

# BRUCELOSE

MARIA JOÃO ALEIXO, MARIA LEONOR FERREIRA, FRANCISCO ANTUNES  
Faculdade de Medicina de Lisboa. Lisboa.  
Serviço de Doenças Infecciosas. Hospital de Santa Maria. Lisboa.

## RESUMO

A brucelose é uma zoonose, descrita pela primeira vez em 1859 por Marston, em Malta. Tem sido também designada *Febre Mediterrânica*, *Febre de Malta* ou *Doença de Bang*. O agente infeccioso foi descoberto em 1886, quando David Bruce isolou a bactéria do baço de um doente falecido; tratava-se da *Brucella melitensis*. Posteriormente foram descritas mais cinco espécies: *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. neotomae* e *B. canis*<sup>1</sup>. Recentemente, em 1994, foi divulgado o isolamento de uma *Brucella* em mamíferos marinhos, eventualmente patogénica para o homem e designada, não oficialmente, por *B. maris*<sup>2</sup>. A brucelose continua a constituir um problema de saúde pública em países onde a infecção não foi erradicada do hospedeiro animal. A doença no homem, quando se manifesta, pode assumir quadros muito diversos já amplamente divulgados mas cuja fisiopatologia ainda não está totalmente esclarecida. Apesar do muito que se sabe actualmente sobre o agente, do ponto de vista da biologia molecular e do seu comportamento *in vitro*, várias dúvidas persistem acerca da sua actividade *in vivo*, particularmente ao infectar o homem. Faz-se aqui uma revisão dos aspectos mais actuais da brucelose, incidindo especialmente sobre a patogénese e referindo novos e potenciais métodos de diagnóstico, terapêutica e prevenção.

## SUMMARY

### Brucellosis – A review

Brucellosis is a zoonosis, reported for the first time in 1859 by Marston, in Malta. It has also been referred to as *Mediterranean Fever*, *Malta Fever* and *Bang's disease*. Its causative agent was isolated by David Bruce in 1886; this was *Brucella melitensis*: five different strains were later described: *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. neotomae* and *B. canis*<sup>1</sup>. Recently, in 1994, the isolation of *Brucella* was reported in marine mammals, eventually pathogenic to man and unofficially designated "*B. maris*"<sup>2</sup>. Human brucellosis is still a public health problem in countries where the infection has not been eradicated from the animal hosts. When manifested, human disease may assume different courses, widely known, but whose physiopathology is still not totally clear. Much is already known about the agent's molecular biology and *in vitro* behaviour, but, doubts persist about its *in vivo* activity, including in human infection. We review some aspects of brucellosis, focusing on the pathogenesis, and referring to new and potential diagnostic methods, therapy and prevention.

## EPIDEMIOLOGIA

A infecção humana está intimamente associada à infecção animal. Poucas espécies animais são resistentes à infecção brucélica, contudo, os ruminantes (ovinos, caprinos, bovinos) e o gado suíno representam o principal reservatório.

*B. melitensis* infecta preferencialmente o gado ovino e caprino, *B. abortus* o gado bovino e *B. suis* o gado suíno, embora esta relação não seja obrigatória. Com efeito, a infecção do gado bovino por *B. melitensis* está a expandir-se em alguns países do sul da Europa, Israel, Kuwait e Arábia Saudita uma vez que as vacinas, preparadas a partir de *B. abortus* não protegem eficazmente contra a *B. melitensis*. Pela mesma razão, em alguns países da América do Sul, como o Brasil e a Colômbia, uma estirpe de *B. suis* está também a infectar o gado bovino<sup>2</sup>.

No hospedeiro animal a brucelose é uma infecção crónica que persiste toda a vida. *Brucella* permanece nos seus órgãos reprodutores, causando aborto e esterilidade. O leite, a urina e os produtos da gravidez destes animais são altamente infecciosos.

A doença é transmitida ao homem pelo contacto directo com animais infectados ou com os seus produtos, pelo consumo de lacticínios não pasteurizados ou de carne mal cozinhada ou ainda, mais raramente, por via inalatória. A transmissão inter-humana, também descrita, não tem significado epidemiológico.

A dificuldade de erradicar *Brucella* dos seus hospedeiros naturais é responsável pela manutenção da doença.

A incidência real da brucelose na maioria das regiões endémicas é desconhecida uma vez que a doença é certamente sub-notificada. Tem uma distribuição geográfica limitada, mas mantém-se um problema de saúde pública na Bacia Mediterrânica (principalmente na Grécia, Portugal, Espanha, Itália e países do Norte de África), na Índia e Oeste Asiático, na Península Arábica e nalgumas regiões da América Central e do Sul<sup>2</sup>.

Nos países mais desenvolvidos é uma doença profissional afectando especialmente alguns grupos, incluindo pastores/ criadores de gado, trabalhadores de matadouros, veterinários, pessoal de laboratório.

## AGENTE

O microorganismo é um pequeno cocobacilo Gram-negativo, intracelular facultativo, do género *Brucella*. Tradicionalmente consideravam-se seis espécies diferentes de *Brucella*, quatro das quais patogénicas para o homem, nomeadamente a *B. melitensis*, a *B. abortus*, a *B. suis* e a *B. canis*; cujos hospedeiros naturais habituais

são, respectivamente, os ovinos, os bovinos, os suínos e os canídeos.

