóstico, tais como as hemoculturas, as provas de fixação de complemento em material placentário, o exame bacteriológico e biológico de materiais suspeitos e o exame microscópico, de preferência pelo método de coloração de KÖSTER ou uma de suas modificações são recomendados nos casos em que podem ser aplicados. É desejável prosseguir as pesquisas a respeito de outras provas diagnósticas.

(Método de coloração de KÖSTER modificado: Esta coloração é utilizada para o exame dos materiais placentários. Durante as pesquisas efetuadas no Laboratório Nacional de Sorologia Veterinária de Copenhague, constatou-se que, com o método modificado de KÖSTER, o número de casos positivos descobertos a partir de exames de placenta aumentou de 10% em relação aos resultados obtidos com o método habitual de coloração com azul de metileno fenicado. *As brucelas são coradas em vermelho, contrastando nitidamente com a coloração azul ou violeta do fundo.* Entre os bacilos comuns descobertos nos esfregaços de placenta, apenas *Brucella* e *Mycobacterium tuberculosis* se coram em vermelho. A coloração é feita da seguinte maneira: 1) Secar o esfregaço e fixá-lo na chama; 2) corar durante cêrca de 1 minuto com uma mistura de 2 partes de solução saturada de safranina e de 5 partes de solução normal de potassa (KOH). As soluções de safranina e de KOH são misturadas imediatamente antes de seu emprêgo; 3) lavar em água corrente; 4) recobrir com uma solução a 0,1% de ácido sulfúrico durante 10 a 20 segundos; 5) lavar minuciosamente; 6) contraporar com uma solução comum de azul de metileno fenicado durante 2 a 3 segundos).

### *Vacinas*

Uma vacina ideal para prevenir a brucelose nos animais:

- 1) Confere proteção suficiente;
- 2) É inofensiva, ou seja, é morta ou relativamente avirulenta e não tem nenhuma tendência para aumentar a virulência no organismo do animal;
- 3) Provoca um mínimo de interferência com a prova de sôro-aglutinação;
- 4) É fácil de preparar, de conservar e de distribuir.

Numerosas vacinas atenuadas têm sido preparadas e experimentadas em diversos países. Entre elas, a vacina feita com a amostra 19 revelou-se a mais eficaz sob o ponto de vista de imunidade, grau de proteção conferido e facilidade de preparo.

Vacinas vivas, de virulência elevada ou desconhecida, foram utilizadas outrora mas seu emprêgo pode propagar a infecção e deve ser abandonado.

As vacinas mortas, em solução salina, não têm valor algum. As vacinas mortas em solução oleosa, revelaram-se capazes de conferir proteção apreciável mas são difíceis de preparar e são inferiores à amostra 19 para proteger os animais contra uma infecção forte. As vacinas mortas pelo éter, associadas a adjuvantes e a certos extratos de brucelas deram resultados encorajadores em animais de experiência mas é necessário prosseguir o estudo, antes dum pronunciamento a respeito de sua eficácia.

Se bem que até o presente a amostra 19 satisfaça de mais perto aos critérios sôbre uma vacina ideal, é de se desejar que as pesquisas sejam continuadas.

*A vacinação deve limitar-se aos animais não infectados.*

#### *Vacinação do gado com a amostra 19*

Se bem que a eficácia da vacina feita com a amostra 19 seja reconhecida, geralmente, é necessário examinar certos fatores que devem ser levados em consideração para que sejam obtidos melhores resultados.

*A proteção conferida pela vacinação com a amostra 19 é relativa e não absoluta.*

A propriedade da amostra 19 de provocar a resistência no animal depende diretamente do tipo da colônia e da vitalidade das células que a constituem.

A proteção que confere ao gado adulto a vacinação com a amostra 19 é considerada comparável à que se obtém nos bezerros quando êstes são vacinados na idade recomendada. (Os bezerros são, em geral, vacinados entre 6 e 8 meses. A vacinação depois do 8.<sup>o</sup> ou 9.<sup>o</sup> mês quase sempre determina reações positivas prolongadas à prova de sôro-aglutinação, enquanto a vacinação praticada antes do 4.<sup>o</sup> ou 5.<sup>o</sup> mês pode não conferir imunidade satisfatória). Todavia, *em virtude das desvantagens manifestas da vacinação do gado adulto*, não se deve recorrer a esta prática a não ser em caso de emergência, quando não fôr possível adotar medidas mais apropriadas. Reações de aglutinação persistentes são observadas geralmente nos animais adultos vacinados e pode sobrevir abôrto em consequência da vacinação de fêmeas grávidas.

Não se dispõe de dados suficientes para determinar se a resistência vacinal produzida em animais de idades comparáveis é influenciada pelo estado da gestação.

É necessário levar em consideração um certo número de fatores práticos que podem modificar a duração e a utilidade da resistência conferida pela vacina. Entre êsses fatores devem ser mencionados:

- 1) O grau de exposição à infecção;
- 2) A virulência da amostra infectante;
- 3) A resposta imunitária de cada animal à vacinação com a amostra 19.

Considerando que qualquer um desses fatores é suficiente para modificar o grau de resistência, é impossível prever os limites da resistência conferida pela vacina nas condições variáveis que existem nos rebanhos. Parece resultar, dum pequeno número de experiências vacinais controladas, que a resistência conferida aos bezerros por uma vacina ativa feita com a amostra 19 protege eficazmente contra um risco moderado de infecção por *Brucela abortus*, durante um período de pelo menos 2 a 3 anos.

Considerando que numerosos touros têm a tendência para conservar durante períodos indeterminados os títulos de aglutininas conferidos pela vacina, não é indicado vacinar esses animais, na prática corrente.

A vacinação dos animais suspeitos ou positivos com a amostra 19 não exerce efeito apreciável sobre a evolução normal da brucelose bovina.

Não foi provado que a amostra 19 se propaga dos animais vacinados para os que não o foram.

Estudos controlados não permitiram corroborar informações obtidas no campo sobre a relação entre a vacinação e o aparecimento de esterilidade temporária ou definitiva.

*Não se deve considerar a vacinação com a amostra 19 como capaz de substituir os bons métodos de higiene e de criação. Não se obtém o efeito máximo a não ser quando esses princípios são rigorosamente observados.*

A excreção transitória da amostra 19 no leite produz-se, às vezes, mas nenhum caso humano de brucelose foi relatado com esta origem. Por outro lado, infecções humanas têm sido assinaladas em seguida à inoculação acidental dessa vacina ou de uma forte exposição a essa amostra, no laboratório; as pessoas que manipulam a vacina devem, portanto, tomar precauções minuciosas.

*Produção e controle da vacina 19* — Para conseguir o máximo de benefício da vacinação com a amostra 19, é necessário observar certas precauções no preparo e na manipulação dessa vacina, para evitar que apareçam alterações desagradáveis do produto final. Por falta dessas precauções, variantes de fraco poder imunizante podem surgir. É de importância capital que as culturas utilizadas para o preparo da vacina sejam minuciosamente selecionadas de acordo com as características desejadas.

Métodos padronizados para a repicagem selecionadora, a preparação e o controle da vacina, foram estabelecidos; é necessário segui-los. (O Co-Secretário do Grupo Misto FAO/OMS de Peritos em Brucelose, Organização Mundial de Saúde, Palácio das Nações, Genebra, Suíça, fornecerá, a pedido, todos os dados precisos relativos a esses métodos).

Resulta, de estudos preliminares, que a vacina dessecada, feita com a amostra 19, é menos perecível que o produto líquido e que pode haver vantagem em utilizar a mesma, nas condições climáticas ou práticas pouco favoráveis. Entretanto, *qualquer que seja a forma sob a qual se*

*apresente a vacina, é necessário manipulá-la cuidadosamente para evitar sua alteração.*

Recomenda-se que um laboratório central distribua as culturas para os centros regionais que, por sua vez, serão responsáveis pela distribuição dos repiques apropriados, aos produtores de vacinas.

### *Brucelose bovina*

Considerando que não se conhece tratamento específico para a brucelose bovina, tôdas as medidas de combate devem convergir para a proteção do gado indene.

As condições que reinam nos diferentes países variam de tal forma que é impossível adotar uma técnica ou um método universal para resolver o problema da brucelose. O grupo de peritos reconhece que será muito difícil organizar programas de ação em certas regiões e em certos países mas está firmemente convencido de que tôdas as medidas praticáveis devem ser postas em execução imediatamente. O objetivo final deve ser a eliminação completa da brucelose nos rebanhos, no gado e nos países interessados.

Para atingir êsse fim, *o grupo de peritos recomenda, como primeira etapa, que se proceda a um inquérito mundial, sob os auspícios da FAO e da OMS, — a fim de determinar:*

- 1) A freqüência atual da brucelose no gado, devendo o inquérito incluir exames de sangue ou a prova de anel, nas regiões características dos países que não disponham de estatísticas satisfatórias;
- 2) As leis, os regulamentos e as decisões regulamentares existentes visando a erradicar e prevenir a brucelose;
- 3) Os programas de luta e de profilaxia que estão sendo realizados e os resultados que estão sendo obtidos ou foram obtidos.

Depois da determinação do ponto 1), os diferentes países que não estão dotados, no momento, de programas de ação para erradicar e prevenir a brucelose, serão encarecidamente convidados a empreender, o mais cedo possível, programas dessa natureza. O grupo de peritos propõe que as seguintes medidas sejam tomadas nos países das diferentes categorias enunciadas a seguir:

1) *Países cujos serviços veterinários bem como as leis, os regulamentos e as decisões regulamentares deixam a desejar.*

- a) Promulgação de legislação satisfatória;
- b) Nomeação de inspetores sanitários do gado para assegurar a aplicação dessa legislação. Êsses inspetores deverão receber uma formação técnica apropriada e ser contratados a título permanente;
- c) Refôrço imediato das medidas de luta e de profilaxia. Nas regiões em que o grau de infecção é pouco elevado, estas medidas deverão compreender:

I) O contrôle rigoroso das importações. Na medida do possível, é preferível restringir as importações às novilhas com provas negativas para a brucelose e provenientes de rebanhos indenes de brucelose. No

caso de importação de reprodutores, êstes devem provir de rebanhos indenes e ter sido submetidos a uma prova específica, tanto no país de origem quanto no momento de sua chegada no país importador.

II) A restrição dos deslocamentos do gado em idade de reprodução. Se a brucelose está espalhada, deve ser praticada a vacinação dos bezerros nos rebanhos e regiões infectados. *Nota:* A vacinação, nas presentes recomendações, refere-se à vacinação com a amostra 19.

III) A realização dum programa de educação destinado a atingir todos os setores da população e compreendendo a formação de veterinários e de técnicos. *Nota:* É essencialmente importante não perder de vista que o objetivo final a atingir, nos países compreendidos nesta categoria, é a eliminação da brucelose. Desde que lhes seja possível recrutar o pessoal veterinário qualificado, êsses países serão classificados automaticamente na categoria seguinte:

2) *Países dotados de pessoal veterinário apropriado e de legislação sanitária adequada relativa ao gado.* O programa a adotar nesta categoria de países deverá compreender, em qualquer caso:

- a) O contrôle da distribuição das vacinas;
- b) A descoberta contínua dos animais positivos;
- c) O contrôle dos deslocamentos do gado positivo e do gado ainda não examinado pelas provas diagnósticas.

Êsses países poderão tentar combater e eliminar a brucelose por qualquer dos métodos indicados a seguir, sendo a escolha determinada pelas condições existentes:

a) Nas regiões e nos países em que o índice de infecção é fraco (10% ou menos de rebanhos infectados e 3% ou menos de animais infectados), será preferível, em geral, adotar o programa seguinte:

I) Prova sorológica seguida de eliminação dos animais positivos, com ou sem vacinação dos bezerros dos rebanhos infectados.

II) Em certos rebanhos em que as condições são especiais, prova seguida de isolamento temporário dos animais positivos, com vacinação dos bezerros e, talvez, dos reprodutores negativos. Todos os animais positivos que não forem eliminados imediatamente deverão ser identificados de modo definitivo e separados dos outros animais, tôda vez que isto fôr possível.

b) Nas regiões em que a freqüência da brucelose é moderada ou relativamente elevada (10%-35% de rebanhos infectados e 3%-10% de animais infectados), deve-se, em geral, preferir o programa seguinte:

I) Prova e eliminação dos animais positivos, com ou sem vacinação dos bezerros nos rebanhos que apresentam um pequeno grau de infecção.

II) Prova seguida ou não de eliminação ou de isolamento dos animais positivos, com vacinação dos bezerros e, eventualmente, dos adultos negativos, nos rebanhos gravemente infectados, nos rebanhos duvidosos e nos rebanhos em que a infecção existe em grau elevado. Todos os animais positivos, que não forem eliminados imediatamente, deverão ser identificados de modo definitivo e separados dos outros animais, tôda vez que isto fôr possível.

III) Vacinação dos bezerros dos rebanhos negativos em que a criação é praticada em condições tais que eles estejam ameaçados de ficar expostos à infecção.

c) Nas regiões ou países em que a brucelose existe em grau elevado (mais de 35% de rebanhos infectados e mais de 10% de animais infectados) e onde o pessoal é relativamente escasso, pode-se recorrer à vacinação dos bezerros, sem prova sorológica prévia.

#### *Brucelose dos caprinos e dos ovinos*

*Caprinos* — As cabras infectadas constituem uma fonte perigosa de brucelose porque, nesse caso particular, a doença apresenta uma forma crônica e freqüentemente assintomática. Recomenda-se sacrificar, toda vez que fôr possível, as cabras positivas ao diagnóstico sorológico ou à prova intradérmica. Se não fôr possível eliminar de modo radical os animais infectados, nenhum esforço deve ser poupado para atualizar as medidas de higiene e de isolamento, incluindo a destruição dos recintos infectados, a desinfecção de todo material virtualmente infeccioso e o isolamento dos animais e dos rebanhos infectados.

*Ovinos* — Ao contrário da brucelose das cabras, a doença nos carneiros evolui espontaneamente, em geral, para a cura. É por isso que o sacrifício dos ovinos infectados não é tão necessário quanto o das cabras, e o isolamento dos animais positivos pode ser empregado para lutar contra a doença com mais confiança nos resultados. *Nota:* Quando a infecção dos carneiros e das cabras se manifesta numa região pela primeira vez, recomenda-se vivamente o sacrifício de todos os animais infectados e dos que entraram em contacto com eles.

*Vacinas* — A vacina feita com a amostra 19 mostrou-se ineficaz nos carneiros e nas cabras; todavia, o grupo de peritos toma conhecimento dos resultados encorajadores obtidos recentemente nesses animais com outras vacinas e preconiza vivamente intensificação das pesquisas sobre o assunto, de modo que os países insuficientemente desenvolvidos sob o ponto de vista econômico, onde a brucelose dos caprinos e dos ovinos apresenta problemas importantes, possam dispor duma arma eficaz na luta contra a doença.

*Diagnóstico* — a) *Prova de sôro-aglutinação* — Mesmo os títulos pouco elevados de sôro-aglutinação consideram-se característicos, principalmente nos rebanhos em que a infecção é notória. Todavia, é necessário realizar pesquisas sobre o título indicador de infecção. É necessário, igualmente, prosseguir os estudos para determinar a importância eventual das reações cruzadas devidas à febre Q, pois convém não esquecer que as duas infecções podem coexistir.

b) *Provas intradérmicas ou alérgicas* — As reações positivas às provas cutâneas indicam uma infecção presente ou passada. Um estudo comparado dos diversos antígenos atualmente empregados para as provas intradérmicas nos carneiros e nas cabras seria útil.

c) *Prova de anel (ABR)* — Deveria ser estudada a possibilidade de adaptar esta prova ao leite das ovelhas e das cabras.

d) *Outros métodos de diagnóstico* — Ver os que foram assinalados anteriormente, na "Exposição geral".

*Brucelose suína*

A brucelose dos suínos, provocada por *Brucella suis*, é uma doença que, em geral, evolui espontaneamente para a cura; isto é particularmente verdadeiro nas fêmeas. Entretanto, êste fato não diminui a importância das perdas econômicas e dos riscos para a saúde pública devidos à doença. Como as três espécies de *Brucella* têm sido isoladas dos porcos, êstes animais constituem, portanto, uma fonte de infecção tanto para o homem como para os animais domésticos.

*Diagnóstico* — a) Admite-se, dum modo geral, que o diagnóstico sorológico é eficiente para determinar a presença ou a ausência da brucelose num rebanho; êle não é suficiente, porém, para precisar se êste ou aquêle animal está infectado ou não. Na interpretação dos resultados da prova considera-se que é necessário levar em conta os títulos fracos de aglutinação.

b) As provas intradérmicas ou alérgicas possuem, atualmente, um alcance mais limitado que a prova de sôro-aglutinação. O grupo de peritos recomenda que prossigam as pesquisas no sentido de melhorar os métodos de diagnóstico da brucelose suína.

*Vacinação e tratamento* — A vacinação e a terapêutica não têm dado resultados satisfatórios. A luta contra a brucelose suína repousa, portanto, no isolamento e na eliminação eventual dos animais infectados.

*O método mais satisfatório consiste em eliminar completamente o rebanho e substituir os reprodutores infectados por animais indenes de brucelose.*

## ANEXO II

## INSTRUÇÕES PARA O COMBATE À BRUCELOSE ANIMAL

(Portaria n.º 677, de 1.º de junho de 1953, publicada no Diário Oficial, Seção I, de 20 de novembro de 1953, página 19.935).

O Ministro de Estado, tendo em vista o disposto no art. 71 do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal e o que consta do Processo P.A. n.º 4.633-52, resolve aprovar as Instruções que com esta baixam, assinadas pelo Diretor-Geral do Departamento Nacional da Produção Animal, relativas às medidas de combate à Brucelose Animal.

a) João Cleofas.

## Instruções para o combate à brucelose animal

Art. 1 A identificação da brucelose bovina será feita mediante provas de aglutinação no sôro sanguíneo e no leite.

§ 1.º As provas adotadas no sôro sanguíneo são: aglutinação lenta em tubos e aglutinação rápida em placas.

§ 2.º A aglutinação rápida em placa será adotada como prova de rotina, e a lenta em todos os casos de dúvida.

§ 3.º No leite será aplicada a prova de anel, com o fim de surpreender a existência da infecção num rebanho.

Art. 2 Sempre que fôr necessário confirmar o diagnóstico, serão realizadas outras provas de laboratório.

Art. 3 Concomitantemente à coleta do material de identificação da doença, será levado a efeito um inquérito epizootiológico, visando a incidência de abortos e outras manifestações da doença.

Art. 4 As aglutinações serão interpretadas como se segue, empregando-se antígeno preparado de acôrdo com o anexo n.º I.

Em bovinos:

Suspeitos — 1:50

Positivos — 1:100

Em caprinos, ovinos e suínos:

Suspeitos — 1:5

Positivos — 1:10

§ 1.º Os animais suspeitos serão reexaminados periòdicamente;

§ 2.º A persistência do título de suspeição será julgada, tendo-se em vista a percentagem da infecção na propriedade, e isolamento da Brucela, a ocorrência de abortos ou outros sintomas clínicos.

Art. 5 Recomenda-se o sacrifício dos bovinos com reação positiva, considerando a incidência da enfermidade e as peculiaridades locais.

Art. 6 O sacrifício será realizado preferentemente em matadouros sob inspeção veterinária, e os animais serão julgados de acôrdo com as prescrições do art. 163 e seu parágrafo do Regulamento da Inspeção Sanitária e Industrial de Produtos de Origem Animal.

Parágrafo único. O serviço de inspeção veterinária junto ao estabelecimento para onde foram encaminhados os animais reagentes será avisado com a devida antecedência.

Art. 7 Nos casos previstos no artigo 5, os bovinos restantes na propriedade serão submetidos, periòdicamente, a prova diagnóstica, até que a infecção seja eliminada.

Art. 8 Sempre que não fôr possível a prática do sacrifício num rebanho bovino, recomendam-se as seguintes providências:

I) — Isolar as vacas reagentes por ocasião do parto, em piquetes próprios, até que cessem os corrimentos vaginais, e adotar medidas higiênicas complementares;

II) — enterrar profundamente, no caso de abortos, o feto e a placenta, praticando-se rigorosa desinfecção dos locais que entrarem em contato com o material infectado.

Art. 9 Nas propriedades de exploração do gado bovino, recomenda-se a vacinação dos bezerros de 6 a 10 meses de idade.

Parágrafo único. Os animais vacinados serão convenientemente identificados.

Art. 10 A vacinação será realizada pelos órgãos oficiais competentes, mediante solicitação dos interessados.

Parágrafo único. A prática da vacinação é também facultada aos profissionais em Veterinária estranhos aos quadros dos serviços oficiais especializados, desde que observem integralmente as normas aqui estabelecidas.

Art. 11 Considerar-se-ão infectadas as fêmeas (bovinas) nascidas no País que, vacinadas dos 6 aos 10 meses, ainda revelarem reação positiva além dos 24 meses de idade.

Art. 12 A importação de reprodutores bovinos será regulada na forma abaixo:

§ 1.º É proibida a importação de reprodutores bovinos machos reagentes de conformidade com a alínea "b", do art. 4.º, do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto n.º 24.548, de 3 de julho de 1934, mesmo no caso em que as reações positivas às provas de sôro-aglutinação sejam em consequência da vacinação com a amostra "Brucella abortus".

§ 2.º Fica permitida a importação de fêmeas que tenham sido vacinadas, as quais, além da documentação exigida pelos regulamentos vigentes, deverão vir acompanhadas de certificados de vacinação expedidos pelas autoridades oficiais do país de procedência.

§ 3.º Os certificados só terão valor quando declararem:

a) que os bovinos foram inoculados com vacina preparada com amostra "Brucella abortus 19", controlada ou registrada oficialmente no país de origem;

b) que a vacinação tenha sido praticada em animal de menos de 10 meses de idade (fêmeas) e controlada pelas autoridades sanitárias competentes;

c) a data do nascimento do animal e da vacinação.

§ 4.º Fica proibida a entrada de fêmeas vacinadas que apresentem reação positiva às provas de sôro-aglutinação, após doze (12) meses contados da data da vacinação.

§ 5.º É igualmente proibida a importação de bovinos fêmeas vacinadas fora do período referido na alínea "b" do parágrafo terceiro, do artigo 12 destas instruções.

§ 6.º Fica estabelecida a obrigatoriedade dos exames sorológicos, visando ao diagnóstico da Brucelose, nos portos e postos de fronteira previstos pelos artigos 11, 12 e 13, do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal em vigor.

Art. 13 Aos proprietários dos animais vacinados de 6 a 10 meses, será fornecido um atestado de vacinação, quando pedido, de acôrdo com o anexo n.º 2.

§ 1.º Uma segunda via do atestado de vacinação será encaminhada à repartição da D.D.S.A. mais próxima, para fins cadastrais.

§ 2.º No atestado de vacinação a firma do veterinário responsável será devidamente reconhecida, dispensando-se dessa exigência os atestados assinados por veterinários oficiais.

Art. 14 A vacinação de adultos só será praticada a critério da autoridade veterinária competente, nas seguintes condições:

I) Nas criações extensivas, onde houver infecção e não fôr possível a adoção de medidas propostas nas presentes instruções;

II) Nas criações de gado leiteiro de alta produção ou de gado puro, indenes de Brucelose.

Art. 15 Aos proprietários dos animais vacinados nas condições do item II do artigo anterior será fornecido um atestado de vacinação de acôrdo com o modelo (anexo n.º 2).

Art. 16 Recomenda-se que a introdução de animais numa propriedade só seja permitida mediante apresentação de provas de estar indene de Brucelose.

Parágrafo único. Os animais reagentes em consequência da vacinação terão livre ingresso quando atendido o disposto nos artigos 13 e 15.

Art. 17 A profilaxia da Brucelose será iniciada nas propriedades oficiais, federais e estaduais, concomitantemente aos trabalhos nos principais centros de produção.

Art. 18 Não serão inscritos animais reagentes nos livros de Registro Genealógico, nem nas exposições pecuárias que se realizem no País, exceção feita aos vacinados nas condições previstas nestas instruções.

Art. 19 É proibido o trânsito de animais brucelosos, salvo quando destinados ao abate ou a fins científicos.

Art. 20 Os responsáveis pela inobservância do disposto nos artigos 18 e 19 ficam sujeitos às penalidades legais cabíveis.

Art. 21 A ocorrência de suínos reagentes em uma criação justifica o sacrifício de todo o rebanho, sempre que possível.

Parágrafo único. No caso de criações de suínos de raça, ou que forem julgadas de maior interesse econômico, a juízo das autoridades, poderá ser aplicado o seguinte plano:

I) destinar à engorda os varrões e as porcas vazias reagentes, para subsequente abate na forma do artigo 6 e seu parágrafo único.

II) Manter isoladas até o desmame as porcas prenhes e as que amamentem, destinando-as, a seguir, à engorda, para subsequente abate;

III) Utilizar na reprodução varrões que apresentem reação negativa à prova de sôro-aglutinação;

IV) Só permitir a introdução de novos suínos para substituir o rebanho infectado, quando seguramente indenes de Brucelose.

Art. 22 Recomenda-se o sacrifício, sempre que possível, dos ovinos e caprinos reagentes e todo o rebanho permanecerá em quarentena até que a infecção seja eliminada, adotando-se tôdas as providências indicadas para que o foco não se alastre.

Art. 23 A vacina e o antígeno serão preparados por instituições veterinárias oficiais.

Parágrafo único. As organizações particulares que obtiverem autorização para fabricar a vacina e o antígeno, ficarão sujeitas aos dispositivos dos Decretos n.ºs 2.500 e 3.000, respectivamente de 16-3-928 e 22-9-938.

Art. 24 As técnicas para o fabrico da vacina constam do anexo n.º 3.

Art. 25 O Instituto de Biologia Animal (I.B.A.) fornecerá aos demais laboratórios as culturas originais da amostra B-19 para o preparo da vacina.

Art. 26 O contrôle da vacina e do antígeno preparados em outros Institutos oficiais ou laboratórios particulares, segundo as técnicas que constam dos anexos n.ºs 1 e 3, ficará a cargo do I.B.A.

Art. 27 O I.B.A. fornecerá soros aferidos para padronização dos antígenos fabricados em estabelecimentos oficiais e particulares.

Art. 28 Os trabalhos da profilaxia da brucelose previstos nestas instruções serão executados em todo o Território nacional pela Divisão da Defesa Sanitária Animal (D.D.S.A.) do Ministério da Agricultura e pelos serviços congêneres dos Estados, Territórios e da Prefeitura do Distrito Federal. a) João Ferreira Barreto, Diretor-Geral — D.N.P.A.

### ANEXO III

#### PREPARAÇÃO DA VACINA DE BRUCELLA ABORTUS AMOSTRA B-19

(Método de preparação recomendado oficialmente pelo "Bureau" de Indústria Animal dos Estados Unidos. Revisão de junho de 1950. Transcrito de WHO/Brucellosis Information Series, 1951, Junho, n.º 40).

A presente exposição é um relato sumário dos métodos utilizados pelo "Bureau" de Indústria Animal dos Estados Unidos, para a preparação da vacina de *Br. abortus*, amostra 19; ela foi estabelecida para servir de guia para os laboratórios que preparam a vacina. Embora seja absolutamente impossível padronizar tôdas as fases do preparo da vacina e definir um método uniforme aplicável a todos os casos, é oportuno divulgar os detalhes técnicos que parecem mais importantes. O fim a atingir é, evidentemente, obter os produtos mais uniformes possíveis, graças ao emprêgo de métodos cujas longas pesquisas teóricas e múltiplas aplicações práticas têm revelado a eficácia.

#### *Fatores que provocam as dissociações da amostra 19*

As propriedades antigênicas das culturas de *Br. abortus* em geral e da amostra 19 em particular, dependem estreitamente da natureza das células constitutivas. A dissociação bacteriana desempenha um papel extremamente importante a êsse respeito porque os elementos celulares sofrem uma alteração acentuada no decurso desses processos e adquirem, por fim, propriedades inteiramente diferentes daquelas das colônias S iniciais.

Como é indispensável reduzir essas modificações ao mínimo, torna-se necessário, ao preparar-se a vacina com a amostra B-19, não perder de vista os fatos seguintes:

1) Se, durante uma fase qualquer da preparação da vacina, o crescimento das brucelas se efetua em meio líquido, daí resultam dissociações rápidas e modificação da atividade da vacina.

2) Se, ao colocarem-se na estufa as garrafas de Roux semeadas, esquece-se de colocá-las em posição invertida, pode-se provocar uma dissociação, em certas partes da camada superficial de agar, em virtude da umidade excessiva que aí tende a formar-se. Esse é, provavelmente, o ponto mais importante a considerar, para evitar diferenças de atividade da vacina, imputáveis à preparação.

3) Os meios anormalmente úmidos podem provocar diferenças dessa natureza, mesmo que as garrafas de Roux tenham sido incubadas em posição invertida. É aconselhável, portanto, empregar meios com agar a 3% e reduzir a umidade em excesso, antes de semear. Para isso, basta, na maioria dos casos, manter as garrafas na estufa a 37,5°C, quarenta e oito horas antes da semeadura.

4) A junção de tecidos orgânicos frescos (sôro, fígado, etc.) favorece o aparecimento de modificações inoportunas e, por isso, deve ser também evitada.

5) Para as brucelas, como para qualquer outra bactéria, toda modificação brusca no tipo de meio de cultura empregado, tende a provocar o desenvolvimento de formas atípicas, com o aparecimento de fatores de crescimento anormais. É altamente desejável, portanto, utilizar para as culturas unicamente o meio de agar batata, cuja fórmula é fornecida adiante. Esse meio é recomendado porque apresenta, sobre muitos outros que têm sido igualmente ensaiados, a vantagem muito nítida de manter mais eficientemente a estabilidade da amostra 19.

6) Variações grandes na reação do meio podem, igualmente, acelerar o aparecimento de formas que não são satisfatórias. Este fenômeno se manifesta, sobretudo, por modificações progressivas ligadas a um aumento da alcalinidade, quando o pH ótimo de 6.3 a 6.8 é ultrapassado.

7) A fim de melhorar a qualidade e a uniformidade das vacinas preparadas no País, parece útil prever um programa de fornecimento de culturas periodicamente. As culturas destinadas à distribuição devem ser escolhidas com extremo cuidado. Acredita-se que este sistema facilitará, em grande parte, a preparação de vacinas com atividade e características suficientemente uniformes.

### *Assepsia*

Qualquer que seja a vacina, convém tomar grandes precauções a fim de reduzir ao mínimo os riscos de contaminação da mesma durante seu preparo. Cada operação deve ser considerada perigosa a esse respeito, porque a menor negligência pode traduzir-se pela perda total dum lote.

Tem se revelado útil proteger as rôlhas de algodão e gaze que se utilizam para as garrafas de Roux, os balões e os frascos de distribuição, com cartuchos de papel, antes da esterilização, revestindo inteiramente o gargalo de todos os recipientes. O operador tem, assim, margem de segurança suplementar ao manipular esses recipientes. Com exceção das placas de Petri e das pipetas, todos os recipientes são esterilizados pelo calor úmido (vapor) sob pressão de 15 libras (1 atmosfera), durante 45 minutos. Quanto às pipetas e placas de Petri, devem

ser esterilizadas pelo calor sêco, a uma temperatura de 160°C mantida durante 3 horas.

Tôdas as operações, tais como repique de culturas, preparo de suspensões, semeadura das garrafas, coleta, mistura e distribuição em frascos, devem ser, tanto quanto possível, efetuadas em locais providos de dispositivos para filtração do ar.

#### *Preparo do material para semeadura*

- 1) Cultura mãe: *Br. abortus*, amostra 19.
- 2) Solução salina fisiológica estéril, de cloreto de sódio a 0,85%, contida em frascos de Erlenmeyer de 125 cm<sup>3</sup> (ml).
- 3) Uma suspensão bacteriana de densidade aproximada de 10 x 10<sup>9</sup> germes por cm<sup>3</sup> é preparada a partir da cultura mãe, em 8 a 10 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica estéril.
- 4) Efetuam-se semeaduras em placas de Petri com agar batata, previamente mantidas na estufa a 37,5°C durante 48 horas, colocando na placa n.º 1, 0,05 cm<sup>3</sup> da suspensão e espalhando sucessivamente nas placas n.ºs 2, 3 e 4 por meio dum espátula esterilizada.
- 5) As placas são colocadas na estufa a 37,5°C, em posição invertida, durante 96 horas.
- 6) Colônias S típicas são escolhidas cuidadosamente e repicadas com o auxílio dum microscópio binocular de campo bastante grande, com luz artificial refletida por um espelho, de tal modo que os raios luminosos atravessem a placa, pelo fundo desta, num ângulo ascendente de 45°C. Esses repiques são feitos para agar batata em tubos inclinados e de pH entre 6,4 e 6,8, os quais tenham sido previamente colocados na estufa durante 48 horas. Os meios semeados são mantidos na estufa durante 72 horas a 37,5°C. (Nota: O repique seletivo não é recomendável nos casos dos laboratórios que recebem regularmente culturas de substituição).
- 7) Dez garrafas de Roux, contendo cada uma 150 cm<sup>3</sup> de agar batata, de pH entre 6,4 e 6,8, são esterilizadas e deixadas na estufa durante 48 horas a 37,5°C, antes da semeadura. Com as garrafas de Roux, é sempre aconselhável usar rólhas de algodão envolvidas em gaze e protegidas com cartuchos de papel, para evitar as contaminações exteriores.
- 8) Escolhem-se 10 culturas em tubos inclinados e adicionam-se a cada uma 10 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica estéril (pH 6,4 a 6,8). Quando a cultura se encontrar em suspensão completa, semeam-se as garrafas de Roux, à razão de um tubo para cada. Depois da semeadura, inclinam-se delicadamente as garrafas, a fim de obter uma dispersão uniforme em tôda a superfície do meio. Em seguida, retiram-se os cartuchos de papel e mantêm-se as garrafas em posição horizontal invertida, durante 72 horas, na estufa a 37,5°C.
- 9) À saída da estufa, cada garrafa é examinada a olho nu e aquelas que se mostrarem contaminadas serão eliminadas.
- 10) A água de condensação e o excesso do material semeado são eliminados assêticamente e de maneira a não perturbar as culturas.
- 11) Cêrca de 30 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica estéril, a 0,85% (pH de 6,4 a 6,8) são adicionados a cada garrafa, por meio dum frasco dis-

tribuidor munido de válvula de segurança. A solução fisiológica é esterilizada em quantidades de 900 cm<sup>3</sup>.

12) Depois da junção da solução fisiológica, é conveniente agitar ligeiramente as garrafas, de maneira a poder proceder, o mais rápido possível, à retirada das culturas. Não se deve nunca deixar a suspensão durante mais de 15 a 20 minutos em contacto com o meio, pois do contrário quantidades excessivas de agar se dissolvem gradualmente.

13) A suspensão de cada garrafa é transferida assépticamente para um frasco de Erlenmeyer de 125 cm<sup>3</sup>, previamente esterilizado a seco, numa temperatura de 160°C.

14) Com o conteúdo de cada frasco, semeam-se 2 tubos inclinados de agar batata e 2 tubos de fermentação de Smith contendo caldo glicosado com indicador de Andrade. (Ver adiante). Os tubos inclinados são mantidos na estufa durante 72 horas a 37,5°C e depois são examinados ao fim de 24, 48 e 72 horas, para verificar se não estavam contaminados e determinar a vitalidade das colônias. Os tubos de caldo são mantidos na estufa durante 7 dias à temperatura de 37,5°C e submetidos a um exame diário destinado a revelar a presença eventual de ácido ou de gás. Faz-se uma colheita de cada frasco e examinam-se a pureza do meio e a morfologia dos germes, numa lâmina corada pelo método de Gram.

15) Todos os frascos contaminados ou suspeitos são imediatamente eliminados.

16) Os frascos que se mostrarem satisfatórios fornecerão as amostras a utilizar no preparo dos lotes ulteriores de vacina. Deve-se procurar, tanto quanto possível, dispor de amostras recentes para a semeadura de todos os frascos que vão servir para a produção da vacina.

### *Preparo das vacinas*

1) Cem garrafas de Roux contendo cada uma 150 cm<sup>3</sup> de agar batata (pH 6,4 a 6,8) são mantidas na estufa durante 48 horas a 37,5°C, antes da semeadura.

2) Preparam-se 900 cm<sup>3</sup> duma solução fisiológica estéril, a 0,85% (pH 6,4 a 6,8), que servirá para diluir o inóculo, num frasco distribuidor de 1000 cm<sup>3</sup>, provido duma válvula de segurança.

3) A suspensão contida num frasco de Erlenmeyer onde foi preparada a amostra, é transferida assépticamente para os 900 cm<sup>3</sup> da solução fisiológica estéril e essa mistura é agitada demoradamente, antes da semeadura nas garrafas de Roux.

4) Procedese à semeadura das garrafas de Roux introduzindo em cada uma 5 cm<sup>3</sup>, aproximadamente, da suspensão diluída. Depois da operação, as garrafas são inclinadas ligeiramente, a fim de assegurar a semeadura completa do meio.

5) As garrafas semeadas são colocadas horizontalmente, em posição invertida, na estufa a 37,5°C, durante 72 horas. Tôdas as garrafas são examinadas, em seguida, a olho nu, e aquelas que se mostrarem contaminadas serão eliminadas.

6) Depois de retirado o inóculo inicial e a água de condensação, juntam-se a cada garrafa cerca de 30 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica estéril, a 0,85%. São necessários, portanto, cerca de 3000 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica, para 100 garrafas. A solução fisiológica (tamponada a um pH de 6,4) é preparada em 2 grandes frascos distribuidores munidos dum dispositivo de enchimento. (Ver adiante a solução tamponada).

7) No momento da colheita das culturas, tôdas as precauções devem ser tomadas para evitar um contacto prolongado demais entre a suspensão e o agar. A rapidez com a qual pode ser introduzida a solução fisiológica nas garrafas é, portanto, um fator importante na determinação do número máximo de garrafas que podem ser tratadas de cada vez. O período entre a introdução da solução fisiológica e a retirada da suspensão de cada garrafa não deve exceder nunca de 15 a 20 minutos. A colheita da cultura é facilitada agitando-se ligeiramente cada garrafa depois de introduzida a solução fisiológica. É indispensável que a colheita das culturas se efetue num lapso de tempo tão breve quanto possível.

8) As suspensões bacterianas recolhidas de 6 garrafas de Roux são misturadas entre si num frasco de Erlenmeyer estéril, de capacidade para 250 cm<sup>3</sup>. Procedem-se, em cada um destes frascos, aos ensaios de pureza idênticos aos que foram descritos antes para a preparação das amostras.

9) O conteúdo de todos os frascos que se revelaram satisfatórios é filtrado através de um filtro estéril, de lã de vidro, e recolhido num recipiente estéril.

10) Colhe-se do concentrado obtido com essa mistura, uma amostra de 10 cm<sup>3</sup>, que é submetida a uma prova de pureza suplementar e a um exame que serve para determinar a porcentagem de germes presentes.

#### *Método a aplicar para determinar a concentração celular na suspensão misturada.*

1) Tomar 4 tubos de vacina, tipo Hopkins (modificados por FITCH). Colocar, em cada um, 4 cm<sup>3</sup> de água destilada e uma amostra de 0,5 cm<sup>3</sup> da suspensão desconhecida; completar a 5,0 cm<sup>3</sup> com água destilada.

2) Centrifugar durante 75 minutos a 2.750 rotações por minuto (com um centrifugador comum de 30 cm) e tomar para os cálculos a média dos resultados fornecidos pelos 4 tubos. Exemplo: um valor médio de 0,038, convertido em valor equivalente por cm<sup>3</sup>, dá 0,076 ( $2 \times 0,038$ )  $\times 100 = 7,6\%$ , o que representa a concentração celular da suspensão mãe.

#### *Determinação do fator de diluição*

A concentração celular a obter no produto final é de 0,54%. Conhecendo a concentração da suspensão mãe, é fácil determinar o fator

de diluição dum volume dado. Exemplo: pode-se empregar para essa finalidade a seguinte equação:

$$\frac{\text{porcentagem desejada}}{\text{porcentagem da suspensão mãe}} = \frac{1 \text{ cm}^3 \text{ da suspensão mãe}}{\text{volume da diluição final}}$$

Suponhamos que a porcentagem da suspensão mãe seja igual ao número citado no exemplo anterior; obtém-se a equação seguinte:

$$\frac{0,54}{7,6} = \frac{1}{x}$$

$$0,54 x = 7,6, \text{ donde} \\ x = 14$$

Portando, o fator de diluição será:  $14 - 1 = 13$

#### *Diluição*

O diluidor, ou seja, uma solução fisiológica a 0,85%, tamponada a pH 6,4, é esterilizado em quantidade de 1 600 cm<sup>3</sup> em frascos distribuidores providos de dispositivo de enchimento.

Por exemplo, se o fator de diluição é igual a 13, a quantidade de suspensão mãe para cada volume de 1600 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica tamponada será de 123 cm<sup>3</sup>. Com efeito:

$$\frac{1}{13} = \frac{x}{1600}$$

$$13 x = 1600, \text{ donde} \\ x = 123 \text{ cm}^3$$

Para obter a concentração celular procurada, de 0,54%, será necessário, portanto, juntar 123 cm<sup>3</sup> da suspensão mãe a 1600 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica tamponada. Esta concentração de 0,54 representa, aproximadamente,  $12 \times 10^9$  bactérias por cm<sup>3</sup>. (12 bilhões).

#### *Distribuição em frascos*

O produto final é colocado em frascos que conterão 6 cm<sup>3</sup> da vacina, em cada, ou seja, dose única de vacina. Os frascos e as rólhas de borracha são esterilizados separadamente no autoclave durante 30 minutos, à pressão de 15 libras (1 atmosfera). É indispensável efetuar a esterilização de tal forma que os frascos estejam absolutamente secos no momento em que forem ser cheios. O frasco distribuidor é agitado frequentemente durante a operação, a fim de obter-se uma dispersão uniforme das bactérias.

No comêço e no fim da distribuição em frascos, procedem-se em cada lote de 1600 cm<sup>3</sup> da vacina diluída, provas de pureza análogas às que foram descritas acima, na preparação das amostras. Uma vez terminada a distribuição, examinam-se amostras suplementares, correspondentes, pelo menos, a 3% de cada lote da distribuição da vacina, antes da vacina ter sua entrega autorizada.

Com relação à vitalidade, cada lote de vacina recentemente preparado, constituindo uma série numerada, deve ter pelo menos 10 bilhões de bactérias por cm<sup>3</sup>. Se o número é inferior a 10 x 10<sup>9</sup> por cm<sup>3</sup> ou se sobrevêm dissociações excessivas, deve-se abandonar tôda a partida. Também abandona-se a partida cujo índice de dissociação de colônia R exceda de 15%.

Para determinar a virulência e a atividade antigênica da preparação, injetam-se quantidades determinadas em cobaias, verificando-se o título aglutinante, as lesões viscerais e a relação do pêso do baço com o pêso do animal.

O produto acabado é etiquetado, com indicação do número do lote e o prazo de validade; conserva-se a + 4°C.

#### *Meio de cultivo gelose-batata*

<i>Fórmula</i> — Infusão de batata-inglesa .....	1000 cm <sup>3</sup>
Agar .....	25 g
Bactopeptona ou equivalente .....	10 g
Extrato de carne Liebig ou equivalente .....	5 g
Cloreto de sódio .....	5 g
Glicerina .....	20 ml (cm <sup>3</sup> )

#### *Modo de preparar*

1) Tomam-se batatas cruas, sadias e perfeitas. Lava-se, enxuga-se e cortam-se 250 g em pedaços finos; imerge-se em 1 litro d'água destilada, evitando-se, o mais possível, exposição ao ar.

2) Deixa-se em infusão durante uma noite, em recipiente coberto, à temperatura de 60°C. Filtra-se em gaze. Após restabelecer o volume com água destilada, o filtrado constitui a infusão de batata da fórmula acima.

3) Ajuntar os demais ingredientes da fórmula. Aquecer até dissolução completa.

4) Ajustar o pH a 6.8 — 7.0 com NaOH, e aquecer em autoclave sob pressão até que os ingredientes da fórmula e o agar se tenham dissolvido completamente. Ajustar novamente o pH, se êle se alterou com êsse aquecimento.

5) Esterilizar o meio final em grandes frascos e deixar repousar até que haja se depositado o precipitado; decantar a parte límpida.

6) A esterilização se faz por autoclavagem a 121°C, durante 30 minutos.

*Tamponagem da vacina de Brucella abortus amostra B-19*

Solução n.º 1: 28,81 g de  $\text{PO}^4\text{NaH}^2$ , num volume total de 1000  $\text{cm}^3$  de água destilada.

Solução n.º 2: 125,0 g de  $\text{PO}^4\text{Na}^2\text{H}$ , num volume total de 500  $\text{cm}^3$  de água destilada.

Para obter pH 6.4 diluir em 1000  $\text{cm}^3$  de solução fisiológica a 0,85%, 16,5  $\text{cm}^3$  da solução n.º 1 e 3,5  $\text{cm}^3$  da solução n.º 2.

Se acontecer, por vários motivos (como o pH inicial da solução fisiológica e outros), estas proporções não permitirem o pH desejado, pode-se modificá-las para isso.

Para elevar o pH, aumentar a proporção de  $\text{PO}^4\text{Na}^2\text{H}$  e reduzir a de  $\text{PO}^4\text{NaH}^2$ . Para diminuir o pH fazer variar essas proporções em sentido inverso.

*Método a aplicar para determinar o número de brucelas viáveis na vacina da amostra B-19*

Pode-se aplicar o método seguinte, que repousa no emprêgo de diluições progressivamente crescentes:

As diluições são preparadas em 4 frascos Pyrex para diluições, previamente esterilizados e fechados com rôlha de borracha.

Introduzir 99  $\text{cm}^3$  de solução fisiológica estéril nos três primeiros frascos e 90 no quarto.

Misturar completamente, durante 5 minutos, por meio de agitador mecânico; introduzir, por meio de pipeta, 1  $\text{cm}^3$  de vacina no frasco n.º 1 (que contém 99  $\text{cm}^3$  de solução fisiológica) e agitar novamente, durante 5 minutos. Introduzir, a seguir, 1  $\text{cm}^3$  dessa mistura no frasco n.º 2; agitar também 5 minutos. Passar 1  $\text{cm}^3$  da nova diluição para o frasco n.º 3; agitar igualmente. Passar 10  $\text{cm}^3$  para o frasco n.º 4 (que contém 90  $\text{cm}^3$  de solução fisiológica); agitar também por igual tempo.

Eliminar os frascos n.ºs 1 e 2 que, pela concentração, não permitem contagens. O frasco n.º 3 representa uma diluição de vacina de 1:1 milhão. Passar 0,1  $\text{cm}^3$  sucessivamente, de seu conteúdo, para a superfície de duas placas de agar-batata, descrito acima (adicionado de 7% a 10% de sôro normal de cavalo e 1% de glicose). Espalhar com alça de platina de modo a dispersar os germes da suspensão uniformemente. O frasco n.º 4 representa uma diluição de 1:10 milhões. Tomar dêle 0,1  $\text{cm}^3$  e espalhar sucessivamente sôbre quatro placas de agar-batata, adicionado de sôro normal de cavalo e glicose, como na operação anterior. Para assegurar maior precisão nos resultados é conveniente semear sempre várias placas de cada diluição.

Tôdas as placas semeadas são postas a incubar na posição invertida na estufa a 37,6°C, durante 96 horas. A seguir são subdivididas em setores, para facilitar as contagens.

Se uma placa, por exemplo, preparada com a diluição do frasco n.º 3, contiver 1.200 colônias, indica que a vacina inicial continha 12

bilhões de células vivas por  $\text{cm}^3$ . As placas preparadas com a diluição do frasco n.º 4 da mesma partida deverão conter, portanto, 120 colônias, para uma viabilidade correspondente. O valor médio da contagem de 6 placas dá indicação do valor numérico da vacina.

Este método dá os mesmos resultados da numeração direta da vacina fresca pelo citômetro de HELBER.

#### *Caldo glicosado Andrade*

Indicador de Andrade —	Água destilada .....	99,5 $\text{cm}^3$
	Fucsina ácida .....	0,5 $\text{cm}^3$
	NaOH (N/1) .....	16,0 $\text{cm}^3$
Caldo Andrade —	Água destilada .....	750,0 $\text{cm}^3$
	Peptona .....	15,0 g
	Cloreto de sódio .....	7,5 g
	Indicador Andrade .....	15,0 $\text{cm}^3$

Ajustar o pH a 7.6. Autoclavar a 15 libras (6,8 kg), durante 30 minutos. Filtrar por papel de filtro n.º 40. Ajuntar 1% de glicose. Passar para tubos de Smith. Autoclavar durante 30 minutos a 15 libras (6,8 kg) ou 1 atmosfera.

#### *Identificação das colônias S*

Na preparação da vacina B-19 é de importância primordial o uso de amostras apresentando colônias S. Toda vacina que contiver mais de 15% de colônias R deve ser rejeitada. É, então, necessário, examinar cuidadosamente a composição das amostras que vão servir à preparação de vacinas e verificar o teor de colônias S e R, antes de distribuí-la.

O método a aplicar, para o exame morfológico das colônias, é descrito na parte "Preparo do material para semeadura". As colônias S são uniformes, redondas e opalescentes. As colônias R têm aparência de vidro despolido e com refringência grande. Para o exame morfológico das colônias utiliza-se o mesmo meio agar-batata, sem soro normal de cavalo e glicose, acima referido, que deve ser transparente e claro.

#### *Prova de acriflavina*

A prova de acriflavina foi utilizada com resultados satisfatórios para revelar dissociações eventuais da vacina (BRAUN & BONESTELL, A. E. — Am. J. Vet. Res. 8:386, 1947). O método consiste no seguinte:

Preparar uma solução de acriflavina neutra a 1:1000. Conservá-la em frascos de vidro escuro, para manter a estabilidade.

*Prova macroscópica* — Tomar a cultura mãe em tubos de agar, incubada 5 dias, no máximo. É necessário escolher culturas novas porque as mais antigas possuem muitos germes mortos que podem dar falsas reações. As culturas podem ser feitas em agar simples glicerinado a 2% e glicosado a 1% .

Recolher as colônias que cresceram no agar e lavá-las em solução fisiológica neutra.

Cuidar de não raspar a superfície do agar ao retirar as colônias, bem como evitar contacto demorado do agar com a solução fisiológica, porque a presença da gelose dissolvida poderia provocar falsas reações. Introduzir 1 cm<sup>3</sup> da suspensão em pequeno tubo de ensaio e ajuntar 0,1 cm<sup>3</sup> da solução aquosa de acriflavina a 1:1000. Se a cultura tem constituição antigênica do tipo S, isto é, se não sofreu dissociação, a suspensão permanece uniformemente turva. Ao contrário, se houve dissociação para R, a suspensão floclula quase imediatamente, ou após repouso de 1 a 2 horas à temperatura ambiente, deposita-se o precipitado, ficando o sobrenadante claro. Podem ser encontrados diversos tipos de variantes das colônias, sendo impossível distinguir algumas delas microscopicamente. A variante "mucóide" (variante M), forma um precipitado viscoso. Quanto à variante "intermediária" (variante I), não forma precipitado, ou então dá um depósito constituído de partículas menores e mais granulosas que as obtidas com a variante R.

As suspensões devem permanecer uniformemente turvas e toda mudança por acaso verificada no conteúdo do tubo sugere imediatamente que houve dissociação.

*Prova microscópica* — Tomar uma colônia isolada (préviamente examinada ao microscópio, com fraco aumento), da superfície do agar, com 5 dias, no máximo, de incubação. Emulsioná-la numa gota de solução fisiológica e suspendê-la uniformemente. Ajuntar 1 gota de solução de acriflavina a 1:1000 e misturar bem com alça. Examina-se ao microscópio com fraco aumento.

Se a colônia é S, a suspensão permanece homogênea e apenas se notam movimentos brownianos, que duram muito tempo, desde que se evite a evaporação. Se a colônia é do tipo R (forma indesejável), aparece floclulação (aglutinação) e param os movimentos brownianos pela adição da solução de acriflavina.

#### *Variantes da Brucella B-19*

*Tipos intermediários* — As colônias intermediárias às vezes se parecem tanto com as S que se torna impossível distingui-las pelo exame morfológico. Elas podem, ainda, confundir-se com as do tipo R. Raramente permanecem como intermediárias, sendo logo absorvidas pelas S ou pelas R.

Todavia, podem permanecer estáveis, como intermediárias, sendo difícil distingui-las das S porque a prova da acriflavina não provoca sempre, com elas, a floclulação dos germes.

*Tipo R* — Esse tipo aparece, se mantém e se desenvolve mais facilmente que as colônias do tipo S. Deve-se, por isso, cuidar atenciosamente para que as amostras destinadas à preparação da vacina sejam do tipo S. Felizmente a prova da acriflavina permite distinguir a forma R sem dificuldade.

*Tipo SR* — As colônias dêste tipo simulam, algumas vêzes, colônias do tipo R, sendo impossível distingui-las morfológicamente destas. Entretanto, a adição de acriflavina provoca, com elas, nítida floculação, permitindo descobri-las.

*Tipo mucóide* — Êste tipo se desenvolve igualmente, a partir do tipo liso. As colônias mucóides jovens apresentam o centro de coloração acastanhada, transparentes externamente; tomam aspecto rugoso e mais escuro com o envelhecimento, perdendo a auréola transparente. A prova da acriflavina dá, com elas, um precipitado viscoso, caracterizando-as como mucóide.

*Tipo SM* — As colônias do tipo SM se encontram e são facilmente descobertas pela prova da acriflavina. São morfológicamente próximas das colônias do tipo S normais.

Embora existam outras variantes de colônias bacterianas, as acima descritas são as mais importantes.

#### *Determinação do poder antigênico e da virulência da vacina B-19*

O método seguinte é o aplicado no "Weybridge Veterinary Laboratory", na Inglaterra.

Injetam-se 4 cobaias por via intramuscular com 1 cm<sup>3</sup> de cada lote de vacina preparado, o que representa uma prova de segurança ao mesmo tempo que permite comprovar a virulência e o poder imunizante da vacina. Duas das cobaias são sacrificadas ao cabo de 11 dias e determina-se o número médio de brucelas por grama de baço de cada um dêstes animais, pelo método de culturas sucessivas em tubo de ensaio (agar fundido semeado, quando a sua temperatura ainda está a 50°C, e espalhando-se, sôbre a parede interior do tubo depois de misturado, fazendo então rodar êste sob uma corrente de água fria). As 2 outras cobaias são deixadas durante 9 semanas, depois do que se lhes injeta, em cada, uma dose de 5.000 *Br. abortus* de uma amostra virulenta; estas 2 cobaias são sacrificadas passadas 6 semanas da inoculação de prova e procede-se ao exame do baço. Estas provas são realizadas sôbre um número muito pequeno de cobaias, de modo que não é possível tirar indicações absolutamente seguras sôbre cada lote de vacina. Entretanto, como se faz uma prova idêntica em cada lote de vacina, o conjunto dos resultados obtidos ao cabo de 1 mês ou 1 ano fornece indicações suficientemente precisas a respeito da virulência bem como do poder imunizante da vacina. O índice esplênico obtido nas cobaias inoculadas com a vacina amostra 19 e sacrificadas após 11 dias eleva-se, em média, a 10.000, enquanto que é aproximadamente de 1 milhão, quando é injetada dose idêntica de vacina proveniente de amostra virulenta. As taxas de proteção das cobaias elevaram-se de 1943 a 1947, a 72%, 75%, 77%, 70% e 79%, respectivamente. Isto mostra que, no caso das cobaias, o poder protetor da vacina não diminuiu. Sabe-se que as porcentagens de proteção nos bovinos, espécies para as quais o poder imunizante da vacina amostra 19 se mostra adequado, são mais elevadas.

## BIBLIOGRAFIA

- ALBERTSEN, B. E.  
1953. Proc. XVth Intern. Vet. Congr., Estocolmo, Part I, 2:731-734; Part II: 325-329.
- ALIVISATOS, G. & BELEZOU, A.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 88.
- ALIVISATOS, G. & COLS.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 81.
- ALIVISATOS, G. & EDIPIDES, T.  
1953. WHO/Bruc. Inform. Series, July, n.º 98.
- ANÔNIMO  
1953. Preparation of A.B.R. antigen. U.S. Dept. Agric., June 26: 5 pp. mimeografadas.  
1953. Instruções para o combate à brucelose animal. Diário Oficial, I, 20 Nov.: 19935.  
1947. Prim. Conf. Nac. Bruc., Buenos Aires: 48-53.
- BANG, B.  
1897. Ztschr. f. Tiermed., 1:241-278.
- BAY, W. W. & COLS.  
1951. Proc. Book, Amer. Vet. Med. Assoc., 88th Ann. Meet.: 142-148.
- BEACH, B. A. & COLS.  
1947. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 110(843):355-361.
- BENDTSEN, H.  
1949. Nord. Vet.-Med., 1:915-919.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, June, n.º 3.  
1950. Nord. Vet.-Med., 2:604-612.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 10.
- BERMAN, D. T. & COLS.  
1952. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 121(904):46-50.
- BERMAN, D. T. & IRWIN, M. R.  
1954. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 125(932):401-405.
- BERTHELON, M.  
1947. Les brucelloses animales. Toulouse: 217 pp.
- BIFFONE, J.  
1953. Felctiano, 8(49):16-27.
- BLAKE, G. & COLS.  
1952. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 120(898):1-6.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Jan., n.º 43.
- BOSGRA, O.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 22.
- BRESSOU  
1947. Em Thiago de Mello, 1949.
- BRUHN, P. A.  
1951. Nord. Vet.-Med., 3:883-923.  
1953. Proc. XVth Intern. Vet. Congr., Estocolmo, Part I: 105-108; Part II: 184-190.

- BUCK, J. M.  
1930. J. Agric. Res., 41:667-689.
- BUCK, J. M. & COTTON, W. E.  
1938. U. S. Dept. Agric. Tech. Bull., 658:1-6.
- CARRÈRE, L. & COLS.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, July, n.º 49; Sept., n.º 79.
- CARRÈRE, L. & RENOUX, G.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Oct., n.º 15.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. México: 253 pp.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 51.
- CEDRO, V. C. F.  
1953. Publ. Misc., Min. Agric. Ganaderia, Bs. Aires, n.º 380:6 págs.
- COSTA, A. F.  
1953. Rev. Mil. Rem. Vet., 13(1-2):41-45.
- COTTON, W. E.  
1932. J. Agric. Res., 45(12):705-724.
- COTTON, W. E. & COLS.  
1934. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 85:232-247.
- D'ALO, G.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Jan., n.º 44.
- D'APICE, M.  
1943. An. 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte: 225-233.  
1945. Bruceloses animais. Inst. Biol. São Paulo. Folheto n.º 105: 29 págs.
- D'APICE, M. & PENHA, A. M.  
1945. Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 7(1):31-41.  
1945. An. 3.º Congr. Bras. Vet., Pôrto Alegre: 409-417.
- DARNELL, P. & WILLADSEN, S. A.  
1944. Medl. f. d. Danske Dyr., 27(18):1-4.
- DRIMMELEN, G. C. VAN  
1951. Onderst. J. Vet. Res., 25(1):39-49.  
1951. Proposed technique for identification of carriers of brucellosis in vaccinated dairy herds. August: 2 pp. mimeografadas.
- ELBERG, S. & HERZBERG, M.  
1953. Federation Proc., 12, Part I(1):441.
- FELSENFELD, O.  
1951. Iowa State Coll. Vet., 13(2):89-92.  
1951. Amer. J. Vet. Res., 12(42):48-54.
- FLEISCHHAUER, G.  
1937. Berl. Tier. Woch., 53:527-528.
- FLOYD, T. M. & HOOGSTRAAL, H.  
1954. J. Hygiene, 52(4):516-524.
- FOOTE, R. H. & BRATTON, R. W.  
1950. J. Dairy Sci., 33(8):539-543; 544-547.
- FRANÇA, I.  
1954. Contribuição para o estudo da brucelose bovina e sua incidência no Vale do Paraíba. Taubaté. Datilografado.

- FRANÇA, I. & COLS.  
1954. Rev. Mil. Rem. Vet., 14(4):175-184.
- FRÖHNER, E. & ZWICK, G.  
1933. Patología y terapéutica veterinarias, 2.<sup>a</sup> ed., Barcelona, III:82-142.
- GENEST, P.  
1952. Canadian J. Comp. Med., 16(5):185-194.
- GREGORY, T. S.  
1952. Austr. Vet. Journal, 28(8):194-200.
- Groupe Mixte d'Experts de la Brucellose  
1951. Rapp. Prem. Session, Washington, 1950. Org. Mond. Santé, Série Rapp. Tech., 37:34 págs.  
1953. Rapp. Deux. Session, Florence, 1952. Org. Mond. Santé, Série Rapp. Tech., 67:36 págs.
- HARING, C. M. & TRAUM, J.  
1937. J. Agric. Res., 55(2):117-128.  
1941. J. Amer. Med. Assoc., 98(769):278-284.
- HIPÓLITO, O.  
1949. Doenças infecto-contagiosas dos animais domésticos, Rio de Janeiro: 46-63.
- HIPÓLITO, O. & COLS.  
1951. Arq. Esc. Sup. Vet. Univ. Rural Est. Minas Gerais, 4:57-65.
- HIPÓLITO, O. & GIÓVINE, N.  
1943. An. 2.<sup>o</sup> Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte: 250-256.
- HOERLEIN, A. B.  
1952. Amer. J. Vet. Res., 13(46):67-73.
- HUDDLESON, I. F.  
1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed., New York: 379 págs.  
1946. Amer. J. Vet. Res., 7:5-10.  
1947. Amer. J. Vet. Res., 8:374-379.
- HUTYRA, F.  
1909. Em Hutyra & ColS.
- HUTYRA, F. & COLS.  
1938. Special pathology and therapeutics of the diseases of domestic animals, 4th engl. ed., London, I:793-824.
- JACOTOT, H. & VALLÉE, A.  
1951. Ann. Inst. Pasteur, 80(1):99-101; (2):214-215.
- JEPSEN, A. & VINDEKILDE, T.  
1951. Amer. J. Vet. Res., 12(43):97-99.
- JÖRGENSEN, H.  
1943. Maanedssk. f. Dyrl., 54:116-123.
- KENNEL, J. VON & COLS.  
1943. Klin. Woch. (16-17):321.
- KING, N. B.  
1951. Amer. J. Vet. Res., 12(43):75-80.
- KOLLE, W. & WASSERMANN, A. VON  
1928. Handbuch d. path. Mikroorg., 3.<sup>a</sup> ed., 4(1):511-584.  
1929. Handbuch d. path. Mikroorg., 3.<sup>a</sup> ed., 6(2):693-750.

- LARSEN, P. H. & GILMAN, H. L.  
1950. Cornell Vet., 40(3):259-272.
- LEMBKE, A. & KOERNLEIN, M.  
1947. Z. Bakt., I Orig., 152(3-4):231-238.
- LEVI, M. L.  
1951. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 42.
- LIVE, I.  
1949. Amer. J. Vet. Res., 10(37):347-350.  
1950. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 24.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 69.
- LUSTIG, A. & VERNONI, G.  
1928. Em Kolle & Wassermann.
- MC EWEN, A. D.  
1940. Vet. Rec., 52:815.
- MINGLE, C. K.  
1948. Segundo Congr. Interamer. Bruc., Bs. Aires. Memórias não publicadas.  
1954. Comunicação pessoal.
- MOORE, T. & MITCHELL, C. A.  
1952. Canadian J. Comp. Med., 16(7):250-253.
- MORÁN, B. L.  
1951. Brucelosis en las espécies domésticas. Folheto. Bs. Aires.
- MORSE, E. V.  
1951. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 119(895):304-308.  
1951. Amer. J. Vet. Res., 12(44):219-223; (45):324-325.
- OGONOWSKI, K.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 57.
- OLITZKI, A. L. & SZENBERG, E.  
1953. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 82:539-541.
- OTTOSEN, H. E. & PLUM, N.  
1949. Amer. J. Vet. Res., 10(34):5-11.
- PACHECO, G. & THIAGO DE MELLO, M.  
1950. Observações não publicadas.
- PALTRINIERI, J.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 76.
- PLASTRIDGE, W. N. & Cols.  
1951. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 118(891):367-373.
- PRADINES BRAZIL, N.  
1947. Mem. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 60-64.
- RENOUX, G. & CORDIER, G.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 58.
- RIOS, M.  
1954. Comunicação pessoal.
- ROEPKE, M. H.  
1954. A summary of the differential ring test studies (unpublished data),  
March: 3 pp. mimeografadas.  
1954. Comunicação pessoal.

- ROSENBUSCH, C. T.  
1947. Mem. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 218-237.
- ROSENBUSCH, F.  
1947. Mem. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 238-251.
- ROSENBUSCH, F. & GONZÁLEZ, R.  
1920-21. Mem. Inst. Biol. Soc. Rural Arg., 23-25. Em Rosenbusch, C. T.
- ROSSI, F. A.  
1941. Rev. Med. Ciencias Afines, 3(12):862-872.
- ROSSI, P.  
1951. Rec. Méd. Vét., 127(1):25-35.  
1954. Bull. Acad. Vét. France, 27(8):413-417.
- ROSSI, P. & BRUYÈRE, A.  
1950. Bull. Acad. Vét. France, 22:442-449.
- ROSSI, P. & Cols.  
1954. Bull. Acad. Vét. France, 27(4):179-182; (8):419-422; 475-478.  
1954. Soc. Sci. Vét. Lyon, 24 Oct.: 145-148. Em separata.
- SCHLINGMAN, A. S. & MANNING, M. C.  
1950. Proc. 53d Ann. Meet. U. S. Livestock San. Assoc.: 48-57.
- SILVA, N. N.  
1949. Congr. Med. Comem. Cincoent. Fac. Med. Pôrto Alegre, março: 4 págs.
- SPINK, W. W. & Cols.  
1949. J. Amer. Med. Assoc., 141:326-329.
- SRAKOCIC, J.  
1952. WHO/Bruc. Inform. Series, Nov., n.º 92.
- SZYFRES, B. & Cols.  
1947. Mem. Prim. Congr. Nac. Bruc., Montevideo: 182-217.
- TALLMAN, K. L. & EDMONDSEN, J. E.  
1953. Circular Univ. Missouri Coll. Agric., Agric. Ext. Serv., 632:1-6.
- TALLMAN, K. L. & HERMAN, H. A.  
1954. Res. Bull. Univ. Missouri Coll. Agric., Agric. Exper. Sta., 546:1-43.
- TAVONI, V. & FACCINCANI, F.  
1950. Riv. Med. Vet. Zoot., 2(3-4):71-88.
- THIAGO DE MELLO, M.  
1949. Brasil-Médico, 63(40-52):289-291.  
1950. Brasil-Médico, 64(1-4):15-20.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Washington: 59-69.  
1951. WHO/Bruc. Inform. Series, June, n.º 41.  
1951. O Hospital, 40(1):127-131.  
1951. Bol. Div. Def. San. Animal, 2:37-39.  
1952. Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 19:25-42.  
1952. Brasil-Médico, 66(5-6):65-77.  
1952. Rev. Mil. Rem. Vet., 12(1):1-16.  
1953. WHO/Bruc. Inform. Series, July, n.º 97.  
1953. Science, 118(3067):413-415.  
1954. Brasil-Médico, 68(10-13):116-118.  
1954. Observações não publicadas.
- THIAGO DE MELLO, M. & Cols.  
1954. WHO/Bruc. Inform. Series, Sept., n.º 107.

- THIAGO DE MELLO, M. & SILVA, NÍBER P. M.  
1954. Observações não publicadas.
- THOMSEN, A.  
1934. Acta Path. Microb. Scand., Suppl. 21:253 págs.  
1943. J. Comp. Path. Therap., 53(3):199-211.  
1949. Nord. Vet.-Med., 1:797-804.  
1950. Brit. Vet. Journal, 106:15 pp. Em separata.  
1950. Quinto Congr. Intern. Microb., Rio de Janeiro. Res. trabalhos: 89-90.
- TRAUM, J.  
1914. Ann. Rep. Bureau An. Ind., 30:86.  
1950. Em "Brucellosis. A Symposium". Bethesda, Sept., 1949: 225-235.
- VERGE, J.  
1946. Rec. Méd. Vét., 122(3):97-114.  
1950. Rev. Path. Comp., 50(616):157-162; (617):237-249; (618):331-333.
- VERWEY, W. F.  
1944. Rep. 48th Ann. Meet. U. S. Livestock San. Assoc. Em Verwey & Cols.
- VERWEY, W. F. & Cols.  
1950. Third Inter-Amer. Congr. Bruc., Washington: 209-215.
- WASHKO, F. V. & Cols.  
1951. Amer. J. Vet. Res., 12(44):165-174; (45):320-323.
- WELCH, H. & MARSH, H.  
1935. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 86 N.S., 39(4):493-507.
- WIPF, L. & Cols.  
1952. Amer. J. Vet. Res., 13(48):366-372.
- WOODS, G. T.  
1954. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 124(925):310-313.



## CAPÍTULO XIV

---

### Bibliografia

#### A — BIBLIOGRAFIA BRASILEIRA

(Ordem cronológica)

- 1 — 1902  
MONIZ, G.  
Existe na Bahia a febre de Malta? Sugestões.  
Gaz. Médica da Bahia, 1902, 34(1):1-18.
- 2 — 1908  
GESTEIRA, J. M.  
Etiologia e diagnostico da septicemia de Bruce.  
Tese-Fac. Med. da Bahia, 1908, 113 páginas.
- 3 — Anônimo  
Zoonoses observadas no Brazil.  
Em: "Moléstias de Animaes".  
Propaganda Agrícola IX — Soc. Nac. Agric., Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1908; 86 páginas: 20.
- 4 — 1913  
CARNEIRO, M. G.  
A febre de Malta no Rio Grande do Sul.  
Arch. Bras. Med., 1913, 3(3):292-306.  
Rev. Med. São Paulo, 1914, 17(4):56-64.
- 5 — 1917  
AZEVEDO, P. DE  
A febre de Malta no Brasil.  
Arch. Bras. Med., 1917, 7:93-99.  
Arch. de Biol., 1918, 2(22-23):375-379.
- 6 — POMPEU SOBRINHO, T.  
A Indústria Pastoril no Ceará.  
Typ.-Lith. Gadella, Ceará, 1917: 127.
- 7 — 1922  
PICOLLO, L.  
Abôrto epizoótico.  
Chac. e Qui., 1922, 25(1):25.
- 8 — ICIBACI, T.  
Aborto contagioso bovino no Estado de São Paulo.  
1.º Congr. Nac. Med. Vet., Rio, 1922: 197-208.
- 9 — PICOLLO, L.  
Aborto da vacca.  
Chac. e Qui., 1922, 26(4):305.
- 10 — 1924  
SEIXAS, D. J.  
O aborto infeccioso das vaccas.  
Correio do Povo, Pôrto Alegre, 1924.

- 11 — 1926  
ABEN-ATHAR, J.  
Um caso de infecção para-melitense.  
Sci. Médica, 1926, 4(1):19-27.
- 12 — 1928  
VON BASSEWITZ, E.  
Epizootias do Brasil Austral. 1.<sup>a</sup> Parte.  
Rev. Zoot. Vet., 1928, 14(4):259-288.
- 13 — NEIVA, C.  
Relatório apresentado à Directoria de Industria Animal, novembro, 1928.
- 14 — 1929  
VON BASSEWITZ, E.  
A luta racional contra as epizootias.  
Trab. apres. III Congr. Criadores, Pôrto Alegre, 1929, Maio (Ref. em Pe-  
reira Filho, 1949).
- 15 — 1930  
NEIVA, C.  
Agglutininas para *Brucella abortus* em soros humanos.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(3):73-80.
- 16 — NEIVA, C. & MELLO, A.  
Molestia de Bang em São Paulo.  
Rev. Ind. Animal, 1930, 1(4):363-368; (5):469-476.
- 17 — NEIVA, C. & MELLO, A.  
Molestia de Bang em São Paulo.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(5):118-122.
- 18 — MELLO, A.  
Uma questão de patologia bovina em medicina humana.  
Rev. Ind. Animal, 1930, 1(6):610-620.
- 19 — NEIVA, C.  
Pathogenia de *Brucella abortus* para cobaias.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(6-7):141-146.
- 20 — NEIVA, C.  
Molestia de Bang e febre ondulante.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(6-7):163-178.
- 21 — SEIXAS, D. J.  
Sobre a organização de um serviço veterinário estadual. Aborto enzootico.  
A Estancia, 1929-1930, 13(1):22-26.
- 22 — 1931  
NEIVA, C.  
Poder bactericida do aldehydo formico.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1931, 2(1):7-10.
- 23 — NEIVA, C.  
Em torno do tratamento das brucelloses.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1931, 2(1):15-19.
- 24 — TORRES, S.  
Molestia de Bang.  
Rev. Zoot. Vet., 1931, 17(1):49-56.
- 25 — 1932  
NEIVA, C.  
Brucelloses e o perigo de sua transmissão ao homem.  
An. Paul. Med. Cir. 1932, 23(3):202.

- 26 — CARINI, A. & VESPUCCI, P.  
Primeiro caso autoctono de febre ondulante, comprovado pela hemocultura, observado no Brasil.  
Arch. de Biol., 1932, 15(171):135-138.
- 27 — PENNINO, J.  
Observação clinica de um caso de brucella no homem.  
Arch. de Biol., 1932, 15(171):138-139.
- 28 — BIER, O.  
Caracterização bacteriologica da amostra de Brucela, de proveniencia humana, isolada pelo Prof. Carini, em S. Paulo.  
Arch. de Biol., 1932, 15(171):140-141.
- 29 — 1933  
PACHECO, G.  
A posição sistemática das bacterias das febres ondulantes.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1933, 3(1-2):1-14.
- 30 — BARROS, O. M. DE & GIANONI, G.  
Sobre um caso de Brucelose em São Paulo (Nota previa).  
An. Paul. Med. & Cir., 1933, 26(2):125-126.
- 31 — BARROS, O. M. DE & GIANONI, G.  
Sobre um caso de brucelose, de São Paulo.  
Bol. Soc. Med. & Cir. de S. Paulo, 1933, 17(5-7):79-81.
- 32 — NEIVA, C.  
Brucelloses.  
Brasil-Med., 1933, 47(40):710-713.
- 33 — ANTUNES, A. & CARNEIRO, V.  
*Brucella suis* e sua ação patogênica para o homem (Terceiro caso de febre ondulante em São Paulo).  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1933, 3(5-6):107-119.
- 34 — CARNEIRO, V.  
Em torno da febre ondulante. Brucelose bovina e sua frequência em S. Paulo.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1933, 3(5-6):126-133.
- 35 — LIMA, C.; MELLO, A.; GOMES, L. S.; ALBUQUERQUE, M. & NEIVA, C.  
A febre ondulante em São Paulo. 1.º Relatório da "Comissão de Estudo da Febre Ondulante em S. Paulo."  
Rev. Ind. Animal, 1933, 3(10):1139-1147.
- 36 — PEREIRA-FILHO  
As brucelloses. Autoctonia do primeiro caso de febre ondulante pela *Brucella Abortus Bovis* observado no Rio Grande do Sul.  
Rev. Rad. e Clin., 1933, 2(6):755-772.
- 37 — 1934  
TRAMONTI, E.  
Contribuição clinica ao estudo da brucellose (febre ondulante) em S. Paulo.  
Novo therapia, 1934, 14(79):13-19.
- 38 — ARTIGAS, P. T.  
Febre ondulante. Estudo sobre os primeiros casos observados em S. Paulo.  
An. Paul. Med. Cir., 1934, 27(2):153-191.
- 39 — CARINI, A.  
Mais dois casos de febre ondulante.  
Arch. de Biol., 1934, 16(179):32-35.

- 40 — WEDERHAKE, C. J.  
Contribuição para o estudo das febres ondulantes.  
Tese — Fac. Med. de Porto Alegre.  
Tip. Gundlach, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 1934, 57 páginas.
- 41 — NEIVA, C.  
Agglutininas para o genero "*Brucella*" em soros de animaes.  
Rev. Ind. Animal., 1934, 4,2(1):81-85.  
Brasil-Med., 1934, 48(22):421-424.
- 42 — NEIVA, C.  
A espécie suina como fator na disseminação do gênero *Brucella*.  
Rev. Syniatr., 1934, 27(7-8):131-133.
- 43 — LACORTE, J. G.  
Nota sobre a occorrenca de determinadas moléstias infectuosas em algumas localidades do Brasil (Verificação retrospectiva).  
Brasil-Med., 1934, 48(39):795-796.
- 44 — CORREA, J. J.  
Primeiro caso de febre ondulante apparecido no Rio de Janeiro (Ensaio de tratamento pelo Neosalvarsan).  
Brasil-Med., 1934, 48(46):953-954.
- 45 — GODINHO, R.  
Resistencia de diferentes germes pathogenicos experimentalmente associados ao virus vaccinico.  
Mem. Inst. Butantan, 1933-34, 8:81-93.
- 46 — 1935  
LACORTE, J. G.  
Febre ondulante. Comprovação sorologica e bacteriologica referente ao primeiro caso assignalado no Rio de Janeiro. Nota prévia.  
Rev. Med. Cir. do Brasil, 1935, 43(2):43-45.
- 47 — PINTO, C.  
Brucelose.  
O Campo, 1935, 6(3):27-30; (4):15-17; (5):35-37; (6):46-48.
- 48 — LACORTE, J. G.  
*Brucella melitensis*. Nota sobre o germe por nós isolado do primeiro caso de febre ondulante assignalado no Rio de Janeiro.  
Brasil-Med., 1935, 49(26):575-576.
- 49 — FINAMOR, D.  
Novas pesquisas sobre o aborto contagioso (Mal de Bang).  
Aborto contagioso (Mal de Bang).  
Em: "O XII Congresso de Veterinaria e Serviço de Policia Sanitaria Animal nos Estados Unidos. Relatorio de Viagem".  
Bol. Dir. Agric., Ind. e Com., Porto Alegre, R. G. do Sul, 1935, Junho, n.º 35, páginas 38-40 e 84-88.
- 50 — NEIVA, C.  
Agglutininas para o genero *Brucella* em sôros humanos.  
An. Paul. Med. Cir., 1935, 30(1):5-6.
- 51 — LACORTE, J. G.  
A brucelose humana e o seu primeiro caso no Rio de Janeiro.  
Hospital, 1935, 7,2(9):915-940.
- 52 — 1936  
CARINI, A.  
Mais alguns casos de febre ondulante.  
Arch. de Biol., 1936, 20(190):14-16.

- 53 — MELLO, A.  
Nova amostra de *Brucella abortus* isolada em São Paulo.  
Rev. Ind. Animal, 1936, 5,3(1):115-123.
- 54 — RODRIGUES, C.  
Aborto infeccioso das vacas.  
Divulgação Scient. Div. Animal, Inst. Biol. S. Paulo, 1936: 4 págs.
- 55 — PECEGO, O.; HARDMAN, E. & BIFONE, J.  
Contribuição ao estudo da infecção brucellica nos suínos.  
Folha Vet., 1936, 1(5):70-79.
- 56 — ASSIS, A. DE  
Sôbre um caso de brucelose crônica humana com localização brucelar dentária.  
Hospital, 1936, 8,2(7):677-686.
- 57 — FLOZINI, C.  
Febre de Malta ou Septecemia de Bruce.  
Em: "Molestias Infecciosas" — I. Porto Alegre, 1936: 17-27.
- 58 — BOTTINI, A.  
Brucellose humana.  
Brasil-Med., 1936, 50(47):1014-1018.  
Arq. Riogr. Med., 1937, 16(4):157-162.
- 59 — 1937  
CARINI, A.  
Ainda um caso de febre ondulante causada por *Brucella suis*.  
Arch. de Biol., 1937, 21(196):11-12.
- 60 — BARROS, O. M. DE  
As bruceloses humanas no Brasil. A proposito de alguns casos observados em São Paulo.  
Rev. Clin. de S. Paulo, 1937, 1(1):24-42.
- 61 — LACORTE, J. G.  
A sêro-aglutinação no diagnostico das bruceloses.  
Hospital, 1937, 9,11(2):205-209.
- 62 — STAVALE, A.  
Um caso de brucellose.  
Rev. Clin. de S. Paulo, 1937, 1(3):135-139.
- 63 — BARBOSA, D. M.  
Brucellose humana e dos animais.  
Arq. Riogr. Med., 1937, 16(4):261-265.
- 64 — LACORTE, J. G.  
Segunda nota sobre a ocorrencia de determinadas molestias infectuosas em algumas localidades do Brasil (Verificação retrospectiva).  
Brasil-Med., 1937, 51(20):561-563.
- 65 — PACHECO, G. & PARÁ, M.  
L'action bacteriolytique du menthol.  
C. R. Soc. Biol., 1937, 125:1099-1100.
- 66 — MAGALHÃES, O. DE  
Febre de Malta (Nota previa).  
Brasil-Med., 1937, 51(51):1247.
- 67 — DANTAS, A. V.  
Aborto infeccioso.  
Relatório Inspec. Reg. Def. San. An., Salvador, Bahia, 1937 (Ref. em Alice).

- 68 — SEIXAS, D. J.  
Moléstia de Bang nos bovinos.  
Bourgelat, 1937, 1(2):48-50.
- 69 — LEÃO, R. L. (R. L. L.)  
Sobre a brucellose humana no Brasil. Casos de brucelloses humanas  
assinalados até a presente data (Bibliografia).  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1937, 4(2):93.
- 70 — 1938  
LACORTE, J. G.  
Os exames de laboratorio no diagnostico das bruceloses.  
Acta Medica, 1938, 1(1):90-92.
- 71 — LACORTE, J. G.  
A disseminação das bruceloses.  
Acta Medica, 1938, 1(3):279-280.
- 72 — CORRÊA, O.  
O abôrto epizootico ou mal de Bang.  
Bol. Secr. Agr., Ind. e Com., R. G. Sul, 1938, Março, n.º 64:1-11.
- 73 — MELLO, A. & MASTROFRANCISCO, N.  
A manteiga como veiculo de infecção pela *Brucella*.  
Rev. Ind. Animal, 1938, N. S., 7, 1(2):19-27.
- 74 — PINTO, A. B.  
Sobre o isolamento de *Brucella Melitensis* de um baço de suino.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1938, 8(3):184-188.
- 75 — LACORTE, J. G.  
A opsonocitofagia no diagnostico das bruceloses.  
Acta Medica, 1938, 2(2):171-172.
- 76 — MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Teor em aglutininas do sangue da veia mamária e da veia jugular, na  
brucelose.  
Rev. Ind. Animal, 1938, N. S., 7, 1(4):150-158.
- 77 — LIMA, J. P. C.  
Hemocultura em "Liquoid".  
Brasil-Med., 1938, 52(53):1184-1186.
- 78 — 1939  
MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Brucelose e soro-aglutinação.  
Rev. Ind. Animal, 1939, N. S., 8, 2(1):142-157.
- 79 — VASCONCELOS, F. DE  
Sobre 3 amostras de Brucelas suis isoladas de hemoculturas.  
Rev. Clin. S. Paulo, 1939, 5(3):90-94.
- 80 — LACORTE, J. G.  
Reação de fixação do complemento nas bruceloses.  
Acta Medica, 1939, 3(6):376-377.
- 81 — ROGICK, F. A.  
Contribuição ao estudo da lactosoroaglutinação na brucelose bovina.  
Rev. Ind. Animal, 1939, N. S., 8,2(3):22-40.
- 82 — LACORTE, J. G.  
A vacinoterapia nas bruceloses.  
Acta Medica, 1939, 4(2):104.

- 83 — MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Ensaio de quimioterapia nas bruceloses. I — Sulfanilamida-Dagenan.  
Rev. Ind. Animal, 1939, N. S., 8,2(4):93-108.
- 84 — PACHECO, G.; PÉRES, J. N. & MATTOSO, I. V.  
Investigações sobre a capacidade sulfurigena das bacterias.  
Mem. Inst. Osw. Cruz, 1939, 34(4):527-546.
- 85 — 1940  
ROGICK, F. A.  
Presença da *Brucella abortus* no leite.  
Rev. Ind. Animal, 1940, N. S., 9,3(1):7-33.
- 86 — LACORTE, J. G.  
Brucelas e bruceloses.  
Anuario Bras. de Med., Rio, Ed. Pongetti, 1940: 140-154.
- 87 — LACORTE, J. G.  
A formação de H<sub>2</sub>S e o diagnostico das brucelas.  
Acta Medica, 1940, 5(1):50-51.
- 88 — MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Ensaio de quimioterapia nas bruceloses. II — Dagenan.  
Rev. Ind. Animal, 1940, N. S., 9,3(2-3):20-25.
- 89 — FONSECA, J. M. DA  
Sobre alguns casos de brucelose.  
Bol. Acad. Nac. Med., 1940, 112(2):57-60.
- 90 — SANSON, D. DE  
Caso suspeito de brucelose humana.  
Bol. Acad. Nac. Med. 1940, 112(2):60-61.
- 91 — MACIEL, H.  
Caso suspeito de brucelose humana.  
Bol. Acad. Nac. Med., 1940,112(2):61.
- 92 — FALLEIROS, F.  
Primeiro caso de Brucelose humana identificado em Franca.  
Arq. de Biol., 1940, 24(229):173-174.
- 93 — CARINI, A.  
Considerações a respeito deste caso de Brucelose (do Dr. Falleiros).  
Arq. de Biol., 1940, 24(229):174-175.
- 94 — NEVES, J. A. & PÉRES, J. N.  
Investigações sobre a brucelose na "Fazenda Escola Florestal".  
Relatório à Secr. Agric. Estado Minas Gerais, 1940, 30 págs. (Ref. em Rev.  
Bras. Biol., 1950, 10(3):375.
- 95 — NEVES, A. & PÉRES, J. N.  
Investigações sobre a brucelose animal em Minas Geraes. I. Comprova-  
ção bacteriologica.  
Brasil-Med., 1940, 54(30):507-509.
- 96 — PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
A capacidade sulfidrigena (produção de H<sub>2</sub>S) é uma propriedade geral  
das bacterias heterotroficas.  
Mem. Inst. Osw. Cruz, 1940, 35(2):381-397.
- 97 — MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
A flora colibacilar do queijo tipo Minas e toxi-infecção alimentar. (Dados  
tecnológicos). Pesquisas do grupo *Escherichia-Aerobacter*, do *M. tuber-  
culosis* e do gênero *Brucella*.  
Rev. Ind. Animal, 1940, N. S., 9,3(4):34-50.

- 98 — OLIVEIRA, M.C.  
Sôro-Aglutinação na Brucelose.  
Tese — Esc. Med. e Cir. Inst. Hanem., Rio, Alba Of. Gráf., 1940: 86 págs.
- 99 — 1941  
ROGICK, F. A.  
Pesquisas sôbre a brucelose caprina em São Paulo.  
Rev. Ind. Animal, 1941, N. S., 10,4(1):33-37.
- 100 — PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
Mentolise bacteriana.  
Rev. Bras. Biol., 1941, 1(1):87-93.
- 101 — PACHECO, G.  
Nota sobre a inclusão das brucelas na soro-reação da prova de Widal.  
Hospital, 1941, 19(4):625-628.
- 102 — CORRÊA, O. & QUINTANA, M.  
O terneiro e sua patologia. IV. Mal de Bang.  
Bol. Secr. Agric., Ind. e Com., R. G. Sul, 1941, Maio, n.º 87: 21-27.
- 103 — PACHECO, G.  
Sobre a febre ondulante ou brucelose.  
Arq. Hig., 1941, 11(1):157-179.  
Rev. Ciencias Biol., La Paz, Bolivia, 1943, 3(15):3-22.
- 104 — CORRÊA, O.  
Mal de Bang.  
Rev. Agronômica, 1941, 5(53-54):295-298.
- 105 — TELES, L. Q.  
Brucelas. Ação sobre nitrato.  
Rev. Inst. Adolfo Lutz, 1941, 1(1):142-152.
- 106 — BARROS, O. M. DE; VASCONCELOS, F. & ROSENFELD, G.  
A proposito das formas viscerais da brucelose humana.  
Arq. Cir. Clin. Exper., 1941, 5(Jun.-Ago.):299-310.
- 107 — SCHWAB, A.  
Considerações em torno de um caso de brucelose.  
Brasil-Med., 1941, 55(35):601-603.
- 108 — PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
Influência da sulfanilamida sobre a imunidade.  
Rev. Bras. Biol., 1941, 1(3):321-324.
- 109 — LACORTE, J. G.  
O genero "Brucella" (Considerações gerais sobre as bruceloses e sobre o primeiro caso dessa infecção assinalado no Rio de Janeiro).  
Acta Medica, 1941, 8(3):137-166.
- 110 — 1942  
LACORTE, J. G.  
O genero "Brucella" e as bruceloses.  
Em "Temas de bacteriologia", Gráf. Milone Ltda., Rio, 1942: 15-42.
- 111 — CORRÊA, O.  
Brucelose  
Em "Principais doenças dos suínos" — Bol. Secr. Agric., Ind. e Com., R. G. Sul, 1942, Janeiro, n.º 94:30-32.
- 112 — TORRES, S.  
Diagnostico da brucelose, nos bovinos, pela prova de sôro aglutinação rápida, em placa.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1942, 11(3):85-95.

- 113 — CAUSEY, O. R. & CAUSEY, C. E.  
Sobre a ocorrência da brucelose no Estado do Ceará, Brasil.  
Hospital, 1942, 22(3):443-445.
- 114 — CUNHA, J. B. DA & BIFONE, J.  
Primeiras observações sistematizadas sobre a infecção por Brucellas em operários de matadouros.  
Relatório apresentado ao Diretor do Departamento Nacional da Produção Animal, 1942 (Ref. em Horta, 1942).
- 115 — HORTA, P. P.  
Bruceloses  
Atas da XI Conf. San. Panam., Rio, 1942: 112-171.  
Arq. Hig., 1942, 12(3):113-176.
- 116 — LACORTE, J. G.  
Diagnostico de laboratorio das bruceloses.  
Atas da XI Conf. San. Panam., Rio, 1942: 171-172.
- 117 — SILVA, N. N. DA  
Situação atual da brucelose no Rio Grande do Sul.  
Atas da XI Conf. San. Panam., Rio, 1942: 256-263.
- 118 — HORTA, P. F. P.  
Formas clinicas da brucelose humana.  
Brasil-Med., 1942, 56(42-44):483-485.
- 119 — BUENO, P.  
Histopatologia dos ganglios linfáticos na brucelose suina.  
Arq. Inst. Biol., 1942, 13(26):291-298.
- 120 — 1943  
LEMMÉ JUNIOR  
Brucelose crônica de localização dentária.  
Rev. Bras. Odont., 1943, n.º 2: 50-54.
- 121 — CORRÊA, O.  
A Brucelose no Rio Grande do Sul.  
Rev. Agronômica, 1943, 7(74):93-94.
- 122 — ROGICK, F. A.  
Bruceloses.  
Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 183-223.  
Rev. Ind. Animal, 1944, N. S., 13, 7(1-2):97-128.
- 123 — D'APICE, M.  
Vacinação contra a brucelose.  
Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 225-233.
- 124 — HIPÓLITO, O.; SOUZA, R. DE & GIÓVINE, N.  
Brucelose e soro-aglutinação em Minas Gerais.  
Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 235-240.  
Arq. Esc. Sup. Vet., Estado de Minas Gerais, 1943, 1:31-34.
- 125 — CORRÊA, O.  
A brucelose no Rio Grande do Sul. Aspectos clínico e profilático.  
Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 241-247.
- 126 — HIPÓLITO, O. & GIÓVINE, N.  
Sobre um caso de orquite brucélica em zebu, comprovada pela aglutinação.  
Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 250-256.  
Arq. Esc. Sup. Vet., Estado de Minas Gerais, 1949, 2:11-15.

- 127 — PACHECO, G.; NOVAES, J. L. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose ocular  
Brasil-Med., 1943, 57(45-46):433-438.
- 128 — VIGNOLI, J.  
Aspectos da brucelose como problema clínico de atualidade.  
Med., Cir., Farm., 1943(92):586-599.
- 129 — SILVA, N. N. DA  
A Brucelose no Rio Grande do Sul.  
Arq. Depart. Estadual de Saúde, R. G. Sul, 1943, 4:7-14.
- 130 — D'APICE, M.  
Brucelose bovina (Abôrto contagioso bovino).  
Rev. Criadores, 1943, 14(14):10-12; (15):35-36; (16):37-40.
- 131 — Anônimo  
Instruções para diagnóstico da brucelose pela sôro-aglutinação rápida em placas de vidro. Organizadas pela Secção de Patologia Animal. Publicação n.º 860, Serv. Inf. Agric., Min. Agric., Rio, 1943, 6 páginas.
- 132 — 1944  
MADRUGA, M.  
Um caso de febre ondulante.  
Rev. Flum. Med., 1944, 9(3):49-51.  
Biol. Médica, 1945, 3(2):63-64.
- 133 — LACORTE, J. G.  
Sôro-aglutinação. Bruceloses.  
Em "Temas de Imunologia", Livr. Odeon Ed., Rio, 1944: 42-45.
- 134 — MOSCI, A.  
Em tôrno da incidência das bruceloses em animais.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1944, 13(2):105-117.
- 135 — SODRÉ, L.  
Retocolite brucélica. Nota prévia.  
Brasil-Med., 1947, 58(30-31):277-279.
- 136 — LACORTE, J. G.  
Brucelose humana.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(8):665-671.
- 137 — ROGICK, F. A.  
Problemas sôbre a tuberculose e a brucelose.  
Rev. Rural Bras., 1944, 24(287):22-24.
- 138 — COTRIM, M. R.  
Brucelose.  
Labor. Clínico, 1944, 24(189):237-242.
- 139 — BUENO, P.  
Natureza das lesões orgânicas da brucelose nos animais e no homem.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(9):750-758.
- 140 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. I — Disseminação da doença no homem e nos animais.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(10):863-870.
- 141 — SILVA, O. M. DE C. E  
Abôrto das vacas.  
Bol. Com. Exec. do Leite, 1944, 3(32).

- 142 — BUFF, V.  
Bruceloses. Contribuição bibliográfica.  
Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo, 1944, 2(4):275-295.
- 143 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose como problema médico-social. II — Patologia.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(12):1032-1037.
- 144 — PÉRES, J. N.  
Pesquisas de aglutininas para "Brucella abortus" em soros Widal negativos.  
Brasil-Med., 1944, 58(49-50):449-450.
- 145 — BUFF, V.  
A vacinação no combate à brucelose bovina (Contribuição bibliográfica).  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1944, 6(2):131-135.
- 146 — 1945  
NEVES, J. A.; PÉRES, J. N. & PENNA SOBRINHO, O.  
Investigações sobre a brucelose animal no Estado de Minas Gerais.  
II — Dados sorológicos — Inedito.  
Referência em Péres, 1945. Informação pessoal de Péres, em 1947.
- 147 — PÉRES, J. N. & NEVES, J. A.  
Investigações sobre a brucelose animal no Estado de Minas Gerais.  
III — Sôro-agutinações em bovinos — Inedito.  
Referência em Péres, 1945. Informação pessoal de Péres, em 1947.
- 148 — PÉRES, J. N.  
A febre ondulante no Estado de Minas Gerais.  
Brasil-Med., 1945, 59(1-2):2-4.
- 149 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose como problema médico-social. III — Brucelose crônica.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(2):135-139.
- 150 — Anônimo  
Comissão de Estudos de Brucelose.  
Boletim Dir. Prod. Animal, Pôrto Alegre, 1945, 1(1):75.
- 151 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médicosocial. IV — A brucelose na infância.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(3):195-199.
- 152 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. V — Espondilite brucelosa.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(4):299-308.
- 153 — D'APICE, M.  
Considerações sôbre a vacinação com "Brucella 19" dos bezerros, novilhas e vacas.  
O Biológico, 1945, 11(4):95-100.
- 154 — ARAGÃO, R. M. DE  
Breve notícia sôbre as bruceloses.  
Res. Méd., 1945, 12(2):67-76.
- 155 — LIMA, E. E. DE  
Da possível influência da brucelose nas afecções otorrinolaringológicas.  
Imprensa Méd., 1945, 21(377):37-43.
- 156 — PACHECO, G.  
Brucelose equina no Brasil.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1945, 14(1-2):3-5.

- 157 — D'APICE, M. & PENHA, A. M.  
Vacinação dos bezerros e adultos com a "Brucella 19" como campanha geral de combate à brucelose bovina.  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1945, 7(1):31-41.  
Anais 3.º Congr. Bras. Vet., Porto Alegre, 1945:409-417.
- 158 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema social. VI — Afecções ósseas, articulares e musculares, ou afecções do aparelho locomotor.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(6):507-512.
- 159 — FIALHO, S. A.  
Manifestações oculares da brucelose.  
Rev. Bras. Oftalm., 1945, 3(4):189-200.
- 160 — Anônimo  
A brucelose ou abôrto contagioso dos bovinos e o Instituto Biológico.  
Bol. de Agric., S. Paulo, 1945, Série 46 (N.º único):362-365.
- 161 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose como problema médico-social. VII — Alterações neuropatológicas.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(9):801-806.
- 162 — SILVA, O. M. DE C.  
Bruceloses  
Bol. Com. Exec. do Leite, 1945, 4(45):165-169.
- 163 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. VIII — Brucelose pulmonar.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(10):884-889.
- 164 — CORRÊA, O.  
A profilaxia da brucelose bovina no Rio Grande do Sul.  
Anais 3.º Congr. Bras. Vet., Pôrto Alegre, 1945: 476-481.
- 165 — PÉRES, J. N.; ANGELO, P. & MALHEIROS, C.  
Investigações sôbre a febre ondulante em Belo Horizonte (Estado de Minas Gerais).  
Anais 3.º Congr. Bras. Vet., Pôrto Alegre, 1945: 558-564.
- 166 — RUSSO, E.  
Da significação da sôro-aglutinação na brucelose dos equídeos.  
(Nota prévia).  
Anais 3.º Congr. Bras. Vet., Pôrto Alegre, 1945: 598-611.
- 167 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. IX — Alterações das vias digestivas e dos órgãos anexos.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(11):964-969.
- 168 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Estomatite brucelosa.  
Med., Cir., Farm., 1945 (115):629-632.
- 169 — BARROS, M. Q. DE  
Brucellose e aborto habitual.  
Rev. Gin. e Obst., 1945, 39, 2(5):212-228.
- 170 — D'APICE, M.  
Bruceloses animais.  
Folheto n.º 105, Instituto Biológico, S. Paulo, 1945, 29 páginas.

- 171 — 1946  
PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. X — Alterações do sangue e do aparelho circulatório.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(1):70-74.
- 172 — Anônimo  
Sôbre a brucelose bovina na Bahia e em Sergipe.  
Bol. Insp. Reg. Def. San. Animal, Salvador, 1946 (8):41.
- 173 — Anônimo  
Doenças verificadas e combatidas pelo pessoal da Inspetoria Regional, no exercício de 1945.  
Bol. Insp. Reg. Def. San. Animal, Salvador, 1946 (8):7-13.
- 174 — GESTEIRA, M.  
O jubileu médico do Prof. João Américo Garcez Frôes.  
Brasil-Med., 1946, 60(5-6):45-46.
- 175 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XI — Brucelose urogenital e a questão do abôrto humano.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(3):219-224.
- 176 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Considerações clínicas em tôrno da brucelose.  
Brasil-Med., 1946, 60(16-17):140-144.
- 177 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XII — Doença focal.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(5):395-397.
- 178 — MOREIRA, P. M.  
Notas epidemiológicas sôbre algumas doenças transmissíveis no Rio Grande do Sul.  
Anais Fac. Med. Pôrto Alegre, 1946, 7(1):9-51.
- 179 — D'APICE, M.  
Evolução dos métodos de combate à brucelose bovina.  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1946, 7(3):208-218.
- 180 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XIII — Brucelose cutânea.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(6):485-487.
- 181 — LAMOUNIER, R. D. & PEREIRA, P. C.  
Incidência da brucelose em bovinos de matadouro.  
Anais Inst. Pinheiros, 1946, 9(17):1-4.
- 182 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XIV — Brucelose ocular e otolaringológica.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(7):574-577.
- 183 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XV — Diagnóstico.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(9):740-744.
- 184 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelosis en el Brasil. Con especial referencia a las formas afebriles.  
1.ª Reun. Interamer. Brucelosis, México, 1946: 63-68.
- 185 — GREY, J. M.  
Brucelose bovina: problema de Saúde Pública.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(11):912-915.

- 186 — ROCHA, J. S.  
Bruceloses e Peste Suína.  
Observador Técnico, Niterói, 1946 (3-4):3-8.
- 187 — BUFF, V.  
Brucelas. Contribuição bibliográfica.  
Rev. Fac. Med. Vet., S. Paulo, 1946, 3(3):157-166.
- 188 — MENEZES, O. B. DE  
Inquérito sobre a brucelose bovina no Estado de Alagoas.  
Relatório apresentado ao Inspetor Chefe da Defesa Sanitária Animal em Recife, 1946.
- 189 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose.  
Capítulo 50 de "Strümpell-Capriglione". Patologia e terapêutica das doenças internas, Tomo I — Doenças infectuosas agudas. Edição Brasileira; trad. da 33.<sup>a</sup> ed. alemã. Editora Científica, Rio, 1946: 1027-1122.
- 190 — EICHBAUM, F. W.  
Biological properties of anacardic acid (O-pentadecadienyl- salicylic acid) and related compounds.  
Mem. Inst. Butantan, 1946, 19:69-133.
- 191 — 1947  
PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XVI — Tratamento.  
Rev. Bras. Med., 1947, 4(1):42-44.
- 192 — CAUSEY, C. E. & AZEVEDO, M. C.  
Infecção por Brucella no homem e no gado em Belém, Pará.  
Rev. Serv. Esp. S. Públ., 1947, 1(1):77-86.
- 193 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose apirética. Considerações em torno de 416 casos.  
Brasil-Med., 1947, 61(5-7):35-40.
- 194 — PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XVII — Conclusão.  
Rev. Bras. Med., 1947, 4(2):136-138.
- 195 — GÓES, P. DE  
Estudos sobre a imunidade cruzada.  
Tese — Fac. Nac. Farm., Ed. Jornal do Comércio, Rio, 1947, 352 páginas.
- 196 — MADRUGA, M.  
Sensibilidade das brucelas à penicilina.  
Hospital, 1947, 31(3):481-496.
- 197 — XAVIER, M.  
Estão sendo dizimados os rebanhos de Mato Grosso (Entrevista).  
A Manhã, Rio de Janeiro, 14-VIII-1947.
- 198 — FRANCO, O. P.  
Brucelose versus neurose. Tentativa de apreciação.  
Rev. Med. Cir. do Brasil, 147, 55(7-8):95-96.
- 199 — LACAZ, C. S.; FAVA NETO, C. & COSTA, O.  
Prova de soro-aglutinação rápida em doentes não infectados de brucelose.  
Anais Paul. Med. Cir., 1947, 54(3):209.
- 200 — SILVA, N. N. DA  
Brucelose. O problema humano e veterinário no Rio Grande do Sul (2.<sup>a</sup> comunicação).  
Hospital, 1947, 32(6):925-938.

- 201 — CORRÊA, O.  
Brucelose. Em "Higiene e profilaxia em medicina veterinária".  
Ed. Chácaras e Quintais, São Paulo. 1947.
- 202 — SILVA, N. N. DA  
Brucelose: o problema humano e veterinário do Rio Grande do Sul  
(Brasil).  
Memorias Primer Congr. Nac. Brucelosis, Montevideo, 1947, Diciembre:  
86-100.
- 203 — D'APICE, M. & PENHA, A. M.  
Plano de combate à brucelose bovina no Estado de São Paulo.  
Memorias Primer Congr. Nac. Brucelosis, Montevideo, 1947, Diciembre:  
117-125.
- 204 — 1948  
MEDEIROS FILHO, A.  
Brucelose como problema de saúde pública.  
4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 27.
- 205 — CUNHA, J. B. DA & BIFONE, J.  
Brucelose e o trabalho em matadouros.  
4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 27.  
Bol. Div. Def. San. Animal, 1950, 1:66-87.
- 206 — ALICE, F. J.  
Notas sôbre a incidência da brucelose na Bahia.  
4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 27.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1950, 10(3):69-73.
- 207 — D'APICE, M. & PENHA, A. M.  
Plano de combate à brucelose bovina no Estado de S. Paulo.  
4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 27.
- 208 — D'APICE, M.; ALICE, F. J. & BUFF, V.  
Brucelose: incidência e disseminação nos rebanhos do Brasil; plano de  
profilaxia; a brucelose como problema de saúde pública.  
Relatório da Comissão para êsse tema.  
4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 28-32.
- 209 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Ação da tirotricina sôbre brucelas.  
Brasil-Med., 1948, 62(12-13):131-135.
- 210 — D'APICE, M.  
Bruceloses animais.  
O Biológico, 1948, 14(3):65-69.  
Rev. Criadores, 1948, 19(7):64-66.
- 211 — PENHA, A. M.  
Defesa Sanitária Animal.  
O Biológico, 1948, 14(12):273-276.
- 212 — LACAZ, C. DA S.; FAVA NETO, C. & COSTA, O.  
Reações de soro-aglutinação com antígeno de brucela em portadores de  
infecções não brucelósicas.  
Rev. Bras. Med., 1948, 5(4):243-246.
- 213 — PACHECO, G.  
Diagnóstico da brucelose (Resposta assinada).  
Rev. Bras. Med., 1948, 5(5):363-364.
- 214 — BUENO, P. & MONICI, N.  
Lesões vasculares ocorrendo na placenta, em casos de brucelose bovina.  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1948, 8(2):55-60.

- 215 — ROCHA, U. F.  
Contrôle da fecundidade em 154 vacas zebu, portadoras de brucelose.  
Comparação entre cobertura natural e inseminação artificial.  
Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo, 1948, 3(4):327-330.
- 216 — MELLO, M. T. DE  
Nota sobre o trabalho de R. R. Birch: "Limitações da vacinação contra a brucelose".  
Veterinária, 1948, 2(2):9-10.
- 217 — HIPÓLITO, O.  
As bruceloses  
Capítulo I de "Doenças dos animais transmissíveis ao homem".  
Monografia n.º 687, Serv. Inf. Agríc., Min. Agríc., Rio, 1948: 7-15.
- 218 — PACHECO, G.  
A propos de la brucellose.  
Bruxelles-Medical, 1948, 28(34).
- 219 — SOUZA, H. R.  
Sobre um meio de cultura à base de placenta humana.  
Hospital, 1948, 34(2):293-297.
- 220 — OLIVEIRA, D. B. DE  
Brucelose e oftalmologia.  
Trabalho apresentado à 5.ª Jornada Oftalm. Bras., Campinas, 1948.  
Inédito — Resumo em "Arq. Inst. Penido Burnier, Campinas, 1949, 8:  
132-133'.
- 221 — FERNANDES, R.; MUNIZ, E. & MENDES, W.  
Brucelose pulmonar cavitária.  
Clín. Tisiológica, 1948, 3(11):483-488.
- 222 — Anônimo  
Estado zoonitário do Rio Grande do Sul. Primeiro Semestre de 1948.  
Bol. Dir. Prod. Animal, Pôrto Alegre, 1948, 4(6):45-51.
- 223 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Ação de um antibiótico do alho, sobre brucelas, "in vitro".  
Mem. Inst. Osw. Cruz, 1948, 46(4):661-667.  
Rev. Mexicana Med. Vet. y Zoot., 1951, 6(1):19-26.
- 224 — CRUZ, E. & LEMOS JR., A.  
A brucelose humana no interior do Estado de São Paulo.  
Arq. Hig. Saúde Públ., 1948, 13(35-38):75-92.
- 225 — D'APICE, M.  
Considerações sobre o combate à brucelose bovina no Estado de São Paulo, mediante a aplicação da "Brucella 19".  
Trab. apres. 5.ª Reunião Anual de Med. Vet., São Paulo, 3-VII-1948. Ref. em Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1949, 8(3):185.
- 226 — LACERDA, P. M. G. DE  
Contribuição para o estudo das variações do poder bactericida do plasma na brucelose bovina.  
Tese, Fac. Paul. Med. Vet., S. Paulo, 1948.
- 227 — 1949  
MELLO, M. T. DE  
Segundo Congresso Interamericano de Brucelose.  
Bol. Vet. Mil., 1949, 3(21):1-4.
- 228 — CORRÊA, O.  
A incidência da brucelose e da tuberculose bovina no R. G. do Sul.  
A Granja, P. Alegre, 1949, 5(39-40):25-26.

- 229 — RIBEIRO, P. A.  
Incidência das causas de rejeição de suínos no Brasil Central — Prejuízo causado pelas mesmas nos anos de 1946-1947.  
Veterinária, 1949, 3(1):35-56.
- 230 — SILVA, N. N. DA  
Bases e plano de combate à brucelose no Rio Grande do Sul.  
Congr. Méd. Comem. Cincoent. Fac. Med. Pôrto Alegre, 1949, Março: 4 páginas.
- 231 — PEREIRA FILHO, M.  
Diagnóstico e tratamento da brucelose.  
Congr. Méd. Comem. Cincoent. Fac. Med. Pôrto Alegre, 1949, Março: 32 páginas.
- 232 — LACORTE, J. G.  
Divergências nos exames de laboratório quanto ao tifo e a brucelose (resposta assinada).  
Rev. Bras. Med., 1949, 6(4):263.
- 233 — PACHECO, G.  
Comentários em torno do 2.º Congresso Interamericano de Brucelose.  
Rev. Bras. Med., 1949, 6(4):282-284.
- 234 — MACEDO, J. N.  
Doenças dos animais transmissíveis ao homem.  
Rotary Club de Belo Horizonte, Boletim Semanal, 1949, 21(62):4-6.
- 235 — LACERDA, P. M. G. DE; SIQUEIRA, M. & BIER, O.  
Anticorpos inibidores da ação bactericida do plasma normal.  
Ciência e Cultura, 1949, 1(3):104-106.
- 236 — CORRÊA, O.  
Pesquisa de aglutininas em bovinos inoculados intra-rumem com brucella morta. Nota prévia.  
A Granja, Pôrto Alegre, 1949, 5(45):5-6.  
A Granja, Pôrto Alegre, 1949, 5(47-48):78-80.
- 237 — MELLO, M. T. DE  
Importância da brucelose. I — Introdução.  
Brasil-Médico, 1949, 63(32-33):208-210.
- 238 — PACHECO, G.  
Diagnóstico da brucelose pela reação cutânea.  
Rev. Bras. Med., 1949, 6(5):343.
- 239 — Anônimo  
A cloromicetina na brucelose.  
Notas Terapêuticas, Rio, 1949, 26(5):137-139.
- 240 — FERNANDES, R.  
Brucelose pulmonar.  
Clín. Tisiol., 1949, 4(1):217-232.
- 241 — PACHECO, G.  
Brucelose pulmonar.  
An. 3.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, 1949, Setembro: 307-313.
- 242 — GOUVÊA, P.  
Considerações em torno da brucelose crônica.  
An. 3.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, 1949, Setembro: 315-323.  
Fôlha Médica, 1952, 33(9):69-72.

- 243 — MELLO, M. T. DE  
Importância da brucelose. II — Importância médica.  
Brasil-Médico, 1949, 63(36-37):242-248.
- 244 — CORRÊA, O.  
Pesquisa de aglutininas em bovinos que ingeriram brucella morta. 2.<sup>a</sup>  
nota prévia.  
A Granja, Pôrto Alegre, 1949, 5(47-48):80-81.
- 245 — SALTÊS, P.  
Contribuição à adoção de um método de profilaxia da brucelose bovina  
no Rio Grande do Sul.  
Tese, Esc. Agronomia e Veterinária, Univ. R. G. Sul, Pôrto Alegre, 1949:  
93 págs.
- 246 — MACEDO, L. R. T. DE  
Ação bacteriostática e bactericida, "in vitro", do ácido p-amino-salicílico  
(sal sódico) sobre as brucelas.  
Tese, Esc. Flum. Medicina Veterinária, Niterói, 1949: 61 páginas.
- 247 — MELLO, M. T. DE  
Importância da brucelose. III — Importância veterinária.  
Brasil-Médico, 1949, 63(40-52):289-291.
- 248 — LACERDA, P. M. G.; SIQUEIRA, M. & BIER, O.  
Anticorpos inibidores da ação bactericida do plasma normal.  
Rev. Bras. Biol., 1949, 9(4):512.
- 249 — PALMQUIST, O. K.  
Brucelose no Paraná.  
Tese, Esc. Sup. Agric. Vet., Paraná, 1949.  
Bol. n.º 17, Inst. Biol. Pesq. Tecn., Paraná, 1949: 50 págs.
- 250 — HIPÓLITO, O.  
Bruceloses — Abôrto infeccioso.  
Capítulo VII de "Doenças Infecto-Contagiosas dos Animais Domésticos".  
Série Didática n.º 8, Serv. Inform. Agric., Min. Agric., Rio, 1949:46-63.
- 251 — MEDEIROS, M.  
Um caso de meningite brucelosa.  
Arq. Med. Cir. Pernambuco, 1949, I,2:151-156.
- 252 — AZEVEDO, R.  
Considerações em torno de dois casos de brucelose humana observados  
no Recife.  
Arq. Med. Cir. Pernambuco, 1949, I,4:359-364.
- 253 — 1950  
PLANET, N.  
Diagnóstico de laboratório da brucelose (Resumo).  
Rev. Paul. Med., 1950, 37(1):69-70.
- 254 — MELLO, M. T. DE  
Importância da brucelose. IV — Importância econômica.  
Brasil-Médico, 1950, 64(1-4):15-20.
- 255 — MELLO, M. T. DE  
Importância da brucelose. V — Importância social.  
Brasil-Médico, 1950, 64(5-8):49-52.  
Brasil-Médico, 1950, 64(22-30):93-98.
- 256 — BOUVIER, G.  
A luta contra a brucelose bovina na Suíça.  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1950, 8(4):225-232.

- 257 — D'APICE, M. & PENHA, A. M.  
Combate à brucelose bovina mediante aplicação da "Brucella 19" nos animais adultos.  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1950, 8(4):237-247.
- 258 — ARAUJO, P.  
Considerações sobre o tratamento das bruceloses.  
Rev. Paul. Med., 1950, 37(4):293 (resumo).
- 259 — ARAUJO, P.  
Considerações sobre dois casos de brucelose.  
Rev. Paul. Med., 1950, 37(6):543-546.
- 260 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Urease test for the differentiation of *Brucella suis*.  
Bacteriological Proceedings, 50th General Meeting, Soc. Amer. Bact., 1950: 57.
- 261 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Urease test for the differentiation of *Brucella suis*.  
Journal of Bacteriology, 1950, 59(5):689-691.
- 262 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Brucelose humana no Brasil (Contribuição para o estudo da casuística nacional).  
Memórias Inst. Osw. Cruz, 1950, 48(1-2):393-436.
- 263 — MUNIZ, J.  
Conditioned hemolysis as a phenomenon of a more general character.  
5.º Congr. Intern. Microb., Rio de Janeiro, 1950, Agosto. Em impressão.
- 264 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Effect of sodium oleate on *Brucella suis* infection in mice.  
5.º Congr. Intern. Microb., Rio de Janeiro, 1950, Agosto. Em impressão.
- 265 — BRAGA, J. W.  
Problemas de Veterinária no Nordeste do Brasil.  
Anais 5.º Congr. Bras. Vet., S. Paulo, 1950, Agô.-Set.: 71-96.
- 266 — D'APICE, M.  
Brucelose bovina.  
Anais 5.º Congr. Bras. Vet., S. Paulo, 1950, Agô.-Set.: 153-174.
- 267 — MENEZES, H. T. DE  
Contribuição para o estudo da brucelose bovina no Triângulo Mineiro.  
Anais 5.º Congr. Bras. Vet., S. Paulo, 1950, Agô.-Set.: 649-657.
- 268 — D'APICE, M.  
Brucelose Suína.  
O Biológico, 1950, 16(9):180-184.
- 269 — Anônimo  
Atividades das Inspetorias Veterinárias no 1.º Semestre de 1950.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1950, 5(9):76.
- 270 — PACHECO, G.  
Escrofula brucelosa. Considerações em torno de um caso.  
Rev. Bras. Med., 1950, 7(10):651-655.
- 271 — MELLO, M. T. DE  
Animal Brucellosis in Brazil.  
Third Inter American Congr. Bruc., Washington, D.C., 1950, Nov.: 59-69.
- 272 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Comparative study of media ordinarily used for the growth of *Brucella*.  
Third Inter American Congr. Bruc., Washington, D.C., 1950, Nov.: 145-150.

- 273 — TEIXEIRA, M. F. M.  
O "Ring test" na brucelose bovina.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1950, 5(10):16-24.
- 274 — CORRÊA, O. & MÜLLER, R. H.  
Brucelose em ovinos no Rio Grande do Sul.  
Rev. Agron., Pôrto Alegre, 1950, 14(163-168):137.
- 275 — MENEZES, H. T.  
Aglutinação em brucelose no Triângulo Mineiro.  
Bol. Div. Def. San. An., 1950, 1:22-46.
- 276 — VALLE, H. L.  
Verificações comparativas em tôrno da aglutinação rápida para diagnóstico da brucelose.  
Bol. Div. Def. San. An., 1950, 1:47-65.
- 277 — BICALHO, J. G.  
Observações em tôrno do chamado "ring test" na brucelose.  
Bol. Div. Def. San. An., 1950, 1:137-152.
- 278 — Anônimo  
Relação das doenças observadas e combatidas durante o ano de 1949.  
Bol. Div. Def. San. An., 1950, 1:100.
- 279 — 1951  
MACEDO, L. R. T. DE  
Ação do ácido p-aminosalicílico (sal sódico) sôbre as brucelas, "in vitro".  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1951, 11(1):1-17.
- 280 — PACHECO, G.  
Terceiro Congresso Interamericano de Brucelose — Reunião do "Panel of Experts" da Brucelose da Organização Mundial de Saúde (O.M.S.).  
Brasil-Médico, 1951, 65(14-15):137-139.
- 281 — TEIXEIRA, M. F. M.  
Aplicação do "Ring Test" no contrôle da brucelose bovina.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):18-25.
- 282 — PEIXOTO, W.  
Incidência e contrôle da brucelose bovina no Rio Grande do Sul.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):41-42.
- 283 — Anônimo  
Atividades das Inspetorias Veterinárias em 1950.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):48-49.
- 284 — Anônimo  
Sugestões a um plano de combate à brucelose bovina.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):64-65.
- 285 — Anônimo  
O moderno tratamento das doenças infecciosas. Brucelose (Febre ondulante); seu atual tratamento com Terramicina e outros antibióticos.  
Folheto; Pfizer, 1951: 32 págs.
- 286 — Anônimo  
A brucelose e o desenvolvimento do gado.  
Rev. Criadores, 1951, 22(5):13-14.
- 287 — MELLO, M. T. DE  
A tetrazolium stained antigen for serum agglutination tests in brucellosis. Antígeno corado com tetrazólio para provas de sôro-aglutinação em brucelose.  
WHO/Bruc. Inform. Series, June, n.º 41.  
O Hospital, 1951, 40(1):127-131.

- 288 — MELLO, M. T. DE  
Inquérito sôbre brucelose bovina em Itajaí, Brusque e Rio do Sul, Estado de Santa Catarina.  
O Hospital, 1951, 40(1):119-125.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1951, 11(2):97-104.
- 289 — BAILEG, J.  
Porque a brucelose ataca a criação de gado vacum.  
Rev. Criadores, 1951, 22(8):76-
- 290 — SALES, F. M.  
Valor da prova da brucelina no diagnóstico da brucelose (Resposta assinada).  
Pinheiros Terapêuticos, 1951, 3(12):7.
- 291 — MELLO, M. T. DE  
A brucelose como problema social. Doença profissional.  
Bol. Soc. Brasil. Med. Vet., 1951, 19:25-42.  
Brasil-Médico, 1952, 66(5-6):65-77.
- 292 — RIEDMÜLLER, L.  
A incubação da brucelose.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1951, 19:87-90.
- 293 — MELLO, M. T. DE  
Profilaxia da brucelose animal no Brasil. Sugestões à organização de um plano nacional.  
Bol. Div. Def. San. An., 1951, 2:37-39.
- 294 — BERTOLLI, B.  
O problema médico-social da brucelose em Curitiba.  
Trab. apres. Centro Estudos Méd. San. Secr. Saúde Paraná, 1951 (Ref. Bertolli, 1952).
- 295 — PASCALE, H. & SANTANA, M.  
Determinação do grau de positividade da intradermorreação para brucelose humana em profissionais que lidam com gado no interior do Estado de São Paulo.  
7.º Congresso Brasileiro de Higiene, Recife, 1951.
- 296 — HIPÓLITO, O.; FIGUEIREDO, J. B. & GODOY, A. M. DE  
Investigações sôbre a brucelose suína em Minas Gerais.  
Arquivos da Escola Superior de Veterinária da Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, 1951, 4:57-65.
- 297 — 1952  
FURTADO, A. H.  
Em tórno de um caso de brucelose.  
Brasil-Médico, 1952, 66(1-2):13-14.  
Brasil-Médico, 1952, 66(20-22):297-300.  
Publ. Médicas, 1952, 22(182):51-55.
- 298 — SCHLÖGEL, F.  
Considerações em tórno da brucelose bovina.  
I.B.P.T., Paraná, 1952, 1(1):6-8.
- 299 — MELLO, M. T. DE  
Bases para um plano de profilaxia da brucelose.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1952, 12(1):1-16.
- 300 — PACHECO, G.  
Uma doença provinda do leite.  
Bol. C.C.P.L., 1952, 5(43):37-39.

- 301 — NOGUEIRA JR., A.  
Estado atual do diagnóstico e do tratamento da brucelose.  
Med., Cir., Farm., 1952 (192):140-164.
- 302 — BERTOLLI, B.  
Notas em torno da Brucelose em Curitiba.  
Rev. Dep. Saúde Paraná, 1952 (Junho).
- 303 — MARINHO, O. G.  
Brucelose.  
Bol. Flum. Agric., 1952, 1(5):8-12.
- 304 — PALMQUIST, O. K.  
Contribuição ao conhecimento da incidência da brucelose no Estado do Paraná (Brasil).  
Arq. Biol. Tecnol. Paraná, 1952, 7:3-8.
- 305 — MOUCO, J. P.  
Experiências no tratamento da brucelose em bovinos.  
Bol. Flum. Agric., 1952, 1(7):13-14.
- 306 — PACHECO, G.  
Frequência da brucelose particularmente em candidatos a doadores de sangue.  
Brasil-Médico, 1952, 66(16-17):227-232.
- 307 — BORG, G.  
A incidência da *Brucelose* sobre a economia nacional brasileira.  
Rio de Janeiro, Mimeografado, Set. 1952: 21 fls.
- 308 — GOUVÊA, P. G.  
Localizações vertebrais da brucelose crônica.  
Anais do 4.º Congresso Médico do Estado do Rio de Janeiro, Niterói, 1952, Outubro: 121-129.
- 309 — MELLO, M. T. DE & SILVA, NÍBER, P. M. DA  
O emprêgo do cloreto de trifênil-tetrazólio no estudo da atividade dehidrogenásica de brucelas.  
Ciência e Cultura, 1952, 4(3-4):126-127.
- 310 — BARROS, T. A. DE  
Contribuição ao Estudo da Brucelose em Alagoas.  
Bol. Secção Fom. Agric. Estado de Alagoas, 1952, 2:27 págs.
- 311 — BERTOLLI, B.  
Brucelose.  
Rev. Dep. Saúde Paraná, 1952 (Dez.).
- 312 — BERTOLLI, B.; CARVALHO, J. D. DE; POLENGHI, F. D.; MUSSI, J.; TEIXEIRA JR. A. R.; MACHUCA, F.; RIBAS, O. B. & MACHADO, R.  
Considerações em torno da Brucelose no Paraná.  
Rev. Dep. Saúde Paraná, 1952, 2(2):137-139.  
Publ. Médicas, 1953, 23(184):5-10.
- 313 — 1953  
PACHECO, G.  
Sur le genre *Brucella*. Sobre o gênero *Brucella*.  
WHO/Bruc. Inform. Series, 1953, Fév., n.º 94.  
Brasil-Médico, 1953, 67(10-11):170-171.
- 314 — PACHECO, G.  
A propósito da profilaxia da brucelose.  
Brasil-Médico, 1953, 67(1-2):12-13.

- 315 — BERTOLLI, B.  
Em torno de dois casos de brucelose no homem.  
Brasil-Médico, 1953, 67(6-7):88-92.
- 316 — SCHLÖGEL, F.  
Contribuição ao conhecimento da brucelose humana em Curitiba, Paraná.  
O Hospital, 1953, 43(3):405-409.
- 317 — TEIXEIRA, F. M. T.  
Plano Nacional de Combate à Brucelose (Entrevista).  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(15):44-46.
- 318 — Anônimo  
Movimento das Inspetorias Veterinárias no ano de 1952.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(15):59-60.
- 319 — COSTA, A. F.  
Inquérito sobre brucelose bovina por meio de provas de anel em leite,  
no Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1953, 13(1-2):41-45.
- 320 — NOGUEIRA JR., A.  
Manifestações neurológicas na brucelose.  
Rev. Bras. Med., 1953, 10(7):512-515.
- 321 — BIFONE, J.  
O "Ringtest" na brucelose.  
Felctiano, 1953, 8(49):16-27.
- 322 — Anônimo  
Comissão Nacional de Brucelose (Levantamento da incidência da bruce-  
lose no País).  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(17):51.
- 323 — Anônimo  
Estado zoonosológico do Rio Grande do Sul. Doenças assinaladas no 1.º  
semestre de 1953.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(17):53.
- 324 — Anônimo  
Movimento das Inspetorias Veterinárias no primeiro semestre de 1953.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(17):59.
- 325 — MELLO, M. T. DE  
*In vitro* activity of Micoina on *Brucellae*, compared with that of Terra-  
mycin.  
WHO/Bruc. Inform. Series, 1953, July, n.º 97.  
Science, 1953, 118(3067):413-415.
- 326 — POLENGHI, F. D.; CARVALHO, J. D. DE; SILVA, D. Z. L. DA; RIBAS, E. B.;  
BERTOLLI, B.; TEIXEIRA JR., A. R.; DIEDRICH, T. N.; ALVES NETTO, E.; PUSCH  
JR., B. & MACHUCA, F.  
Subsídios para o levantamento da brucelose no Estado do Paraná.  
Trab. apes. XI Congr. Bras. Higiene, Curitiba, 1953: 32 fls. mimeogr.
- 327 — D'APICE, M.  
Brucelose bovina.  
Sítios e Fazendas, 1953, 19(11):9-12.
- 328 — VALLE, A. L.  
O inspetor de laticínios em face da brucelose.  
Bol. Leite, 1953, 7(77):9-14.
- 329 — VALLE, A. L.  
Combate intensivo e racional à Brucelose Animal.  
Diário de Notícias, 13 Dez. 1953.

- 330 — AMARAL, J. P.; TAUNAY, A. DE E.; NOVAES, J. R. C.; PLANET, N. & ESTEVES, M. B.  
Brucelose humana no Estado de São Paulo. Inquérito sorológico.  
Rev. Inst. Adolfo Lutz, 1953, 13 (N.º único):169-186.
- 330-A — HIPÓLITO, O. & HUDDLESON, I. F.  
Determinação do efeito de alguns agentes químicos sobre as brucelas pelo emprego do método da placa de agar e do disco de papel de filtro.  
Arq. Esc. Sup. Vet., Estado de Minas Gerais, 1953, 6:75-95.
- 331 — 1954  
MELLO, M. T. DE  
Profílatia da brucelose. Inconveniência da vacinação do gado adulto.  
Brasil-Médico, 1954, 68(10-13):116-118.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1954, 14(4):201-204.
- 332 — D'APICE, M.  
Lucha contra la brucelosis bovina en el Estado de San Pablo, basada en la aplicacion de la "Brucella 19".  
Trab. apres. ao II Congr. Panamer. Med. Vet., São Paulo, Abril.  
Rev. Vet. Militar, Buenos Aires, 1954, 2(7):236-238 (Resumo).
- 333 — PACHECO, G.  
Pênfigo bruceloso.  
Rev. Bras. Med., 1954, 11(7):466-469.
- 334 — Anônimo  
Movimento das Inspetorias Veterinárias no ano de 1953.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1954, 10(18):64-65.
- 335 — MELLO, M. T. DE; SILVA, NÍBER P. M. DA & LOPEZ, VIRGINIA DE  
Serum agglutination tests for brucellosis in bovines treated with mycoin by intravenous route. Preliminary note.  
WHO/Bruc. Inform. Series, 1954, Sept., n.º 107.
- 336 — MARQUES, R. J.  
O problema da brucelose no Recife.  
Rev. Nordeste Médico, 1954, n.º 3.
- 337 — LACAZ, C. S.; BALBO, R. J.; MELLONE, O.; YAHN, O.; DI SANTO, L. & SCIANNAMÉA, I. M.  
O problema da brucelose em transfusão de sangue.  
Rev. da A.M.B., 1954, 1(4):385-389.
- 338 — MELLO, M. T. DE & SILVA, NÍBER P. M. DA  
Hemoculturas para brucelas.  
Brasil-Médico, 1954, 68(32-52):451-464.
- 339 — FRANÇA, I.; FERREIRA, G. & SIQUEIRA, N. DE  
Incidência da brucelose caprina em Belo Horizonte.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1954, 14(4):175-184.
- 340 — TRAVASSOS, J.; UBATUBA, ARLETTE; SILVA, NÍBER P. M. DA & MELLO, M. T. DE  
Febre Q no Rio de Janeiro.  
Ciência e Cultura, 1954, 6(4):199-200.
- 341 — 1955  
PACHECO, G.  
Dermatobrucelosen.  
Memórias Inst. Osw. Cruz, 1955, 53(1):31-40.  
Der Hautarzt, 1955, 6(7):304-306.

- 342 — MELLO, M. T. DE & SILVA, NÍBER P. M. DA  
The use of triphenyltetrazolium chloride in the study of dehydrogenase activity of *Brucellae*.  
Memórias Inst. Osw. Cruz, 1955, 53(1):45-58.
- 343 — PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Morfologia das brucelas.  
Brasil-Médico, 1955, 69(6-9):63-71.
- 344 — PACHECO, G.; ELEJALDE, P. & SCHLÖGEL, F.  
Neuropathologic lesions produced by *Brucella* toxin.  
WHO/Bruc. Inform. Series, 1955, March, N.º 109.
- 345 — Anônimo  
Movimento das Inspetorias Veterinárias no ano de 1954.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1955, 11(21):107-112.
- 346 — D'APICE, M.  
Combate à brucelose bovina no Estado de São Paulo baseado na aplicação da "Brucella 19".  
Bol. Ofic. San. Panamer., 1955, 38(2):155-167.
- 347 — OLIVEIRA, P. F.  
Brucelose.  
Dipan. Publ. Mensal Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1955, 8(84):37-38.
- 348 — DAMASCENO, I.  
Combate às epizootias.  
Dipan. Publ. Mensal Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1955, 8(86):10-19.
- 349 — Anônimo.  
Brucelose.  
Rev. Roche, 1955, 15(10):238-244; (11):261-268; (12):285-289.
- 350 — PLANET, N.  
Exames de laboratório para elucidação de diagnóstico na brucelose.  
Rev. da A.M.B., 1955, 2(1):72-74.
- 351 — PACHECO, G.; ELEJALDE, P. & SCHLÖGEL, F.  
Alterações neuropatológicas pela toxina brucelosa.  
Memórias Inst. Osw. Cruz, 1955, 53(2-4):557-562.

---

#### B — BIBLIOGRAFIA BRASILEIRA

(Ordem alfabética dos autores)

ABEN-ATHAR, J.

Um caso de infecção para-melitense.  
Sci. Médica, 1926, 4(1):19-27.

ALBUQUERQUE, M.

Vêr LIMA, C. *et al.* — 1933.

ALICE, F. J.

Notas sobre a incidência da brucelose na Bahia.  
Anais do 4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 27.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1950, 10(3):69-73.

ALICE, F. J.

Vêr D'APICE, M. *et al.* — 1948.

ALVES NETTO, E.

Vêr POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.

AMARAL, J. P.; TAUNAY, A. DE E.; NOVAES, J. R. C.; PLANET, N. & ESTEVES, M. B.  
Brucelose humana no Estado de São Paulo. Inquérito sorológico.  
Rev. Inst. Adolfo Lutz, 1933, 13 (N.º único):169-186.

ANGELO, P.

Vêr PERES, J. N. *et al.* — 1945.

Anônimo

Zoonoses observadas no Brazil. Em "Moléstias de Animaes".  
Propaganda Agrícola IX — Soc. Nac. de Agric., Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1908: 86 páginas: 20.

Anônimo

Instruções para diagnóstico da brucelose pela soro-aglutinação rápida em placas de vidro. Organizadas pela Secção de Patologia Animal.  
Publicação n.º 860, Serv. Inf. Agric. Min. Agric. Rio, 1943, 6 páginas.

Anônimo

Comissão de Estudos de Brucelose.  
Boletim Dir. Prod. Animal, Porto Alegre, 1945, 1(1):75.

Anônimo

A brucelose ou abôrto contagioso dos bovinos e o Instituto Biológico.  
Bol. de Agric., S. Paulo, 1945, série 46 (N.º único): 362-365.

Anônimo

Doenças verificadas e combatidas pelo pessoal da Inspetoria Regional, no exercício de 1945.  
Bol. Insp. Reg. Def. San. Animal, Salvador, 1946 (8):7-13.

Anônimo

Sobre a brucelose bovina na Bahia e em Sergipe.  
Bol. Insp. Reg. Def. San. Animal, Salvador, 1946 (8):41.

Anônimo

Estado zoosanitário do Rio Grande do Sul. Primeiro semestre de 1948.  
Bol. Dir. Prod. Animal, Porto Alegre, 1948, 4(6):45-51.

Anônimo

A cloromicetina na brucelose.  
Notas Terap., Rio, 1949, 26(5):137-139.

Anônimo

Atividades das Inspetorias Veterinárias no 1.º Semestre de 1950.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1950, 5(9):76.

Anônimo

Relação das doenças observadas e combatidas durante o ano de 1949.  
Bol. Div. Def. San. An., 1950, 1:100.

Anônimo

O moderno tratamento das doenças infecciosas. Brucelose (Febre ondulante); seu atual tratamento com Terramicina e outros antibióticos.  
Folheto; Pfizer, 1951: 32 págs.

Anônimo

A brucelose e o desenvolvimento do gado.  
Rev. Criadores, 1951, 22(5):13-14.

Anônimo

Atividades das Inspetorias Veterinárias em 1950.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):48-49.

Anônimo

Sugestões a um plano de combate à brucelose bovina.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):64-65.

Anônimo

Movimento das Inspetorias Veterinárias no ano de 1952.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(15):59-60.

Anônimo

Comissão Nacional de Brucelose (Levantamento da incidência da brucelose no País).  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(17):51.

Anônimo

Estado zoonosológico do Rio Grande do Sul. Doenças assinaladas no 1.º semestre de 1953.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(17):53.

Anônimo

Movimento das Inspetorias Veterinárias no primeiro semestre de 1953.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(17):59.

Anônimo

Movimento das Inspetorias Veterinárias no ano de 1953.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1954, 10(18):64-65.

Anônimo

Movimento das Inspetorias Veterinárias no ano de 1954.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1955, 11(21):107-112.

Anônimo

Brucelose.  
Rev. Roche, 1955, 15(10):238-244; (11):261-268; (12):285-289.

ANTUNES, A. & CARNEIRO, V.

*Brucella suis* e sua ação patogênica para o homem (Terceiro caso de febre ondulante em São Paulo).  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1933, 3(5-6):107-119.

ARAGÃO, R. M. DE

Breve notícia sobre as bruceloses.  
Res. Méd., 1945, 12(2):67-76.

ARAÚJO, P.

Considerações sobre o tratamento das bruceloses.  
Rev. Paul. Med., 1950, 37(4):293 (resumo).

ARAÚJO, P.

Considerações sobre dois casos de brucelose.  
Rev. Paul. Med., 1950, 37(6):543-546.

ARTIGAS, P. T.

Febre ondulante. Estudo sobre os primeiros casos observados em S. Paulo.  
An. Paul. Med. Cir., 1934, 27(2):153-191.

ASSIS, A. DE

Sobre um caso de brucelose crônica humana com localização brucelar dentária.  
Hospital, 1936, 82(7):677-686.

AZEVEDO, R.

Considerações em torno de dois casos de brucelose humana observados no Recife.  
Arq. Med. Cir. Pernambuco, I, 4:359-364.

AZEVEDO, M. C.

Vêr CAUSEY, C. E. — 1947.

AZEVEDO, P. DE

A febre de Malta no Brasil.

Arch. Bras. Med., 1917, 7:93-99.

Arch. de Biol., 1918, 2(22-23):375-379.

BAILEG, J.

Por que a brucelose ataca a criação de gado vacum.

Rev. Criadores, 1951, 22(8):76-.

BALBO, R. J.

Vêr LACAZ, C. S. *et al.* — 1954.

BARBOSA, D. M.

Brucellose humana e dos animais.

Arq. Riogr. Med., 1937, 16(4):261-265.

BARROS, M. Q. DE

Brucellose e aborto habitual.

Rev. Gin. e Obst., 1945, 39, 2(5):212-228.

BARROS, O. M. DE

As brucelloses humanas no Brasil. A proposito de alguns casos observados em São Paulo.

Rev. Clin. de S. Paulo, 1937, 1(1):24-42.

BARROS, T. A. DE

Contribuição ao Estudo da Brucelose em Alagoas.

Bol. Secção Fom. Agric. Estado de Alagoas, 1952, 2:27 págs.

BARROS, O. M. DE & GIANONI, G.

Sobre um caso de Brucelose em São Paulo (Nota previa).

An. Paul. Med. & Cir., 1933, 26(2):125-126.

BARROS, O. M. DE & GIANONI, G.

Sôbre um caso de brucelose, de São Paulo.

Bol. Soc. Med. & Cir., de S. Paulo, 1933, 17(5-7):79-81.

BARROS, O. M. DE; VASCONCELOS, F. & ROSENFELD, G.

A propósito das formas viscerais da brucelose humana.

Arq. Cir. Clin. Exper., 1941, 5 (Jun.-Agô.): 299-310.

VON BASSEWITZ, E.

Epizootias do Brasil Austral. 1.<sup>a</sup> Parte.

Rev. Zoot. Vet., 1928, 14(4):259-288.

VON BASSEWITZ, E.

A luta racional contra as epizootias.

Trab. apres. III Congr. Criadores, Porto Alegre, 1929, Maio (Ref. em Pereira Filho, 1949).

BERTOLLI, B.

O problema médico-social da brucelose em Curitiba.

Trab. apres. Centro Estudos Méd. San. Secr. Saúde Paraná, 1951 (Ref. Bertolli, 1952).

BERTOLLI, B.

Notas em torno da Brucelose em Curitiba.

Rev. Dep. Saúde Paraná, 1952 (Junho) (Ref. Bertolli, 1952).

BERTOLLI, B.

Brucelose

Rev. Dep. Saúde Paraná, 1952 (Dez) (Ref. Bertolli, 1952).

BERTOLLI, B.

Em torno de dois casos de brucelose no homem.  
Brasil-Médico, 1953, 67(6-7):88-92.

BERTOLLI, B.

Vêr POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.

BERTOLLI, B.; CARVALHO, J. D. DE; POLENGHI, F. D.; MUSSI, J.; TEIXEIRA JR., A. R.; MACHUCA, F.; RIBAS, O. B. & MACHADO, R.  
Considerações em tôrno da Brucelose no Paraná.  
Rev. Dep. Saúde Paraná, 1952, 2(2):137-139.  
Publ. Médicas, 1953, 23(184):5-10.

BICALHO, J. G.

Observações em torno do chamado "ring test" na brucelose.  
Bol. Div. Def. San. Animal, 1950, 1:137-152.

BIER, O.

Caracterisação bacteriológica da amostra de *Brucella*, de proveniência humana, isolada pelo Prof. Carini, em S. Paulo.  
Arch. de Biol., 1932, 15(171):140-141.

BIER, O.

Vêr LACERDA, P. M. G. DE *et al.* — 1949.

BIFONE, J.

O "Ringtest" na brucelose.  
Felctiano, 1953, 8(49):16-27.

BIFONE, J.

Vêr CUNHA, J. B. DA — 1942, 1948.

BIFONE, J.

Vêr PECEGO, O. *et al.* — 1936.

BORG, G.

A incidência da *Brucelose* sôbre a economia nacional brasileira.  
Rio de Janeiro, Mimeografado, set., 1952: 21 fls.

BOTTINI, A.

Brucellose humana.  
Brasil-Med., 1936, 50(47):1014-1018.  
Arq. Riogr. Med., 1937, 16(4):157-162.

BOUVIER, G.

A luta contra a brucelose bovina na Suíça.  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1950, 8(4):225-232.

BRAGA, J. W.

Problemas de Veterinária no Nordeste do Brasil.  
Anais 5.º Congr. Bras. Vet., S. Paulo, 1950, Agost.-Set.: 71-96.

BUENO, P.

Histopatologia dos ganglios linfáticos na brucelose suína.  
Arq. Inst. Biol., 1942, 13(26):291-298.

BUENO, P.

Natureza das lesões orgânicas da brucelose nos animais e no homem.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(9):750-758.

BUENO, P. & MONICI, N.

Lesões vasculares ocorrendo na placenta, em casos de brucelose bovina.  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1948, 8(2):55-60.

- BUFF, V.  
Brucelose. Contribuição bibliográfica.  
Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo, 1944, 2(4):275-295.
- BUFF, V.  
A vacinação no combate à brucelose bovina (Contribuição bibliográfica).  
Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1944, 6(2):131-135.
- BUFF, V.  
Brucelas. Contribuição bibliográfica.  
Rev. Fac. Med. Vet., S. Paulo, 1946, 3(3):157-166.
- BUFF, V.  
Vêr. D'APICE, M. *et al.* — 1948.
- CARINI, A.  
Mais dois casos de febre ondulante.  
Arch. de Biol., 1934, 16(179):32-35.
- CARINI, A.  
Mais alguns casos de febre ondulante.  
Arch. de Biol., 1936, 20(190):14-16.
- CARINI, A.  
Ainda um caso de febre ondulante causada por *Brucella suis*.  
Arch. de Biol., 1937, 21(196):11-12.
- CARINI, A.  
Considerações a respeito deste caso de Brucelose (do Dr. Falleiros).  
Arq. de Biol., 1940, 24(229):174-175.
- CARINI & VESPUCCI, P.  
Primeiro caso autoctono de febre ondulante, comprovado pela hemocultura, observado no Brasil.  
Arch. de Biol., 1932, 15(171):135-138.
- CARNEIRO, M. G.  
A febre de Malta no Rio Grande do Sul.  
Arch. Bras. Med. 1913, 3(3):292-306.  
Rev. Med. S. Paulo, 1914, 17(4):56-64.
- CARNEIRO, V.  
Em torno da febre ondulante. Brucelose bovina e sua frequência em S. Paulo.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1933, 3(5-6):126-133.
- CARNEIRO, V.  
Vêr. ANTUNES, A. — 1933.
- CARVALHO, J. D. DE  
Vêr. BERTOLLI, B. *et al.* — 1952.
- CARVALHO, J. D. DE  
Vêr. POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.
- CAUSEY, C. E.  
Vêr. CAUSEY, O. R. — 1942.
- CAUSEY, C. E. & AZEVEDO, M. C.  
Infecção por *Brucella* no homem e no gado em Belém, Pará.  
Rev. Serv. Esp. S. Públ., 1947, 1(1):77-86.
- CAUSEY, O. R. & CAUSEY, C. E.  
Sobre a ocorrência da Brucelose no Estado do Ceará, Brasil.  
Hospital, 1942, 22(3):443-445.

- CORREIA, J. J.  
Primeiro caso de febre ondulante aparecido no Rio de Janeiro (Ensaio de Tratamento pelo Neosalvarsan)  
Brasil-Med., 1934, 48(46):953-954.
- CORRÊA, O.  
O aborto epizootico ou mal de Bang.  
Bol. Secr. Agr., Ind. e Com., R. G. Sul, 1938, Março, n.º 64: 1-11.
- CORRÊA, O.  
Mal de Bang.  
Rev. Agronômica, 1941, 5(53-54):295-298.
- CORRÊA, O.  
Brucelose.  
Em "Principais doenças dos suínos" — Bol. Secr. Agric., Ind. e Com., R. G. Sul, 1942, Janeiro, n.º 94: 30-32.
- CORRÊA, O.  
A Brucelose no Rio Grande do Sul.  
Rev. Agronômica, 1943, 7(74):93-94.
- CORRÊA, O.  
A brucelose no Rio Grande do Sul. Aspectos clínico e profilático.  
Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 241-247.
- CORRÊA, O.  
A profilaxia da brucelose bovina no Rio Grande do Sul.  
Anais 3.º Congr. Bras. Vet., Porto Alegre, 1945: 476-481.
- CORRÊA, O.  
Brucelose em "Higiene e profilaxia em medicina veterinária" Ed. Chácaras e Quintais, São Paulo, 1947.
- CORRÊA, O.  
A incidência da brucelose e da tuberculose bovina no R. G. do Sul.  
A Granja, P. Alegre, 1949, 5(39-40):25-26.
- CORRÊA, O.  
Pesquisa de aglutininas em bovinos inoculados intra-rumem com brucella morta.  
A Granja, Porto Alegre, 1949, 5(45):5-6.  
Repr. em A Granja, Pôrto Alegre, 1949, 5(47-48): 78-80.
- CORRÊA, O.  
Pesquisa de aglutininas em bovinos que ingeriram brucella morta. 2.ª nota prévia.  
A Granja, Porto Alegre, 1949, 5(47-48):80-81.
- CORRÊA, O. & MÜLLER, R. H.  
Brucelose em ovinos no Rio Grande do Sul.  
Rev. Agronômica, Porto Alegre, 1950, 14(163-168):137.
- CORRÊA, O. & QUINTANA, M.  
O terneiro e sua patologia. IV. Mal de Bang.  
Bol. Secr. Agric., Ind e Com., R. G. Sul, 1941, Maio, n.º 87:21-27.
- COSTA, A. F.  
Inquérito sôbre brucelose bovina por meio de provas de anel em leite, no Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro.  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1953, 13(1-2):41-45.
- COSTA, G. A.  
Vêr PACHECO, G. — 1940, 1941.
- COSTA, O.  
Vêr LACAZ, C. S. *et al.* — 1947, 1948.

COTRIM, M. R.

Brucelose.

Labor. Clínico, 1944, 24(189):237-242.

CRUZ, E. & LEMOS JR., A.

A brucelose humana no interior do Estado de São Paulo.

Arq. Hig. Saúde Pública, 1948, 13(35-38):75-92.

CUNHA, J. B. DA & BIFONE, J.

Brucelose e o trabalho em matadouros.

Anais do 4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948, Em "Relatório Geral": 27.

Bol. Div. Def. Animal, 1950, 1:66-87.

CUNHA, J. B. DA & BIFONE, J.

Primeiras observações sistematizadas sobre a infecção por Brucellas em operários de Matadouros.

Relatório apresentado ao Diretor do Departamento Nacional da Produção Animal, 1942 (ref. em Horta, 1942).

DAMASCENO, I.

Combate às epizootias.

Dipan. Publ. Mensal Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1955, 8(86):10-19.

DANTAS, A. V.

Aborto infeccioso.

Relatório Inspetoria Regional de Defesa Sanitaria Animal, Salvador, Bahia, 1937 (Ref. em Alice).

D'APICE, M.

Brucelose bovina (Aborto contagioso bovino).

Rev. Criadores, 1943, 14(14):10-12; (15):35-36; (16):37-40.

D'APICE, M.

Vacinação contra a brucelose.

Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943:225-233.

D'APICE, M.

Considerações sobre a vacinação com "Brucella 19" dos bezerros, novilhas e vacas. O Biológico, 1945, 11(4):95-100.

D'APICE, M.

Bruceloses animais.

Folheto n.º 105. Instituto Biológico, S. Paulo, 1945, 29 páginas.

D'APICE, M.

Evolução dos métodos de combate à brucelose bovina.

Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1946, 7(3):208-218.

D'APICE, M.

Bruceloses animais.

O Biológico, 1948, 14(3):65-69.

Rev. Criadores, 1948, 19(7):64-66.

D'APICE, M.

Considerações sobre o combate à brucelose bovina no Estado de S. Paulo, mediante a aplicação da "Brucella 19".

Trabalho apresentado na 5.ª Reunião Anual de Medicina Veterinária, em 3-7-1948, S. Paulo.

Referência em Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1949, 8(3):185.

D'APICE, M.

Brucelose suína.

O Biológico, 1950, 16(9):180-184.

D'APICE, M.

Brucelose bovina.

Anais 5.º Congr. Bras. Vet. S. Paulo, 1950, Agosto-Set.: 153-174.

D'APICE, M.

Brucelose bovina.

Sítios e Fazendas, 1953, 19(11):9-12.

D'APICE, M.

Lucha contra la brucelosis bovina en el Estado de San Pablo, basada en la aplicacion de la "Brucella 19".

Trab. apres. ao II Congr. Panamer. Med. Vet., São Paulo, Abril.

Rev. Vet. Militar Buenos Aires, 1954, 2(7):236-238 (resumo).

D'APICE, M.

Combate à brucelose bovina no Estado de São Paulo, baseado na aplicação da "Brucella 19".

Revista dos Criadores, 1954, 25(298):20-22.

D'APICE, M.

Combate à brucelose bovina no Estado de São Paulo baseado na aplicação da "Brucella 19".

Bol. Ofic. San. Panamer., 1955, 38(2):155-167.

D'APICE, M.; ALICE, F. J. & BUFF, V.

Brucelose: incidência e disseminação nos rebanhos do Brasil; plano de profilaxia; a brucelose como problema de saúde pública.

Relatório da Comissão para esse tema.

4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 28-32.

D'APICE, M. & PENHA, A. M.

Vacinação dos bezerros e adultos com a "Brucella 19" como campanha geral de combate à brucelose bovina.

Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1945, 7(1):31-41.

Anais 3.º Congr. Bras. VeVt., Porto Alegre, 1945: 409-417.

D'APICE, M. & PENHA, A. M.

Plano de combate à brucelose bovina no Estado de São Paulo.

Memórias Primer Congreso Nacional de la Brucelosis, Montevideo, 1947, Diciembre: 117-125.

D'APICE, M. & PENHA, A. M.

Plano de combate à brucelose bovina no Estado de S. Paulo.

4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 27.

D'APICE, M. & PENHA, A. M.

Combate à brucelose bovina mediante aplicação da "Brucella 19" nos animais adultos.

Bol. Soc. Paul. Med. Vet., 1950, 8(4):327-247.

DIEDRICH, T. N.

Vêr POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.

EICHBAUM, F. W.

Biological properties of anacardic acid (O-pentadecadienyl-salicylic acid) and related compounds.

Mem. Inst. Butantan, 1946, 19:69-133.

ELEJALDE, P.

Vêr PACHECO, G. *et al.* — 1955.

ESTEVES, M. B.

Vêr AMARAL, J. P. *et al.* — 1953.

FALLEIROS, F.

Primeiro caso de Brucelose humana identificado em Franca.  
Arq. de Biol., 1940, 24(229):173-174.

FAVA NETO, C.

Vêr LACAZ, C. S. *et al.* — 1947, 1948.

FERNANDES, R.

Brucelose pulmonar.

Clín. Tisiol., 1949, 4(1):217-232.

FERNANDES, R.; MUNIZ, E. & MENDES, W.

Brucelose pulmonar cavitária.

Clín. Tisiológica, 1948, 3(11):483-488.

FERREIRA, G.

Vêr FRANÇA, I. *et al.* — 1954.

FIALHO, S. A.

Manifestações oculares da brucelose.

Rev. Bras. Oftalm., 1945, 3(4):189-200.

FIGUEIREDO, J. B.

Vêr HIPÓLITO, O. *et al.* — 1951.

FINAMOR, D.

Novas pesquisas sobre o aborto contagioso (Mal de Bang).

Aborto contagioso (Mal de Bang).

Em: "O XII Congresso de Veterinaria e Serviço de Policia Sanitaria Animal nos Estados Unidos: Relatorio de Viagem".

Bol. Dir. Agric., Ind. e Com., Porto Alegre, R. G. do Sul, 1935, Junho, n.º 35, páginas 38-40 e 84-88.

FLOZINI, C.

Febre de Malta ou Septecemia de Bruce.

Em: "Molestias Infecciosas" — I — Porto Alegre, 1936: 17-27.

FONSECA, J. M. DA

Sobre alguns casos de brucelose.

Bol. Acad. Nac. Med., 1940, 112(2):57-60.

FRANÇA, I.; FERREIRA, G. & SIQUEIRA, N. DE

Incidência da brucelose caprina em Belo Horizonte.

Rev. Mil. Rem. Vet., 1954, 14(4):175-184.

FRANCO, O. P.

Brucelose versus neurose. Tentativa de apreciação.

Rev. Med. Cir. do Brasil, 1947, 55(7-8):95-96.

FURTADO, A. H.

Em tôrno de um caso de brucelose.

Brasil-Médico, 1952, 66(1-2):13-14.

Brasil-Médico, 1952, 66(20-22):297-300.

Publ. Médicas, 1952, 22(182):51-55.

GESTEIRA, J. M.

Etiologia e diagnostico da septicemia de Bruce.

Tése — Fac. Med. da Bahia, 1908, 113 páginas.

GESTEIRA, M.

O jubileu médico do Prof. João Americo Garcez Fróes.

Brasil-Méd., 1946, 60(5-6):45-46.

GIANONI, G.

Ver. BARROS, O. M. DE — 1933.

GIÓVINE, N.

Ver HIPÓLITO, O. — 1943.

HIPÓLITO, O. *et al.* — 1943.

GODINHO, R.

Resistencia sôbre de diferentes germes pathogenicos experimentalmente associados ao virus vaccínico.

Mem. Inst. But., 1933-34, 8:81-93.

GODOY, A. M. DE

Vêr HIPÓLITO, O. *et al.* — 1951.

GÓES, P. DE

Estudos sôbre a imunidade cruzada.

Tese — Fac. Nac. Farm., Ed. Jornal do Comércio, Rio, 1947, 352 páginas.

GOMES, L. S.

Vêr LIMA, C. *et al.* — 1933.

GOUVÊA, P.

Considerações em tôrno da brucelose crônica.

An. 3.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, 1949, Setembro: 315-323.

Folha Médica, 1952, 33(9):69-72.

GOUVÊA, P. G.

Localizações vertebrais da brucelose crônica.

An. 4.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Niterói, 1952, Outubro: 121-129.

GREY, J. M.

Brucelose bovina: problema de Saúde Pública.

Rev. Bras. Med., 1946, 3(11):912-915.

HARDMAN, E.

Ver PECEGO, O. *et al.* — 1936.

HIPÓLITO, O.

As bruceloses.

Capítulo I de "Doenças dos animais transmissíveis ao homem".

Monografia n.º 687, Serv. Inf. Agric. Min. Agric., Rio: 1948: 7-15.

HIPÓLITO, O.

Bruceloses — Abôrto infeccioso.

Capítulo VII de "Doenças Infecto-Contagiosas dos Animais Domésticos".

Série Didática n.º 8, Serv. Inform. Agric., Min. Agric., Rio, 1949: 46-63.

HIPÓLITO, O.; FIGUEIREDO, J. B. & GODOY, A. M. DE

Investigações sôbre a brucelose suína em Minas Gerais.

Arq. Esc. Sup. Vet., Estado de Minas Gerais, 1951, 4:57-65.

HIPÓLITO, O. & GIÓVINE, N.

Sôbre um caso de orquite brucélica em zebú comprovada pela aglutinação.

Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 250-256.

HIPÓLITO, O. & HUDDLESON, I. F.

Determinação do efeito de alguns agentes químicos sôbre as brucelas pelo emprego do método da placa de agar e do disco de papel de filtro.

Arq. Esc. Sup. Vet., Estado de Minas Gerais, 1953, 6:75-95.

HIPÓLITO, O.; SOUZA, R. DE & GIÓVINE, N.

Brucelose e soro-aglutinação em Minas Gerais.

Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 235-240.

Arq. Esc. Sup. Vet., Estado de Minas Gerais, 1943, 1:31-34.

HORTA, P. F. P.

Formas clinicas da brucelose humana.

Brasil-Med., 1942, 56(42-44):483-485.

HORTA, P. F.

Bruceloses.

Atas da XI Conf. San. Panam., Rio, 1942: 112-171.

Arq. Hig., 1942; 12(3):113-176.

HUDDLESON, I. F.

Vêr HIPÓLITO, O.

ICIBACI, T.

Aborto contagioso Bovino no Estado de São Paulo.

1.º Congr. Nac. Med. Vet., Rio, 1922: 197-208.

LACAZ, C. S.

Contribuição para o estudo dos anticorpos bloqueadores através da prova de Coombs, Mourant e Race

Tese — Fac. Med. São Paulo, 1953.

LACAZ, C. S.; BALBO, R. J.; MELLONE, O.; YAHN, O.; DI SANTO, L. & SCIANNAMÉA, I. M.

O problema da brucelose em transfusão de sangue.

Rev. da A.M.B., 1954, 1(4):385-389.

LACAZ, C. S.; FAVA NETO, C. & COSTA, O.

Prova de sôro-aglutinação rápida em doentes não infectados de brucelose.

Anais Paul. Med. Cir. do Brasil, 1947, 54(3):209.

LACAZ, C. DA S.; FAVA NETO, C. & COSTA, O.

Reações de sôro-aglutinação com antígeno de brucela em portadores de infecções não brucelósicas.

Rev. Bras. Med., 1948, 5(4):243-246.

LACERDA, P. M. G. DE

Contribuição para o estudo das variações do poder bactericida do plasma na brucelose bovina.

Tese, São Paulo, 1948 — Fac. Paul. Med. Vet.

LACERDA, P. M. G. DE; SIQUEIRA, M. & BIER, O.

Anticorpos inibidores da ação bactericida do plasma normal.

Rev. Bras. Biol., 1949, 9(4):512.

LACERDA, P. M. G. DE; SIQUEIRA, M. & BIER, O.

Anticorpos inibidores da ação bactericida do plasma normal.

Ciência e Cultura, 1949, 1(3):104-106.

LACORTE, J. G.

Nota sobre a ocorrência de determinadas molestias infectuosas em algumas localidades do Brasil (Verificação retrospectiva).

Brasil-Med., 1934, 48(39):795-796.

LACORTE, J. G.

*Brucella melitensis*. Nota sobre o germe por nós isolado do primeiro caso de febre ondulante assinalado no Rio de Janeiro.

Brasil-Med., 1935, 49(26):575-576.

LACORTE, J. G.

Febre ondulante. Comprovação sorologica e bacteriologica referente ao primeiro caso assinalado no Rio de Janeiro. Nota previa.

Rev. Med. Cir. do Brasil, 1935, 43(2):43-45.

LACORTE, J. G.

A brucelose humana e o seu primeiro caso no Rio de Janeiro.

Hospital, 1935, 7,2(9):915-940.

- LACORTE, J. G.  
A sôro-aglutinação no diagnostico das Bruceloses.  
Hospital, 1937, 9,11(2):205-209.
- LACORTE, J. G.  
Segunda nota sobre a ocorrencia de determinadas molestias infectuosas em algumas localidades do Brasil (Verificação retrospectiva).  
Brasil-Med., 1937, 51(20):561-563.
- LACORTE, J. G.  
Os exames de laboratorio no diagnostico das bruceloses.  
Acta Medica, 1938, 1(1):90-92.
- LACORTE, J. G.  
A disseminação das bruceloses.  
Acta Medica, 1938, 1(3):279-280.
- LACORTE, J. G.  
A opsonocitofagia no diagnostico das bruceloses.  
Acta Medica, 1938, 2(2):171-172.
- LACORTE, J. G.  
Reação de fixação do complemento nas bruceloses.  
Acta Medica, 1939, 3(6):376-377.
- LACORTE, J. G.  
A vacinoterapia nas bruceloses.  
Acta Medica, 1939, 4(2):104.
- LACORTE, J. G.  
A formação de H<sub>2</sub>S e o diagnostico das brucelas.  
Acta Medica, 1940, 5(1):50-51.
- LACORTE, J. G.  
Brucelas e bruceloses.  
Anuario Bras. de Med., Rio, Ed. Pongetti, 1940: 140-154.
- LACORTE, J. G.  
O genero "Brucella" (Considerações gerais sobre as bruceloses e sobre o primeiro caso dessa infecção assinalado no Rio de Janeiro).  
Acta Medica, 1941, 8(3):137-166.
- LACORTE, J. G.  
O genero "Brucella" e as bruceloses.  
Em "Temas de Bacteriologia", Graf. Milone Ltda., Rio, 1942: 15-42.
- LACORTE, J. G.  
Diagnostico de laboratorio das bruceloses.  
Atas da XI Conf. San. Panam., Rio, 1942: 171-172.
- LACORTE, J. G.  
Brucelose humana.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(8):665-671.
- LACORTE, J. G.  
Sôro-aglutinação. Bruceloses.  
Em "Temas de Imunologia", Livr. Odeon Ed., Rio, 1944: 42-45.
- LACORTE, J. G.  
Divergências nos exames de laboratório quanto ao tipo e a brucelose (resposta assinada).  
Rev. Bras. Med., 1949, 6(4):263.
- LAMOUNIER, R. D. & PEREIRA, P. C.  
Incidência da brucelose em bovinos de matadouro.  
Anais Inst. Pinheiros, 1946, 9(17):1-4.

LEÃO, R. L. (R. L. L.)

Sobre a brucelose humana no Brasil. Casos de Bruceloses humanas assignalados até a presente data (Bibliografia).  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1937, 4(2):93.

LEMME JUNIOR

Brucelose crônica de localização dentária.  
Rev. Bras. Odont., 1943, n.º 2: 50-54.

LEMOS JR., A.

Vêr CRUZ, E. — 1948.

LIMA, E. E. DE

Da possível influência da brucelose nas afecções otorrinolaringológicas.  
Imprensa Méd., 1945, 21(377):37-43.

LIMA, J. P. C.

Hemocultura em "Liquoid".  
Brasil-Med., 1938, 52(53):1184-1186.

LIMA, C.; MELLO, A.; GOMES, L. S.; ALBUQUERQUE, M. & NEIVA, C.

A febre ondulante em São Paulo. 1.º Relatório da "Comissão de Estudo da Febre Ondulante em S. Paulo".  
Rev. Ind. Animal, 1933, 3(10):1139-1147.

LOPEZ, VIRGÍNIA DE

Vêr MELLO, M. T. DE *et al.* — 1954.

MACEDO, J. N.

Doenças dos animais transmissíveis ao homem.  
Rotary Club de Belo Horizonte, Boletim Semanal, 1949, 21(62):4-6.

MACEDO, L. R. T. DE

Ação bacteriostática e bactericida, "in vitro", do ácido p-aminosalicílico (sal sódico) sobre as brucelas.  
Tese — Esc. Flum. Med. Vet., Niterói, 1949; 61 págs.

MACEDO, L. R. T. DE

Ação do ácido p-aminosalicílico (sal sódico) sobre as brucelas, "in vitro".  
Rev. Mil. Rem. Vet., 1951, 11(1):1-17.

MACHADO, R.

Vêr BERTOLLI, B. *et al.* — 1952.

MACHUCA, F.

Vêr BERTOLLI, B. *et al.* — 1952

MACHUCA, F.

Vêr POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953

MACIEL, H.

Caso suspeito de brucelose humana.  
Bol. Acad. Nac. Med., 1940, 112(2):61.

MADRUGA, M.

Um caso de febre ondulante.  
Rev. Flum. Med., 1944, 9(3):49-51.  
Biol. Méd., 1945, 3(2):63-64.

MADRUGA, M.

Sensibilidade das brucelas à penicilina.  
Hospital, 1947, 31(3):481-496.

- MAGALHÃES, O. DE  
Febre de Malta (Nota previa).  
Brasil-Med., 1937, 51(51):1247.
- MALHEIROS, C.  
Vêr PÉRES, J. N. *et al.* — 1945
- MARINHO, O. G.  
Bruceloose.  
Bol. Flum. Agric., 1952, 1(5):8-12.
- MARQUES, R. J.  
O problema da brucelose no Recife.  
Revista Nordeste Médico, 1954, n.º 3.
- MASTROFRANCISCO, N.  
Vêr MELLO, A. — 1938.
- MATTOSO, I. V.  
Vêr PACHECO, G. *et al.* — 1939
- MEDEIROS, M.  
Um caso de meningite brucelosa.  
Arq. Med. Cir. Pernambuco, 1949, I, 2:151-156.
- MEDEIROS FILHO, A.  
Brucelose como problema de saúde pública.  
4.º Congr. Bras. Vet., Rio, 1948. Em "Relatório Geral": 27.
- MELLO, A.  
Uma questão de patologia bovina em medicina humana.  
Rev. Ind. Animal, 1930, 1(6):610-620.
- MELLO, A.  
Nova amostra de *Brucella abortus* isolada em São Paulo.  
Rev. Ind. Animal, 1936, 5,3(1):115-123.
- MELLO, A.  
Vêr LIMA, C. *et al.* — 1933.
- MELLO, A.  
Vêr NEIVA, C. — 1930.
- MELLO, A. & MASTROFRANCISCO, N.  
A manteiga como veículo de infecção pela *Brucella*.  
Rev. Ind. Animal, 1938, N. S., 7, 1(2):19-27.
- MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Teor em aglutininas do sangue da veia mamária e da veia jugular, na brucelose.  
Rev. Ind. Animal, 1938, N. S., 7, 1(4):150-158.
- MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Brucelose e sôro-aglutinação.  
Rev. Ind. Animal, 1939, N. S., 8,2(1):142-157.
- MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Ensaio de quimioterapia nas bruceloses. I — Sulfanilamida-Dagenan.  
Rev. Ind. Animal, 1939, N. S., 8,2(4):93-108.
- MELLO, A. & ROGICK, F. A.  
Ensaio de quimioterapia nas bruceloses. II — Dagenan.  
Rev. Ind. Animal, 1940, N. S. 9,3(2-3):20-25.

MELLO, A. & ROGICK, F. A.

A flora colibacilar do queijo tipo Minas e toxi-infecção alimentar (Dados tecnológicos). Pesquisas do grupo *Escherichia-Aerobacter*, do *M. tuberculosis* e do gênero *Brucella*.

Rev. Ind. Animal, 1940, N. S., 9,3(4):34-50.

MELLO, M. T. DE

Nota sobre o trabalho de R. R. Birch: "Limitações da vacinação contra a brucelose".

Veterinaria, 1948, 2(2):9-10.

MELLO, M. T. DE

Segundo Congresso Interamericano de Brucelose.

Bol. Vet. Mil., 1949, 3(21):1-4.

MELLO, M. T. DE

Importância da brucelose. I — Introdução.

Brasil-Médico, 1949, 63(32-33):208-210.

MELLO, M. T. DE

Importância da brucelose. II — Importância médica.

Bras.-Médico, 1949, 63(36-37):242-248.

MELLO, M. T. DE

Importância da brucelose. III — Importância veterinária.

Bras.-Médico, 1949, 63(40-52):289-291.

MELLO, M. T. DE

Importância da brucelose. IV — Importância econômica.

Bras.-Médico, 1950, 64(1-4):15-20.

MELLO, M. T. DE

Importância da brucelose. V — Importância social.

Bras.-Médico, 1950, 64(5-8):49-52.

Brasil-Médico, 1950, 64(22-30):93-98.

MELLO, M. T. DE

Animal Brucellosis in Brazil.

Third Inter American Congress on Brucellosis. Washington, D.C., 1950, November: 59-69.

MELLO, M. T. DE

Inquérito sobre brucelose bovina em Itajaí, Brusque e Rio do Sul, Estado de Santa Catarina.

O Hospital, 1951, 40(1):119-125.

Rev. Mil. Rem. Vet., 1951, 11(2):97-104.

MELLO, M. T. DE

A tetrazolium stained antigen for serum agglutination tests in brucellosis.

Antígeno corado com tetrazólio para provas de soro-aglutinação em brucelose. FAO/WHO Brucellosis Information Series, WHO/Bruc/41, 22 June 1951.

O Hospital, 1951, 40(1):127-131.

MELLO, M. T. DE

Profilaxia da brucelose animal no Brasil. Sugestões à organização de um plano nacional.

Bol. Div. Def. San. An., 1951, 2:37-39.

MELLO, M. T. DE

A Brucelose como problema social. Doença profissional.

Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1951, 19:25-42.

Brasil-Médico, 1952, 66(5-6):65-77.

MELLO, M. T. DE

Bases para um plano de profilaxia da brucelose.

Rev. Mil. Rem. Vet., 1952, 12(1):1-16.

A Folha Médica, 1955, 36(4):25-32.

MELLO, M. T. DE

*In vitro* activity of Micoina on *Brucellae*, compared with that of Terramycin.

WHO/Bruc. Inform. Series, 1953, July, n.º 97.

Science, 1953, 118(3067):413-415.

MELLO, M. T. DE

Profilaxia da brucelose. Inconveniência da vacinação do gado adulto.

Brasil-Médico, 1954, 68(10-13):116-118.

Rev. Mil. Rem. Vet., 1954.

A Folha Médica, 1955, 36(3):20-21.

A Lavoura, 1955, 58 (Jan.-Fev.): 50-51.

MELLO, M. T. DE

Vêr PACHECO, G. — 1948, 1950, 1955.

MELLO, M. T. DE

Vêr TRAVASSOS, J. *et al.* — 1954.

MELLO, M. T. DE & SILVA, NÍBER, P. M. DA

O emprêgo do cloreto de trifeniltetrazólio no estudo da atividade dehidrogenásica de brucelas.

Ciência e Cultura, 1952, 4(3-4):126-127.

MELLO, M. T. DE & SILVA, NÍBER, P. M. DA

Hemoculturas para brucelas.

Brasil-Médico, 1954, 68(32-52):451-464.

MELLO, M. T. DE & SILVA, NÍBER, P. M. DA

The use of triphenyltetrazolium chloride in the study of dehydrogenase activity of *Brucellae*.

Memórias Inst. Osw. Cruz, 1955, 53(1):45-58.

MELLO, M. T. DE; SILVA, NÍBER P. M. DA & LOPEZ, VIRGINIA DE

Serum agglutination tests for brucellosis in bovines treated with mycoina by intravenous route. Preliminary note.

WHO/Bruc. Inform. Series, 1954, Sept., n.º 107.

MELLONE, O.

Vêr LACAZ, C. S. *et al.* — 1954

MENDES, W.

Vêr FERNANDES, R. *et al.* — 1948

MENEZES, H. T. DE

Contribuição para o estudo da brucelose bovina no Triângulo Mineiro.

Anais 5.º Congr. Bras. Vet., S. Paulo, 1950, Ago.-Set.: 649-657.

MENEZES, H. T.

Aglutinação em brucelose no Triângulo Mineiro.

Bol. Div. Def. San. An., 1950, 1:22-46.

MENEZES, O. B. DE

Inquerito sobre a brucelose bovina no Estado de Alagoas.

Relatório apresentado ao Inspetor Chefe da Defesa Sanitária Animal em Recife, 1946.

MONICI, N.

Vêr BUENO, P. — 1948.

- MONIZ, G.  
Existe na Bahia a febre de Malta?  
Sugestões.  
Gaz. Médica da Bahia, 1902, 34(1):1-18.
- MOREIRA, P. M.  
Notas epidemiológicas sôbre algumas doenças transmissíveis no Rio Grande do Sul.  
Anais Fac. Med. Porto Alegre, 1946, 7(1):9-51.
- MOSCI, A.  
Em tôrno da incidência das bruceloses em animais.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1944, 13(2):105-117.
- MOUCO, J. P.  
Experiências no tratamento da brucelose em bovinos.  
Bol. Flum. Agric., 1952, 1(7):13-14.
- MÜLLER, R. H.  
Vêr CORRÊA, O. — 1950.
- MUNIZ, E.  
Vêr FERNANDES, R. *et al.* — 1948
- MUNIZ, J.  
Conditioned hemolysis as a phenomenon of a more general character.  
5.º Congr. Intern. Microb., Rio de Janeiro, 1950, Agosto. Em impressão.
- MUSSI, J.  
Ver BERTOLLI, B. *et al.* — 1952
- NEIVA, C.  
Relatório apresentado à Diretoria de Industria Animal, Novembro, 1928.  
(Ref. em Neiva & Mello, 1930).
- NEIVA, C.  
Agglutininas para *Brucella abortus* em sôros humanos.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(3):73-80.
- NEIVA, C.  
Pathogenia de *Brucella abortus* para cobaias.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(6-7):141-146.
- NEIVA, C.  
Molestia de Bang e febre ondulante.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(6-7):163-178.
- NEIVA, C.  
Poder bactericida do aldehydo formico.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1931, 2(1):7-10.
- NEIVA, C.  
Em torno do tratamento das bruceloses.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1931, 2(1):15-19.
- NEIVA, C.  
Bruceloses e o perigo de sua transmissão ao homem.  
An. Paul. Med. Cir., 1932, 23(3):202.
- NEIVA, C.  
Bruceloses.  
Brasil-Med., 1933, 47(40):710-713.

- NEIVA, C.  
Agglutininas para o genero "*Brucella*" em soros de animaes.  
Rev. Ind. Animal, 1934, 4,2(1):81-85.  
Brasil-Med., 1934, 48(22):421-424.
- NEIVA, C.  
A especie suina como fator na disseminação do gênero *Brucella*.  
Rev. Syniatr., 1934, 27(7-8):131-133.
- NEIVA, C.  
Agglutininas para o genero *Brucella* em sôros humanos.  
An. Paul. Med. Cir., 1935, 30(1):5-6.
- NEIVA, C.  
Vêr LIMA, C. *et al.* — 1933.
- NEIVA, C. & MELLO, A.  
Molestia de Bang em S. Paulo.  
Rev. Ind. Animal, 1930, 1(4):363-368; (5):469-476.
- NEIVA, C. & MELLO, A.  
Molestia de Bang em S. Paulo.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1930, 1(5):118-122.
- NEVES, J. A.  
Vêr PÉRES, J. N. — 1945.
- NEVES, J. A. & PÉRES, J. N.  
Investigações sôbre a brucelose na "Fazenda Escola Florestal".  
Relatório apresentado ao Secretário da Agricultura do Estado de Minas Gerais,  
1940, 30 páginas datilografadas. Inédito.  
Ref. em Rev. Bras. Biol., 1950, 10(3):375.
- NEVES, J. A. & PÉRES, J. N.  
Investigações sôbre a brucelose animal em Minas Gerais. I — Comprovação  
bacteriológica.  
Brasil-Med., 1940, 54(30):507-509.
- NEVES, J. A.; PÉRES, J. N. & PENNA SOBRINHO, O.  
Investigações sôbre a brucelose animal no Estado de Minas Gerais. II — Dados  
sorológicos — Inédito.  
Referência em Péres, 1945. Informação pessoal de Péres, em 1947.
- NOGUEIRA JR., A.  
Estado atual do diagnóstico e do tratamento da brucelose.  
Med., Cir., Farm., 1952 (192):140-164.
- NOVAES, J. L.  
Vêr PACHECO, G. *et al.* — 1943.
- NOVAES, J. R. C.  
Vêr AMARAL, J. P. *et al.* — 1953.
- OLIVEIRA, D. B. DE  
Brucelose e oftalmologia.  
Trabalho apresentado à 5.<sup>a</sup> Jornada Oftalm. Bras., Campinas, 1948.  
Inédito — Resumo em "Arq. Inst. Penido Burnier, Campinas, 1949, 8:132-133.
- OLIVEIRA, M. C.  
Sôro-Aglutinação na Brucelose.  
Tése — Esc. Med. e Cir. Inst. Hanem., Rio, Alba Of. Gráf., 1940: 86 páginas.
- OLIVEIRA, P. F.  
Brucelose.  
Dipán. Publ. Mensal Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1955, 8(84):37-38.

PACHECO, G.

A posição sistematica das bacterias das febres ondulantes.  
Rev. Soc. Paul. Med. Vet., 1933, 3(1-2):1-14.

PACHECO, G.

Sobre a febre ondulante ou brucelose.  
Arq. Hig., 1941, 11(1):157-179.  
Rev. Ciencias Biol., La Paz, Bolívia, 1943, 3(15):3-22.

PACHECO, G.

Nota sobre a inclusão das brucelas na soro-reação da prova de Widal.  
Hospital, 1941, 19(4):625-628.

PACHECO, G.

Brucelose equina no Brasil.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1945, 14(1-2):3-5.

PACHECO, G.

A propos de la brucellose.  
Bruxelles-Medical, 1948, 28(34).

PACHECO, G.

Diagnóstico da brucelose (Resposta assinada).  
Rev. Bras. Med., 1948, 5(5):363-364.

PACHECO, G.

Comentários em torno do 2.º Congresso Interamericano de Brucelose.  
Rev. Bras. Med., 1949, 6(4):282-284.

PACHECO, G.

Diagnóstico da brucelose pela reação cutânea.  
Rev. Bras. Med., 1949, 6(5):343.

PACHECO, G.

Brucelose pulmonar.  
An. 3.º Congr. Méd. Estado do Rio de Janeiro, Petrópolis, 1949, Setembro: 307-313.

PACHECO, G.

Escrófula brucelosa. Considerações em torno de um caso.  
Rev. Bras. Med., 1950, 7(10):651-655.

PACHECO, G.

Terceiro Congresso Interamericano de Brucelose — Reunião do "Panel of Experts"  
da Brucelose da Organização Mundial de Saúde (O.M.S.).  
Brasil-Médico, 1951, 65(14-15):137-139.

PACHECO, G.

Uma doença provinda do leite.  
Bol. C. C. P. L., 1952, 5(43):37-39.

PACHECO, G.

Frequência da brucelose particularmente em candidatos a doadores de sangue.  
Brasil-Médico, 1952, 66(16-17):227-232.

PACHECO, G.

A propósito da profilaxia da brucelose.  
Brasil-Médico, 1953, 67(1-2):12-13.

PACHECO, G.

Sur le genre *Brucella*. Sobre o gênero *Brucella*.  
WHO/Bruc. Inform. Series, 1953, Fév., n.º 94.  
Brasil-Médico, 1953, 67(10-11):170-171.

- PACHECO, G.  
Pênfigo bruceloso.  
Rev. Bras. Med., 1954, 11(7):466-469.
- PACHECO, G.  
Dermatobrucellosen.  
Memórias Inst. Osw. Cruz, 1955, 53(1):31-40.
- PACHECO, G.  
Dermatobrucellosen.  
Der Hautarzt, 1955, 6(7):304-306.
- PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
A capacidade sulfidrigena (produção de H<sub>2</sub>S) é uma propriedade geral das bactérias heterotróficas.  
Mem. Inst. Osw. Cruz, 1940, 35(2):381-397.
- PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
Mentólise bacteriana.  
Rev. Bras. Biol., 1941, 1(1):87-93.
- PACHECO, G. & COSTA, G. A.  
Influência da sulfanilamida sobre a imunidade.  
Rev. Bras. Biol., 1941, 1(3):321-324.
- PACHECO, G.; ELEJALDE, P. & SCHLÖGEL, F.  
Neuropathologic lesions produced by Brucella toxin.  
WHO/Bruc. Inform. Series, 1955, March, N.º 109.
- PACHECO, G.; ELEJALDE, P. & SCHLÖGEL, F.  
Alterações neuropatológicas pela toxina brucelosa.  
Mem. Inst. Osw. Cruz, 1955, 53(2-4):557-562.
- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Ação da tirotricina sobre brucelas.  
Brasil-Med., 1948, 62(12-13):131-135.
- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Ação de um antibiótico do alho, sobre brucelas "in vitro".  
Mem. Inst. Osw. Cruz, 1948, 46(4):661-667.  
Rev. Mexicana Med. Vet. y Zoot., 1951, 6(1):19-26.
- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Urease test for the differentiation of *Brucella suis*.  
Bacteriological Proceedings of the 50 th General Meeting, Soc. Amer. Bacter., 1950:57.
- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
A urease test for the differentiation of *Brucella suis*.  
J. Bact., 1950, 59(5):689-691.
- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Brucelose humana no Brasil (Contribuição para o estudo da casuística nacional).  
Memórias do Inst. Osw. Cruz, 1950, 48(1-2):393-436.
- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Effect of sodium oleate on *Brucella suis* infection in mice  
5.º Congresso Internacional de Microbiologia, Rio de Janeiro, 1950, Agosto.  
Em impressão.
- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Comparative study of media ordinarily used for the growth of *Brucella*.  
Third Inter American Congress on Brucellosis. Washington, D. C., 1950, November: 145-150.

- PACHECO, G. & MELLO, M. T. DE  
Morfologia das brucelas.  
Brasil-Médico, 1955, 69(6-9):63-71.
- PACHECO, G.; NOVAES, J. L. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose ocular.  
Brasil-Med., 1943, 57(45-46):433-438.
- PACHECO, G. & PARÁ, M.  
L'action bacteriolytique du menthol.  
C. R. Soc. Biol., 1937, 125:1099-1100.
- PACHECO, G.; PÉRES, J. N. & MATTOSO, I. V.  
Investigações sobre a capacidade sulfurígena das bacterias.  
Mem. Inst. Osw. Cruz, 1939, 34(4):527-546.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. I — Disseminação da doença no homem e nos animais.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(10):863-870.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose como problema médico-social. II — Patologia.  
Rev. Bras. Med., 1944, 1(12):1032-1037.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose como problema médico social. III — Brucelose crônica.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(2):135-139.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico social. IV — A brucelose na infância.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(3):195-199.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. V — Espondilite brucelosa.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(4):299-308.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema social. VI — Afecções ósseas, articulares e musculares, ou afecções do aparelho locomotor.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(6):507-512.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose como problema médico-social. VII — Alterações neuropatológicas.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(9):801-806.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. VIII — Brucelose pulmonar.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(10):884-889.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. IX — Alterações das vias digestivas e dos órgãos anexos.  
Rev. Bras. Med., 1945, 2(11):964-969.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Estomatite brucelosa.  
Med. Cir., Farm., 1945 (115):629-632.
- PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. X — Alterações do sangue e do aparelho circulatório.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(1):70-74.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XI — Brucelose urogenital e a questão abôrto humano.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(3):219-224.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Considerações clinicas em tôrno da brucelose.  
Brasil-Med., 1946, 60(16-17):140-144.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XII — Doença focal.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(5):395-397.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XIII — Brucelose cutânea.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(6):485-487.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XIV — Brucelose ocular e oto-laringológica.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(7):574-577.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XV — Diagnóstico.  
Rev. Bras. Med., 1946, 3(9):740-744.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelosis en el Brasil. Con especial referencia a las formas afebriles.  
1.<sup>a</sup> Reun. Interamer. Brucelosis, México, 1946: 63-68.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose.  
Capitulo 50 "Strümpell-Capriglione". Patologia e terapêutica das doenças internas, Tomo I — Doenças infectuosas agudas. Edição Brasileira, trad. da 33.<sup>a</sup> ed. alemã.  
Editora Científica, Rio, 1946: 1027-1122.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XVI — Tratamento.  
Rev. Bras. Med., 1947, 4(1):42-44.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
Brucelose apirética. Considerações em tôrno de 416 casos.  
Brasil-Med., 1947, 61(5-7):35-40.

PACHECO, G. & VEIGA, G. P. DA  
A brucelose como problema médico-social. XVII — Conclusão.  
Rev. Bras. Med., 1947, 4(2):136-138.

PALMQUIST, O. K.  
Brucelose no Paraná.  
Tese, Esc. Sup. Agric. Vet., Paraná, 1949.  
Bol. n.º 17, Inst. Biol. Pesq. Técn., Paraná, 1949: 50 Págs.

PALMQUIST, O. K.  
Contribuição ao conhecimento da incidência da brucelose no Estado do Paraná (Brasil).  
Arq. Biol. Tecnol. Paraná, 1952, 7:3-8.

PARÁ, M.  
Vêr PACHECO, G. — 1937

PASCALE, H. & SANTANA, M.  
Determinação do grau de positividade da intradermorreação para Brucelose Humana em profissionais que lidam com gado no interior do Estado de São Paulo. 8.º Congresso Brasileiro de Higiene, Recife, 1951.

PECEGO, O.; HARDMAN, E. & BIFONE, J.  
Contribuição ao estudo da infecção brucellica nos suínos.  
Folha Vet., 1936, 1(5):70-79.

PEIXOTO, W.  
Incidência e controle da brucelose bovina no Rio Grande do Sul.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):41-42.

PENHA, A. M.  
Defesa Sanitária Animal.  
O Biológico, 1948, 14(12):273-276.

PENHA, A. M.  
Vêr D'APICE, M. — 1945, 1947, 1948, 1950.

PENNA SOBRINHO, O.  
Vêr NEVES, J. A. *et al.* — 1945.

PENNINO, J.  
Observação clínica de um caso de brucella no homem.  
Arch. de Biol., 1932, 15(171):138-139.

PEREIRA, P. C.  
Vêr LAMOUNIER, R. D. — 1946.

PEREIRA-FILHO  
As bruceloses. Autoctonia do primeiro caso de febre ondulante pela Brucella Abortus Bovis observado no Rio Grande do Sul.  
Rev. Rad. e Clin., 1933, 2(6):755-772.

PEREIRA-FILHO, M.  
Diagnóstico e tratamento da brucelose.  
Congr. Méd. Comem. Cincoent. Fac. Med. Porto Alegre, 1949, Março: 32 págs.

PÉRES, J. N.  
Pesquisas de aglutininas para "Brucella abortus" em sôros Widal negativos.  
Brasil-Med., 1934, 58(49-50):449-450.

PÉRES, J. N.  
A febre ondulante no Estado de Minas Gerais.  
Brasil-Med., 1945, 59(1-2):2-4.

PÉRES, J. N.  
Vêr NEVES, J. A. — 1940.  
NEVES, J. A. *et al.* — 1945.

PÉRES, J. N.  
Vêr PACHECO, G. *et al.* — 1939.

PÉRES, J. N.; ANGELO, P. & MALHEIROS, C.  
Investigações sôbre a febre ondulante em Belo Horizonte (Estado de Minas Gerais).  
Anais 3.º Congr. Bras. Vet., Porto Alegre, 1945: 558-564.

PÉRES, J. N. & NEVES, J. A.  
Investigações sôbre a brucelose animal no Estado de Minas Gerais. III — Sôro-aglutinações em bovinos. Inédito.  
Referência em Péres, 1945. Informação pessoal de Péres, em 1947.

- PICOLLO, L.  
Aborto epizootico.  
Chac. e Qui., 1922, 25(1):25.
- PICOLLO, L.  
Aborto da vacca.  
Chac. e Qui., 1922, 26(4):305.
- PINTO, A. B.  
Sobre o isolamento de *Brucella Melitensis* de um baço de suíno.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1938, 8(3):184-188.
- PINTO, C.  
Brucelose.  
O Campo, 1935, 6(3):27-30; (4):15-17; (5):35-37; (6):46-48.
- PLANET, N.  
Diagnóstico de laboratório da brucelose (Resumo).  
Rev. Paul. Med., 1950, 37(1):69-70.
- PLANET, N.  
Exames de laboratório para elucidação de diagnóstico na brucelose  
Rev. da A. M. B., 1955, 2(1):72-74.
- PLANET, N.  
Vêr AMARAL, J. P. *et al.* — 1953
- POLENGHI, F. D.  
Vêr BERTOLLI, B. *et al.* — 1952.
- POLENGHI, F. D.; CARVALHO, J. D. DE; SILVA, D. Z. L. DA; RIBAS, E. B.; BERTOLLI, B.; TEIXEIRA JR., A. R.; DIEDRICH, T. N.; ALVES NETTO, E.; PUSCH JR., B. & MACHUCA, F.  
Subsídios para o levantamento da brucelose no Estado do Paraná.  
Trab. apres. XI Congr. Bras. Higiene, Curitiba, 1953: 32 fls. mimeogr.
- POMPEU SOBRINHO, T.  
A Industria Pastoril no Ceará.  
Typ.-Lith. Gadella, Ceará, 1917: 127.
- PUSCH JR., B.  
Vêr POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.
- QUINTANA, M,  
Vêr CORRÊA, O. — 1941.
- RIBAS, O. B.  
Vêr BERTOLLI, B. *et al.* — 1952.
- RIBAS, E. B.  
Ver POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.
- RIBEIRO, P. A.  
Incidência das causas de rejeição de suínos no Brasil Central — Prejuízo causado pelas mesmas nos anos de 1946-1947.  
Veterinária, 1949, 3(1):35-56.
- RIEDMÜLLER, L.  
A incubação da brucelose.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1951, 19:87-90.
- ROCHA, J. S.  
Brucelloses e Peste Suína.  
Observador Técnico, Niterói, 1946 (3-4):3-8.

- ROCHA, U. F.  
Contrôle da fecundidade em 154 vacas zebu, portadoras de brucelose.  
Comparação entre cobertura natural e inseminação artificial.  
Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo, 1948, 3(4):327-330.
- RODRIGUES, C.  
Aborto infeccioso das vacas.  
Divulgação científica da Divisão Animal.  
Instituto Biológico de São Paulo, 1936: 4 págs.
- ROGICK, F. A.  
Contribuição ao estudo da lactosoroaglutinação na brucelose bovina.  
Rev. Ind. Animal, 1939, N. S., 8,2(3):22-40.
- ROGICK, F. A.  
Presença da *Brucella abortus* no leite.  
Rev. Ind. Animal, 1940, N. S., 9,3(1):7-33.
- ROGICK, F. A.  
Pesquisas sobre a brucelose caprina em São Paulo.  
Rev. Ind. Animal, 1941, N. S., 10,4(1):33-37.
- ROGICK, F. A.  
Bruceloses.  
Anais 2.º Congr. Bras. Vet., Belo Horizonte, 1943: 183-223.  
Rev. Ind. Animal, 1944, N. S., 13,7(1-2):97-128.
- ROGICK, F. A.  
Problemas sobre a tuberculose e a brucelose.  
Rev. Rural Bras., 1944, 24(287):22-24.
- ROGICK, F. A.  
Ver MELLO, A. — 1938, 1939, 1940.
- ROSENFELD, G.  
Ver BARROS, O. M. DE *et al.* — 1941.
- RUSSO, E.  
Da significação da sôro-aglutinação na brucelose dos equídeos (Nota prévia).  
Anais 3.º Congr. Bras. Vet., Porto Alegre, 1945: 598-611.
- SALES, F. M.  
Valor da prova da brucelina no diagnóstico da brucelose (Resposta assinada).  
Pinheiros Terapêutico, 1951, 3(12):7.
- SALIÉS, P.  
Contribuição à adoção de um método de profilaxia da brucelose bovina no Rio Grande do Sul.  
Tese — Escola Agron. e Vet., Univ. R. G. Sul, Pôrto Alegre, 1949: 93 págs.
- SANSON, D. DE  
Caso suspeito de brucelose humana.  
Bol. Acad. Nac. Med., 1940, 112(2):60-61.
- SANTANA, M.  
Ver PASCALE, H. — 1951.
- SANTO, L. DI  
Ver LACAZ, C. S. *et al.* — 1954.
- SCHWAB, A.  
Considerações em tórno de um caso de brucelose.  
Brasil-Méd., 1941, 55(35):601-603.

- SCHLÖGEL, F.  
Considerações em torno da brucelose bovina.  
I.B.P.T., Paraná, 1952, 1(1):6-8.
- SCHLÖGEL, F.  
Contribuição ao conhecimento da brucelose humana em Curitiba, Paraná.  
O Hospital, 1953, 43(3):405-409.
- SCHLÖGEL, F.  
Vêr PACHECO, G. *et al.* — 1955.
- SCIANNAMÉA, I. M.  
Vêr LACAZ, C. S. *et al.* — 1954.
- SEIXAS, D. J.  
O aborto infeccioso das vaccas.  
Correio do Povo, Porto Alegre, 1924.
- SEIXAS, D. J.  
Sobre a organização de um serviço veterinario estadual. Aborto enzootico.  
A Estancia, 1929-1930, 13(1):22-26.
- SEIXAS, D. J.  
Moléstia de Bang nos bovinos.  
Bourgelat, 1937, 1(2):48-50.
- SILVA, D. Z. L. DA  
Vêr POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.
- SILVA, N. N. DA  
Situação atual da brucelose no Rio Grande do Sul.  
Atas da XI Conf. San. Panam., Rio, 1942: 256-263.
- SILVA, N. N. DA  
A Brucelose no Rio Grande do Sul.  
Arq. Depart. Estadual de Saúde, R. G. Sul, 1943, 4:7-14.
- SILVA, N. N. DA  
Brucelose. O problema humano e veterinario no Rio Grande do Sul (2.<sup>a</sup> comunicação).  
Hospital, 1947, 32(6):925-938.
- SILVA, N. N. DA  
Brucelose: o problema humano e veterinário do Rio Grande do Sul (Brasil).  
Memorias del Primer Congreso Nacional de la Brucelosis, Montevideo, 1947,  
Diciembre: 86-100.
- SILVA, N. N. DA  
Bases e planos de combate à brucelose no Rio Grande do Sul.  
Congr. Méd. Comem. Cincoent. Fac. Med. Porto Alegre, 1949, Março: 4 págs.
- SILVA, NÍBER P. M. DA  
Vêr MELLO, M. T. DE — 1952, 1954.  
MELLO, M. T. DE *et al.* — 1954.
- SILVA, NÍBER P. M. DA  
Vêr TRAVASSOS, J. *et al.* — 1954.
- SILVA, O. M. DE C. E  
Aborto das vacas.  
Bol. Com. Exec. do Leite, 1944, 3(32).
- SILVA, O. M. DE C.  
Bruceloses.  
Bol. Com. Exec. do Leite, 1945, 4(45):165-169.

- SIQUEIRA, M.  
Vêr LACERDA, P. M. G. DE *et al.* — 1949.
- SIQUEIRA, N. DE  
Vêr FRANÇA, I. *et al.* — 1954.
- SODRÉ, L.  
Reto-colite brucélica. Nota prévia.  
Brasil-Med., 1944, 58(30-31):277-279.
- SOUZA, H. R.  
Sôbre um meio de cultura à base de placenta humana.  
Hospital, 1948, 34(2):293-297.
- SOUZA, R. DE  
Vêr HIPOLITO, O. *et al.* — 1943.
- STAVALE, A.  
Um caso de brucellose.  
Rev. Clin. de S. Paulo, 1937, 1(3):135-139.
- TAUNAY, A. DE E.  
Vêr AMARAL, J. P. *et al.* — 1953.
- TEIXEIRA, M. F. M.  
O "Ring Test" na brucelose bovina.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1950, 5(10):16-24.
- TEIXEIRA, M. F. M.  
Aplicação do "Ring test" no contrôle da brucelose bovina.  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1951, 7(11):18-25.
- TEIXEIRA, M. F. M.  
Plano Nacional de Combate à Brucelose (Entrevista).  
Bol. Dir. Prod. An., R. G. Sul, 1953, 9(15):44-46.
- TEIXEIRA JR., A. R.  
Vêr BERTOLLI, B. *et al.* — 1952.
- TEIXEIRA JR., A. R.  
Vêr POLENGHI, F. D. *et al.* — 1953.
- TELES, L. Q.  
Brucelas. Ação sobre nitrato.  
Rev. Inst. Adolfo Lutz, 1941, 1(1):142-152.
- TORRES, S.  
Molestia de Bang.  
Rev. Zoot. Vet., 1931, 17(1):49-56.
- TORRES, S.  
Diagnostico da brucelose, nos bovinos, pela prova de sôro aglutinação rápida, em placa.  
Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 1942, 11(3):85-95.
- TRAMONTI, E.  
Contribuição clinica ao estudo da brucellose (febre ondulante) em S. Paulo.  
Novo therapia, 1934, 14(79):13-19.
- TRAVASSOS, J.; UBATUBA, ARLETE; SILVA, NÍBER P. M. DA & MELLO, M. T. DE  
Febre Q no Rio de Janeiro.  
Ciência e Cultura, 1954, 6(4):199-200.
- UBATUBA, ARLETE  
Vêr TRAVASSOS, J. *et al.* — 1954.

- VALLE, A. L.  
O inspetor de laticínios em face da brucelose.  
Bol. Leite, 1953, 7(77):9-14.
- VALLE, A. L.  
Combate intensivo e racional à Brucelose Animal.  
Diário de Notícias, 13 Dez., 1953.
- VALLE, H. L.  
Verificações comparativas em torno da aglutinação rápida para diagnóstico da brucelose.  
Bol. Div. Def. San. An., 1950, 1:47-65.
- VASCONCELOS, F. DE  
Sobre 3 amostras de Brucelas suis isoladas de hemoculturas.  
Rev. Clin. S. Paulo, 1939, 5(3):90-94.
- VASCONCELOS, F.  
Vêr BARROS, O. M. DE *et al.* — 1941.
- VEIGA, G. P. DA  
Vêr PACHECO, G. — 1944, 1945, 1946, 1947.
- VEIGA, G. P. DA  
Vêr PACHECO, G. *et al.* — 1943.
- VESPUCCI, P.  
Vêr CARINI, — 1932.
- VIGNOLI, J.  
Aspectos da brucelose como problema clínico de atualidade.  
Med., Cir., Farm., 1943 (92):586-599.
- WEDERHAKE, C. J.  
Contribuição para o estudo das febres ondulantes.  
Tese — Fac. Med. de Porto Alegre. Tip. Gundlach, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 1934:57 páginas.
- XAVIER, M.  
Estão sendo dizimados os rebanhos de Mato Grosso (Entrevista).  
A Manhã, Rio de Janeiro, 14-VIII-1947.
- YAHN, O.  
Vêr LACAZ, C. S. *et al.* — 1954.

---

## C — OBRAS IMPORTANTES SÓBRE BRUCELOSE

### 1 — MONOGRAFIAS

- BERTHELON, M.  
1947. Les brucelloses animales. Impr. Salingardes, Toulouse: 217 págs.
- CANTALOUBE, P.  
1911. La fièvre de Malte en France. Étude clinique d'après 200 cas personnels. A. Maloine, Éd., Paris: 225 págs.
- CASTAÑEDA, M. R.  
1942. Brucelosis. Ed. Revista Medicina, México: 253 págs.  
1954. \* Brucelosis, 2.<sup>a</sup> ed. La Prensa Médica Mexicana, México: 302 págs.

---

\* Esta Monografia já se encontrava no prelo quando recebemos a 2.<sup>a</sup> edição do livro de CASTAÑEDA.

- HARRIS, J. H.  
 1941. Brucellosis (Undulant fever). Clinical and subclinical, 1st ed. Paul B. Hoeber, Inc., New York: 286 págs.  
 1950. Brucellosis (Undulant fever). Clinical and subclinical, 2nd ed., rev. Paul B. Hoeber, Inc., New York: 617 págs.
- HUDDLESON, I. F.  
 1934. Brucella infections in animals and man. Methods of laboratory diagnosis. The Commonwealth Fund, New York: 108 págs.  
 1943. Brucellosis in man and animals. Rev. ed. The Commonwealth Fund. New York: 379 págs.
- HUGHES, M. L.  
 1897. Mediterranean, Malta or undulant fever. Macmillan & Co., London.
- LÖFFLER, W.; MORONI, D. L. & FREI, W.  
 1955. Die Brucellose als Anthropo-Zoonose (Febris undulans). Eine zusammenfassende Darstellung für Ärzte und Tierärzte. Lange & Springer, Berlin: 193 págs.
- MICHEL-BÉCHET, R.; PUIG, R. & CHARVET, P.  
 1939. Localisations viscérales et aspects chirurgicaux des brucelloses. Masson et Cie, Ed., Paris: 168 págs.
- MORALES-OTERO, P.  
 1948. Studies of Brucella infection in Puerto Rico. San Juan: 173 págs.
- PONS, A. P. & VALENTÍ, P. F.  
 1944. La brucelosis humana (Fiebre de Malta-Enfermedad de Bang). Salvat Ed., S. A., Barcelona: 251 págs.
- PURRIEL, P.; RISSO, R. & ESPASANDIN, J.  
 1944. Brucellosis. Estudio de esta enfermedad en el Uruguay. Edit. Independencia, Montevideo: 407 págs.
- ROGER, H. & POURSINES, Y.  
 1938. Les meningo-neuro-brucelloses. Masson et Cie., Paris.
- RUCHELLI, A. P.  
 1935. La fiebre ondulante en el Noroeste de la Provincia de Catamarca. Tese. Fac. Medicina, Buenos Aires: 243 págs.
- SIGNORELLI, S.  
 1941. L'infezione brucellare nell'uomo. Casa Ed. Libr. V. Idelson, Napoli: 327 págs.  
 1949. L'infezione brucellare nell'uomo, 2.<sup>a</sup> ed., rev. Casa Ed. Libr. V. Idelson, Napoli: 437 págs.
- TRAMBUSTI, A.  
 1908. La febbre mediterranea (Setticemia del Bruce). Alberto Reber, Palermo: 98 págs.
- VALENTÍ, P. F.  
 1943. Neurobrucellosis. Estudio de las manifestaciones nerviosas de la Fiebre de Malta y Enfermedad de Bang. Manuel Marin, Ed., Barcelona: 116 págs.
- VIOLLE, H.  
 1931. La fièvre ondulante. Masson et Cie., Éd., Paris: 114 págs.

## 2 — ARTIGOS EM TRATADOS E PERIÓDICOS

- ARIAS-STELLA, J.  
 1951. Contribucion al conocimiento de la patologia de la brucelosis. Observaciones anatomo-patologicas en casos mortales humanos y estudio patogenico experimental. An. Fac. Medicina, Lima, Peru, 34:429-517.

- DUNCAN, J. T.; WHITEBY, L. E. H. & McEWEN, A. D.  
1930. The Brucella group.  
Em "A system of bacteriology in relation to medicine". Vol. V, His Majesty's Stationery Office, London: 386-438.
- LÖFFLER, W. & MORONI, D. L.  
1952. Die Brucellose.  
Em "Handbuch der inneren Medizin. Infektionskrankheiten". Vol. II. Springer-Verlag, Berlin: 100-202.
- FRÖHNER, E. & ZWICK, G.  
1933. El aborto infeccioso. Abortus enzooticus.  
Em "Patología y terapéutica veterinarias". Vol. III. Gustavo Gili, Ed., Barcelona, 2.<sup>a</sup> ed. española: 82-142.
- HUTYRA, F.; MAREK, J. & MANNINGER, R.  
1938. Brucellosis.  
Em "Special pathology and therapeutics of the diseases of domestic animals". Vol. I. Bailliére, Tindall & Cox, London, 4.<sup>a</sup> ed. inglesa: 793-824.
- LUSTIG, A. & VERNONI, G.  
1928. Maltafieber (Undulant fever, Mittelmeerfieber).  
Em "Handbuch der pathogenen Mikroorganismen", W. Kolle, R. Kraus & P. Uhlenhuth. Gustav Fischer, ed., Berlin, 3.<sup>a</sup> ed., 4(1):511-584.
- MAZZETTI, G. & TESI, A.  
1949. Biología delle brucelle. Epidemiologia e profilassi delle brucellosi umane.  
Ann. San. Publ., Roma, 10(5):1195-1325.
- POPPE, K.  
1929. Der infektiöse Abortus des Rindes (Bang-Infektion).  
Em "Handbuch der pathogenen Mikroorganismen", W. Kolle, R. Kraus & P. Uhlenhuth. Gustav Fischer, ed., Berlin, 3.<sup>a</sup> ed., 6(2):693-750.
- THOMSEN, A.  
1934. Brucella infection in swine. Studies from an epizootic in Denmark  
Acta Path. Microb. Scandinava, Supplementum 21:1-253.
- WILSON, G. S. & MILES, A. A.  
1946. Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. Edward Arnold & Co., London, 3.<sup>a</sup> ed., Vol. I:814-837; Vol. II: 1692-1729.

### 3 — CONGRESSOS, REUNIÕES e RELATÓRIOS

- 1 — Reports of the Commission appointed by the Admiralty, the War Office and the Civil Government of Malta, for the investigation of Mediterranean fever, under the supervision of an Advisory Committee of the Royal Society. Parts I-VI, 1905-1907.
- 2 — Primera Reunion Interamericana de la Brucelosis.  
Mexico, Octubre, 1946. Ed. Hospital General, México, 1948: 775 págs.
- 3 — Primera Conferencia Nacional de la Brucelosis.  
Buenos Aires, 21-26 Julio, 1947: 250 págs.
- 4 — Memorias del Primer Congreso Nacional de la Brucelosis.  
Montevideo, 15-17 Diciembre, 1947: 566 págs.
- 5 — Brucellosis. A Symposium held under the joint auspices of National Institute of Health of the Public Health Service, United States Department of Agriculture and National Research Council.

Bethesda Maryland, Sept. 22-23, 1949. A publication of the American Association for the Advancement of Science, Washington, 1950: 251 págs.

- 6 — Third Inter-American Congress on Brucellosis. Washington, November, 1950: 302 págs.
- 7 — Curso de Entrenamiento de Brucelosis. Instituto de Investigaciones Pecuarias y Centro de Brucelosis de la Oficina Sanitaria Panamericana/Organizacion de Agricultura y Alimentos. México, 1-13 Marzo, 1954: 184 págs. mimeografadas.
- 4 — PUBLICAÇÕES DO COMITÊ DE PERITOS EM BRUCELOSE, DA WHO/FAO  
Rapport de la Première Session, Washington, 1950. Organization Mondial de Santé, Série de Rapports Techniques, 1951, 37: 34 págs.  
Rapport de la Deuxième Session, Florence, 1952. Organization Mondial de Santé, Série de Rapports Techniques, 1953, 67: 36 págs.

*WHO/Brucellosis Information Series:*

- 1 — Present position regarding treatment of human brucellosis — 20-6-1950 — M. RUIZ CASTAÑEDA.
- 2 — The use of the *Brucella abortus* ring test (ABR) in the control of brucellosis in dairy cattle — 22-6-1950 — MARTIN M. KAPLAN.
- 3 — A new method for staining living bacteria, spermia, etc., particularly serviceable for the preparation of *Brucella* ring-test antigen (Preliminary report) — 22-6-1950 — HERLUF BENDTSEN.
- 4 — The preparation, standardization and use of the hematoxylin stained antigen for the *Brucella abortus* ring test (ABR) — 22-6-1950 — MARTIN M. KAPLAN.
- 5 — Summary of the present status of brucellosis — 31-7-1950 — MARTIN M. KAPLAN.
5. Rev.1 — A summary of the present status of brucellosis — 22-8-1950 — MARTIN M. KAPLAN.
- 6 — Recent developments in the therapy of human brucellosis. IV — Aureomycin therapy — 29-8-1950 — E. A. MOLINELLI.
- 7 — Provisional agenda. First Session of WHO/FAO Expert Panel on Brucellosis, Washington, 6-14 November 1950 — 13-9-1950.
- 8 — Notes for consideration of WHO/FAO Expert Panel on Brucellosis — 17-8-1950 — HAROLD J. HARRIS.
- 9 — Notes for consideration of WHO/FAO Expert Panel on brucellosis — 24-8-1950 — Sir WELDON DALRYMPLE-CHAMPNEYS.
- 10 — Sensitivity of tetrazolium-stained ring-test antigen as compared with other ring test antigens (Preliminary report) — 21-9-1950 — HERLUF BENDTSEN.
- 11 — Results of treating undulant fever cases in England and Wales with aureomycin and chloromycetin — 28-9-1950 — Sir WELDON DALRYMPLE-CHAMPNEYS.
- 12 — Some observations on caprine brucellosis — 4-10-1950 — BENJAMIN LUCAS MORAN.

- 13 — Anticorps bloquants dans le serum de sujets brucelliques. I — Leur mise en evidence — 19-10-1950 — GÉRARD RENOUX.
- 14 — Consideration on the general development of human brucellosis — 18-10-1950 — M. JANBON.
- 15 — Trial of Copenhagen antigen for intradermal tests on goats — 19-10-1950 — L. CARRÈRE & G. RENOUX.
- 16 — Trial of the ring test with goats' milk — 19-10-1950 — L. CARRÈRE & G. RENOUX.
- 17 — Comments on the programme of the Expert Panel on Brucellosis — 19-10-1950 — L. CARRÈRE & G. RENOUX.
- 18 — Notes for meeting of WHO/FAO Expert Panel on Brucellosis — 23-10-1950 — A. W. STABLEFORTH.
- 19 — Notes for meeting of WHO/FAO Expert Panel on Brucellosis — 23-10-1950 — A. W. STABLEFORTH.
- 20 — Standardized *Brucella abortus* agglutination suspension and standardized *Brucella abortus* agglutination concentrate — 23-10-1950 — Ministry of Agriculture and Fisheries, Veterinary Laboratory, Weybridge.
- 21 — Standardized *Brucella abortus* agglutination concentrate; standardized *Brucella abortus* agglutination suspension — 23-10-1950 — Ministry of Agriculture and Fisheries, Veterinary Laboratory, Weybridge.
- 22 — *Brucella abortus* strain 19 vaccine dried from frozen state — 24-10-1950 — O. BOSGRA.
- 23 — Recent developments in the therapy of human brucellosis. V — Therapy with "Antibrucellina" — 24-10-1950 — E. A. MOLINELLI; S. MIYARA; D. ITHURRALDE; G. PANDOLFO; G. BASSO & ROSA V. DE GAMBINO.
- 24 — Immunization of cattle with ether-killed *Brucella abortus* in saline-in-oil emulsion — 2-11-1950 — I. LIVE.
- 25 — A method for determining the virulence and the toxicity of *Brucella* strains and the protective action of anti-*Brucella* vaccines — 2-11-1950 — GIUSEPPE MAZZETTI.
- 26 — The allergic test in brucellosis — 7-11-1950 — M. RUIZ CASTAÑEDA.
- 27 — Some comments on biological methods of diagnosis of brucellosis in human beings (*Brucellosis melitensis*) — 7-11-1950 — M. JANBON.
- 28 — The general evolution of brucellosis in human beings — 9-11-1950 — M. JANBON.
- 29 — Present status of our experience in the treatment of brucellosis — 7-11-1950 — M. JANBON.
- 30 — Adenoculture — 7-11-1950 — M. JANBON; L. BERTRAND & H. QUATREFAGES.
- 30A — Brucellosis eradication in Scandinavia — 11-11-1950 — AXEL THOMSEN.
- 31 — Quantitative determination of immunity potency of *Brucella abortus* vaccines — 11-11-1950 — L. OLITZKI.
- 32 — The protective effect of cattle sera on lethal *Brucella* infection of mice — 11-11-1950 — L. OLITZKI.
- 33 — Report of the First Session of the Joint FAO/WHO Expert Panel on Brucellosis — 12-11-1950.

- 33A — Report of the First Session of the Joint FAO/WHO Expert Panel on Brucellosis — Washington, 6-13 November, 1950 — 21-12-1950.
- 34 — The immunizing potency of living *Brucella abortus* vaccines tested in lethal infections of white mice produced with the aid of the mucin technic — 11-1-1951 — L. OLITZKI & R. KUSHNIR.
- 35 — Differentiation of smooth and non-smooth colonies of *Brucellae* — 11-1-1951 — PHILIP G. WHITE & J. B. WILSON.
- 36 — Improved methods for preparation of the hematoxylin stained antigen for the *Brucella abortus* ring test (ABR) — 12-1-1951 — AAGE JEPSEN.
- 37 — *Brucella abortus* diagnostic antigen — 9-3-1951.
- 38 — Spot test for clinical use in brucellosis — 21-3-1951 — M. R. CASTAÑEDA.
- 39 — Preliminary note on the agglutination reaction of goat's milk with the ABR test stained antigen — 7-5-1951 — G. P. ALIVISATOS & ANT. EMMA-NOUILIDOU.
- 40 — Production of *Brucella abortus* strain 19 vaccine — 11-6-1951 — Ed. by MARTIN M. KAPLAN.
- 41 — A tetrazolium stained antigen for serum agglutination tests in brucellosis — 22-6-1951 — MILTON THIAGO DE MELLO.
- 42 — Preliminary observations on the use of the ABR stained antigen in brucellosis of goats — 25-9-1951 — M. L. LEVI.
- 43 — A milk plate for the detection of brucellosis — 2-1-1952 — GRANT E. BLAKE; C. A. MANTHEI & E. R. GOODE JR.
- 44 — The ring-test on sheep milk — 2-1-1952 — G. D'ALO.
- 45 — Second note on the agglutination reaction of goat's milk with the ABR test stained antigen — 13-3-1952 — G. P. ALIVISATOS & ANT. EMMANOUILIDOU.
- 46 — Treatment of brucellosis by means of water-soluble extracts from *Brucella* — 17-4-1952 — M. RUIZ CASTAÑEDA.
- 47 — A new method for differentiating the varieties of *Brucella*; the action of sodium diethyldithiocarbamate (DEDTC) — 30-4-1952 — G. RENOUX & H. QUATREFAGES.
- 48 — Note on the ABR reaction with ewe's milk — 24-6-1952 — G. P. ALIVISATOS & ANT. EMMANOUILIDOU.
- 49 — Detection of *Brucella* infection in sheep's milk by use of the ring-test — 5-7-1952 — L. CARRÈRE; J. ROUX & H. QUATREFAGES.
- 50 — Provisional agenda — Second Session of FAO/WHO Expert Panel Committee on Brucellosis, Florence, 13-18 October 1952 — 3-7-1952.
- 51 — Agglutinin titres in active brucellosis — 3-9-1952 — M. R. CASTAÑEDA.
- 52 — Evaluation of rapid tests in human brucellosis — 3-9-1952 — M. R. CASTAÑEDA.
- 53 — Chemotherapy and antibiotic therapy of human brucellosis — 4-9-1952 — E. A. MOLINELLI; G. P. PANDOLFO; E. MONTUORI; O. L. REPETTO; D. ITHURRALDE; A. SPERONI; G. BASSO; S. MIYARA; V. C. VITAL & C. GUILLAND.

- 53 Add.1 — Chimiotherapie et mycotherapie de la brucellose humaine — 9-10-1950 — E. A. MOLINELLI; G. P. PANDOLFO; E. MONTUORI; O. L. REPETTO; D. ITHURRALDE; A. SPERONI; G. BASSO; S. MIYARA; V. C. VITAL & C. GUILLAND
- 54 — Clinical, hormonal and histologic study of human *Brucella* orchio-epididymitis — 4-9-1952 — F. A. DE LA BALZE; R. E. MANCINI; G. IACAPRARO; F. ARRILLAGA & E. A. MOLINELLI.
- 55 — Standardization of antigen stained with phenyl--tetrazolium chloride (Bendtsen) for the milk ring test — 5-9-1952 — G. RENOUX.
- 56 — Statement on proposed type strains of *Brucella* and on atypical strains received since January 1951 — 5-9-1952 — A. W. STABLEFORTH.
- 57 — The ring and plate tests in *Brucella* infection in vaccinated animals — 6-9-1952 — K. Ogonowski.
- 58 — The detection of *Brucella* infection in goats by a test using stained antigens added to the milk — 10-9-1952 — G. RENOUX & G. CORDIER.
- 59 — The serodiagnosis of brucellosis. Comparative study of three antigens — 10-9-1952 — GÉRARD RENOUX.
- 60 — Preventive vaccination of the guinea pig against experimental infection with brucellosis (*Br. melitensis*) using a combination of strain 19 and anacultures — 12-9-1952 — G. RENOUX.
- 61 — Identification of strains of *Brucella*. Comparative results of serological and other methods — 12-9-1952 — G. RENOUX.
- 62 — Chronic brucellosis. Comments on the importance and validity of tests other than culture and agglutination reaction — 12-9-1952 — HAROLD J. HARRIS.
- 63 — Remarks concerning the provisional agenda of the Second Session — 12-9-1952 — G. RENOUX.
- 64 — Therapy in human brucellosis — 16-9-1952 — M. R. CASTAÑEDA.
- 65 — Standard laboratory methods for the diagnosis of brucellosis in man and animals — 16-9-1952 — L. CARRÈRE.
- 66 — Advancements in the control of brucellosis in the United States — 16-9-1952 — C. A. MANTHEI.
- 67 — Standard and differential procedures for the isolation, identification and classification of the *Brucella* species — 16-9-1952 — C. A. MANTHEI.
- 68 — Considerations in connexion with the Second Session of the FAO/WHO Committee on Brucellosis — 17-9-1952 — SAID BILAL GOLEM.
- 69 — A killed *Brucella* vaccine with adjuvants in cattle — 24-9-1952 — I. LIVE.
- 70 — Activities of the FAO/WHO Brucellosis Center, University of Minnesota, Minneapolis — 24-9-1952 — W. W. SPINK.
- 71 — The sensitivity of the guinea pig to small infective doses of *Brucella* and its use for biological tests — 24-9-1952 — G. GARGANI.
- 72 — Note on brucellosis treatment — 25-9-1952 — G. MONASTERIO.
- 73 — Investigations with regard to the persistence of live and virulent *Brucella* in cheese made from goat's milk — 25-9-1952 — G. GARGANI.
- 74 — Passive hemagglutination of sensitized erythrocytes by *Brucella* antigens or specific soluble substances — 24-9-1952 — L. CARRÈRE & J. ROUX.

- 75 — Agglutination inhibiting factors in brucellosis — 26-9-1952 — G. GARGANI.
- 76 — Rapid lacto-agglutination with stained antigens in the diagnosis of ovine brucellosis — 26-9-1952 — SEBASTIANO PALTRINIERI.
- 77 — Agglutinin-blocking antibodies in sera of Brucella-infected sheep — 26-9-1952 — SEBASTIANO PALTRINIERI.
- 78 — Identification of the species of Brucella: a comparative study of the different laboratory techniques employed — 29-9-1952 — E. C. HULSE.
- 79 — Intradermic reaction to melitensis, and agglutinins in sheep — 30-9-1952 — L. CARRÈRE; J. ROUX & H. QUATREFAGES.
- 80 — Method of preparation of a standard antigen for the sero-agglutination reaction — 1-10-1952 — G. P. ALIVISATOS.
- 81 — Investigation of the nature of the ABR and ABA<sub>2</sub> tests — 3-10-1952 — G. P. ALIVISATOS; A. EMMANOUELIDOU & A. BELEZOU.
- 82 — The work of the FAO/WHO network of brucellosis centres — 3-10-1952 — MARTIN M. KAPLAN.
- 83 — Some references to the literature on brucellosis since the First Meeting of the FAO/WHO Expert Panel in November 1950 — 3-10-1952 — E. C. HULSE.
- 84 — Recent reports on the prevalence of brucellosis in various countries — 6-10-1952 — E. C. HULSE.
- 85 — List of brucellosis documents — 1-10-1952.
- 86 — Isolation of the organism — 13-10-1952 — NORMAN B. McCULLOUGH.
- 87 — I. Results of treatment of brucellosis with antibiotics in England and Wales. I. Success of repeated blood culture in isolating Brucella — 13-10-1952 — Sir WELDON DALRYMPLE-CHAMPNEYS.
- 88 — Comparison of the ABR and the ABA<sub>2</sub> slide tests — 14-10-1952 — G. P. ALIVISATOS & A. BELEZOU.
- 89 — A new species of Brucella. Br. intermedia — 13-10-1952 — G. RENOUX.
- 90 — Typing of Brucella strains at the Brucella reference laboratory of the Public Health Laboratory Service, London — 13-10-1952 — J. C. CRUICKSHANK.
- 91 — Comments on action and programs — 15-10-1952 — H. C. BENDIXEN.
- 92 — The milk ring test (ABR) in sheep milk — 14-11-1952 — J. SRAKOCIC.
- 93 — Rapport sur la Deuxième Session. Florence, 13-18 octobre 1952 — 17-11-1952.
- 94 — Sur le genre Brucella — 4-2-1953 — GENESIO PACHECO.
- 95 — Immunization against Br. melitensis infection with a streptomycin dependent mutant — 28-5-1953 — SANFORD ELBERG & MENDEL HERZBERG.
- 96 — Premiers résultats des épreuves comparatives de cultures de Brucella sur certains milieux recommandés par le Comité FAO/OMS d'Experts de la Brucellose — 6-7-1953 — G. GARGANI & M. V. DONNINI.
- 97 — Action comparée "in vitro" de la mycoïne et de la terramycine sur Brucella — 6-7-1953 — MILTON THIAGO DE MELLO.

- 98 — A propos de la reaction du lait de chèvre avec les antigenes colorés pour le depistage de l'infection brucellique — 24-7-1953 — G. P. ALIVISATOS & TH. EDIPIDES.
  - 99 — Rapport sur la brucellose humaine (fièvre de Malte) en Grece pendant l'année 1952 — 19-8-1953 — G. P. ALIVISATOS.
  - 100 — Le problème des souches spontanément aberrantes de Brucella — 20-8-1953 — WERNER BRAUN & GLENDA OGLESBY.
  - 101 — Protective effect of sera from animals treated with different Brucella antigens upon Brucella infection in mice — 24-9-1953 — I. LIVE & L. A. GUILIANI.
  - 102 — Resultats de l'application d'un antigène étalon pour la séro-agglutination des brucelloses chez l'homme et chez les animaux — 9-10-1953 — G. P. ALIVISATOS; V. DERDEMEZIS & TH. EDIPIDIS.
  - 103 — La vaccination humaine contre la brucellose — 27-11-1953 — L. CARRÈRE; J. ROUX & H. QUATREFAGES.
  - 104 — Brucellose et diabète concomitant. Communication — 10-12-1953 — HAROLD J. HARRIS.
  - 105 — L'érythromycine, agent de differentiation des especes de Brucella — 3-3-1954 — M. RUIZ CASTAÑEDA & C. CARRILLO-CÁRDENAS.
  - 106 — Milieux selectifs pour l'isolement des Brucella et plus particulièrement de Brucella melitensis, a partir des produits contaminés — 3-5-1954 — G. RENOUX.
  - 107 — Serum agglutination tests for brucellosis in bovines treated with mycoin by intravenous route. Preliminary note — 30-9-1954 — MILTON THIAGO DE MELLO; NÍBER PAZ M. SILVA & VIRGINA DE LOPEZ.
  - 108 — Sur l'existence probable de nouveaux antigenes des Brucella, avec un nouveau schema proposé pour représenter la repartition de ces antigenes — 10-2-1955 — G. RENOUX & L. W. MAHAFFEY.
  - 109 — Neuropathologic lesions produced by Brucella toxin — 17-3-1955 — GENÉSIO PACHECO; PAULO ELEJALDE & FRIDOLIN SCHLÖGEL.
  - 110 — Materiel amélioré pour l'isolement des Brucella, Salmonella, etc., par hemoculture — 1-6-1955 — M. RUIZ CASTAÑEDA.
  - 111 — L'action protectrice de la chlorpromazine contre l'endotoxine de Brucella — 28-10-1955 — ROBERT S. ABERNATHY; FRANZ HALBERG & WESLEY W. SPINK.
  - 112 — Note sur la chimiotherapie de la brucellose — 16-11-1955 — M. RUIZ CASTAÑEDA.
  - 113 — Note préliminaire sur la reaction d'agglutination du lait de buffle avec les antigenes colorés de l'épreuve ABR — 28-12-1955 — M. R. CHALACH.
-



# ÍNDICE GERAL

	<i>Página</i>
PREFÁCIO .....	III
SUMÁRIO .....	V
<b>CAPÍTULO I — INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
A — Notícia histórica .....	1
B — Conceito da doença .....	8
C — Sinonímia .....	9
Bibliografia .....	9
<b>CAPÍTULO II — ETIOLOGIA — BACTERIOLOGIA DA BRUCELOSE .....</b>	<b>11</b>
A — Histórico .....	11
B — Nomenclatura e posição sistemática .....	12
C — Morfologia .....	15
D — Caracteres culturais .....	30
E — Meios de cultivo .....	32
F — Condições para o cultivo .....	40
Temperatura .....	40
Reação do meio .....	40
Influência do oxigênio .....	40
Influência do nitrogênio .....	41
Influência do gás carbônico .....	41
G — Exigências nutritivas .....	44
H — Cultivo em massa .....	48
I — Atividades bioquímicas .....	49
a) Ação sobre os hidratos de carbono .....	50
b) Ação sobre os compostos nitrogenados .....	53
c) Ação sobre os compostos sulfurados .....	54
J — Atividade respiratória .....	55
K — Enzimas .....	63
L — Composição química e estrutura antigênica .....	64
M — Resistência aos agentes físico-químicos .....	66
Agentes físicos .....	66
Frio .....	66
Calor .....	67
Dessecação .....	63
Luz .....	70
Rádium .....	71
Raios X .....	71
Ultra-son .....	72
Agentes químicos .....	72
Corantes .....	74
Ácidos aminados .....	74
Compostos quinônicos .....	75

	<i>Página</i>
Ácido para-amino salicílico .....	75
Ácido para-amino benzóico .....	76
Ácido caféico .....	76
BAL .....	76
Sulfas .....	77
Outros compostos .....	78
Antibióticos .....	78
Extratos de plantas .....	82
Viabilidade em meios de cultura e alimentos .....	83
Lacticínios e outros produtos de origem animal .....	84
N — Patogenicidade .....	85
Virulência .....	85
Toxicidade .....	87
Infecção natural .....	87
Infecção experimental .....	88
O — Imunidade na brucelose .....	99
Imunidade inata .....	99
Imunidade adquirida .....	99
Ação bactericida do plasma sanguíneo .....	100
Evolução das aglutininas .....	101
P — Bacteriófagos .....	101
Q — Variação .....	102
Identificação, isolamento e manutenção de colônias S .....	112
Vacinas mucosas .....	115
R — Diferenciação entre as espécies ou tipos de brucelas .....	116
1 — Crescimento em presença de corantes .....	117
2 — Atividade ureásica .....	124
3 — Exigência de CO <sub>2</sub> para o isolamento inicial .....	128
4 — Produção de H <sub>2</sub> S .....	129
5 — Prova de carbamato (DEDTC) .....	131
6 — Virulência e patogenicidade .....	134
7 — Fermentação de hidratos de carbono .....	134
8 — Redução de nitratos e toxicidade de nitritos .....	136
9 — Provas sorológicas .....	137
Aglutinação .....	137
Aglutinação seletiva .....	140
Precipitinas .....	140
10 — Cultivo em meios com ovo .....	141
11 — Morfologia .....	143
12 — Colorações específicas .....	143
13 — Meios com tetrazólio .....	143
14 — Medida do potencial de óxido-redução .....	144
15 — Medida do pH do meio .....	144
16 — Formação de cristais de fosfatos .....	144
17 — Composição química .....	144
18 — Sensibilidade a antibióticos .....	145
19 — Atividade catalásica .....	145
20 — Comentários sobre as amostras atípicas de brucelas ..	148
Bibliografia .....	151
CAPÍTULO III — DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA .....	177
A — Continente Europeu .....	181
B — Continentes Asiático, Africano e Oceania .....	184
C — Continente Americano .....	186
D — Brasil .....	192

	<i>Página</i>
Bibliografia geral .....	224
Bibliografia do Brasil .....	228
CAPÍTULO IV — EPIDEMIOLOGIA .....	233
A — Considerações gerais .....	233
B — Incidência .....	234
C — Animais como fontes de infecção .....	235
D — Sexo .....	238
E — Idade .....	239
F — Variação sazonal .....	239
G — Profissão .....	240
Doença profissional .....	242
Profissionais de matadouro .....	250
Veterinários .....	251
Vacina B-19 .....	251
Infecções de laboratório .....	252
Legislação .....	257
H — Alimentos como fontes de infecção .....	261
I — Contágio .....	266
Bibliografia .....	269
CAPÍTULO V — IMPORTÂNCIA ECONÔMICA .....	277
Bibliografia .....	283
CAPÍTULO VI — PATOLOGIA .....	285
A — Alterações orgânicas .....	285
B — Patogenia .....	289
C — Patologia especial .....	293
Bibliografia .....	308
CAPÍTULO VII — CLÍNICA .....	311
A — Período de incubação .....	311
B — Implantação do germe no organismo .....	312
C — Sinais prodrômicos .....	313
D — Formas clínicas gerais .....	314
1 — Brucelose aguda .....	316
2 — Brucelose crônica .....	317
E — Sintomatologia .....	319
Febre .....	324
Suores .....	327
Estado geral .....	328
Dôres .....	328
Adinamia .....	329
Visceras .....	329
Gânglios .....	329
Outros sintomas .....	330

	<i>Página</i>
F — Evolução e prognóstico .....	332
Bibliografia .....	334
<b>CAPÍTULO VIII — FORMAS CLÍNICAS COM LOCALIZAÇÕES ESPECIAIS</b> .....	<b>339</b>
A — Aparelho digestivo .....	339
B — Aparelho respiratório .....	344
C — Aparelho circulatório. Órgãos homopoiéticos .....	360
Sangue .....	360
Hemorragias e púrpura .....	362
Medula óssea .....	364
Coração .....	365
Brucelose em doadores de sangue .....	366
Esplenite brucelosa .....	367
D — Aparelho uro-genital .....	367
Localizações genitais femininas e aborto humano .....	368
Localizações genitais masculinas .....	371
Orquite .....	372
Epidídimo .....	374
Próstata .....	374
Localizações nos rins e nas vias urinárias .....	375
E — Aparelho locomotor .....	375
Localizações ósseas .....	376
Localizações articulares .....	376
Espondilite brucelosa .....	384
Patologia .....	386
Sintomas .....	389
Diagnóstico .....	393
Tratamento .....	401
Localizações musculares .....	401
F — Sistema nervoso .....	402
a) Localizações nas meninges .....	404
b) Localizações encefálicas .....	406
c) Localizações medulares .....	408
d) Localizações nos nervos .....	409
G — Pele e anexos .....	411
H — Aparelho ocular .....	424
Bibliografia .....	431
<b>CAPÍTULO IX — BRUCELOSE NA INFÂNCIA</b> .....	<b>445</b>
Bibliografia .....	451
<b>CAPÍTULO X — DIAGNÓSTICO</b> .....	<b>453</b>
A — Introdução .....	453
B — Diagnóstico clínico .....	457
C — Diagnóstico de laboratório .....	459
1 — Isolamento de brucelas .....	460
1-A — Isolamento em meios de cultura .....	460

I — Sangue .....	461
Meios de cultura .....	462
Colheita do sangue .....	464
Colheita em circuito fechado .....	464
Vênula .....	464
Coletores especiais .....	466
Seringas .....	467
Anticoagulantes .....	468
Técnicas para o isolamento .....	468
Cultivo comum .....	468
Contaminações .....	469
Enriquecimento .....	470
Semeadura da camada leucocitária .....	471
Meio de fase dupla (Castañeda) .....	472
Eliminação do plasma .....	474
Semeadura dos coágulos sanguíneos .....	475
Cultivos em larga escala .....	475
Remoção dos antibióticos .....	477
Concentração com discos filtrantes .....	478
Identificação das culturas suspeitas .....	478
II — Gânglios linfáticos .....	479
III — Medula óssea .....	479
IV — Peças cirúrgicas e de necrópsia .....	480
V — Fezes .....	481
VI — Urina .....	483
VII — Suor .....	484
VIII — Outros líquidos orgânicos .....	484
1-B — Isolamento por meio de inoculações em animais .....	485
1-C — Isolamento por meio de inoculação em ovos em- brionados .....	488
2 — Prova de aglutinação .....	490
I — Prova lenta padronizada .....	491
II — Prova lenta com antígeno corado .....	496
III — Comentários sobre a prova aglutinante .....	497
a) Histórico .....	497
b) Amostra de brucela a empregar .....	497
c) Títulos a considerar positivos .....	499
d) Aparecimento das aglutininas .....	500
e) Fatores físico-químicos que influem na prova de aglutinação .....	500
f) Reação anamnésica específica .....	503
g) Reação anamnésica inespecífica .....	504
h) Reações inespecíficas não produzidas por agentes infecciosos .....	504
i) Reações cruzadas .....	506
j) Fenômenos de zona e de bloqueio. Reação de Coombs .....	508
k) Aglutinações rápidas em lâminas .....	513
l) Aglutinação com frações de brucelas, adsor- vidas em colódio ou em hemátias .....	515
m) Aglutinação e sensibilidade cutânea .....	515
n) Aglutinação e antibióticos .....	516
o) Provas de aglutinação com leite .....	519
3 — Prova intradérmica .....	519
4 — Prova opsonocitofágica .....	525

5 — Fixação de complemento .....	531
6 — Prova da perda do poder bactericida do sangue .....	533
7 — Provas de precipitação .....	534
8 — Provas de floculação .....	535
9 — Provas de reação à injeção de antígeno bruceloso ...	535
10 — Prova de fixação em superfície de papel de filtro ...	536
11 — Alterações hematológicas .....	537
12 — Valor das diversas provas de laboratório .....	538
Bibliografia .....	540
<b>CAPÍTULO XI — TRATAMENTO .....</b>	<b>553</b>
Agentes químicos .....	556
Agentes bioquímicos .....	556
Antibióticos .....	556
Cloromicetina .....	557
Aureomicina .....	558
Terramicina .....	561
Terramicina e estreptomycina combinadas .....	562
Eritromicina .....	562
Antibióticos em doses mínimas .....	563
Antibióticos e dessensibilização .....	564
Antibióticos e cortisona e ACTH .....	564
Agentes biológicos .....	566
Vacinas .....	566
Tratamento sintomático .....	569
Tratamento cirúrgico .....	570
Bibliografia .....	570
<b>CAPÍTULO XII — PROFILAXIA .....</b>	<b>575</b>
Bibliografia .....	580
<b>CAPÍTULO XIII — BRUCELOSE ANIMAL .....</b>	<b>581</b>
A — Espécies atingidas .....	581
B — Etiologia .....	584
C — Distribuição geográfica .....	584
D — Epidemiologia .....	589
E — Importância econômica .....	589
F — Patologia e clínica .....	596
G — Diagnóstico .....	601
H — Tratamento .....	611
I — Profilaxia .....	614
Plano de profilaxia da brucelose animal no Brasil .....	615
I — Educação dos fazendeiros, dos técnicos e das populações em geral .....	616
II — Levantamento do índice de incidência .....	618
III — Normas profiláticas .....	620
1) Criação higiênica .....	620
2) Sacrifício ou isolamento dos animais infectados .....	620
3) Vacinação .....	620
IV — Elaboração de leis especiais .....	627
V — Organizações a criar ou adaptar .....	628

---

Anexo I — A brucelose dos animais .....	629
Anexo II — Instruções para o combate à brucelose animal ....	637
Anexo III — Preparação da vacina de <i>Brucela abortus</i> amostra 19	641
Bibliografia .....	652
CAPÍTULO XIV — BIBLIOGRAFIA .....	659
A — Bibliografia brasileira (Ordem cronológica) .....	659
B — Bibliografia brasileira (Ordem alfabética dos autores) .....	683
C — Obras importantes sobre brucelose .....	711
1 — Monografias .....	711
2 — Artigos em tratados e periódicos .....	712
3 — Congressos, reuniões e relatórios .....	713
4 — Publicações do Comitê de Peritos em Brucelose, da WHO/FAO .....	714
WHO/Brucellosis Information Series .....	714
ÍNDICE GERAL .....	721