Recentemente, estudos de hibridização do ADN demonstraram que o género *Brucella* é monoespecífico e as referidas espécies são, na realidade, biovars - foram reconhecidos três biovars para a designada *B. melitensis*, sete para a *B. abortus* e cinco para a *B. suis*, com algumas variantes entre eles. A análise com endonucleases de restrição apoia, no entanto, a diferenciação das espécies tradicionais, baseada na evidência de polimorfismo em alguns genes. Através da sequenciação do ARNr foi possível definir relações filogenéticas da *Brucella* spp., que é classificada no grupo  $\alpha_2$  das  $\alpha$ -Proteobacteriae<sup>1</sup>.

Alguns componentes antigénicos foram caracterizados. O antigénio principal da parede celular é o lipopolissacárido (LPS), que domina a resposta humoral por anticorpos. Nas estirpes lisas, mais virulentas, o LPS consiste num lípido A, ácidos gordos, um núcleo polisacárido e uma cadeia O que determina a conformação do epítipo, permitindo classificar a estirpe em A ou M dominante. A presença desta cadeia O é responsável pela reactividade antigénica cruzada com o LPS de algumas enterobactérias, nomeadamente estirpes de *Escherichia*, *Salmonella* e *Yersinia enterocolitica*, e ainda com o *Vibrio cholerae*. Nas estirpes rugosas de *Brucella*, o LPS é semelhante mas não possui a cadeia O ou tem só alguns dos seus resíduos.

Outros antigénios proteicos foram caracterizados, na membrana e no citoplasma, alguns dos quais são reconhecidos pelo sistema imunitário durante a infecção e serão potencialmente úteis em testes de diagnóstico. De facto, testes serológicos utilizando estas proteínas podem ser mais específicos para *Brucella* spp. do que aqueles habitualmente usados (com resposta humoral induzida pelo LPS), uma vez que não manifestam reacção cruzada com antigénios de outras bactérias<sup>2-9</sup>. Algumas destas proteínas induzem elevada reactividade IgG especificamente em doentes com infecção activa, sugerindo uma relação directa entre a virulência bacteriana e a sua imunogenicidade<sup>4,6</sup>. O grande problema com este tipo de testes é terem baixa sensibilidade quando comparados com os testes preparados com LPS.

As proteínas ribossómicas induzem respostas humoral e celular e conferem protecção contra o patógeno. Por exemplo, as proteínas L7/L12 são importantes na estimulação da resposta imune celular; elas desencadeiam hipersensibilidade retardada e estimulam respostas protectoras contra *Brucella*<sup>10</sup>.

## PATOGÉNESE

A partir da porta de entrada, cutânea, mucosa ou digestiva, a bactéria é captada por células imunologicamente competentes e é transportada para os gânglios linfáticos locais, onde se replica. Posteriormente, primeiro por via linfática e depois por via hematogénea, vai-se localizar em todos os órgãos, incluindo os do sistema reticuloendotelial (fígado, baço, gânglios linfáticos, medula óssea)<sup>1</sup>.

*Brucella* é um microrganismo intracelular facultativo, que infecta tanto células fagocíticas como não fagocíticas. Dentro das não fagocíticas tende a localizar-se no retículo endoplasmático rugoso. Nas células fagocíticas polimorfonucleares e mononucleares, sobrevive dentro de fagosomas e evade-se à destruição por uma série de mecanismos ainda incompletamente esclarecidos. A invasão das células fagocitárias é fundamental na patogénese da doença porque o organismo pode permanecer no seu interior por muito tempo, replicar com as células e ser causa de infecção persistente ou recidivante.

## IMUNOPATOGÉNESE

Nos primeiros dias após a infecção há uma activação inespecífica do sistema imunitário, o que eventualmente é determinante na limitação ou disseminação do processo. Monócitos são recrutados da corrente sanguínea, destroem os organismos e produzem citocinas para controlar a infecção. Produtos microbianos induzem a produção de TNF e de IL-12 pelos fagócitos mononucleares e, segundo alguns autores, a subsequente activação das células NK com produção de IFN- $\gamma$ <sup>11,12</sup>.

A fase bactericida da brucelose coincide com o início da imunidade celular. Nesta segunda fase a imunidade é específica de antigénio e culmina na erradicação do organismo ou na cessação da infecção activa com estabelecimento de latência. De facto, a eliminação da *Brucella* depende da activação dos macrófagos e requer o desenvolvimento de uma resposta celular de tipo Th1 aos antigénios proteicos. Experiências com ratos infectados ou com células T humanas confirmaram a produção de IFN- $\gamma$  e IL-12, um perfil característico da resposta Th1, mediadora por um lado da resistência celular adquirida (pela activação específica das células fagocíticas e implemento da sua actividade bactericida) e por outro da hipersensibilidade retardada (considerada importante na formação dos granulomas tecidulares, limitando dessa forma a disseminação do organismo).

Tanto as células T CD4+ como CD8+ (estimuladas também pela IL-12), produzem IFN- $\gamma$ <sup>13,14</sup>. Vários estudos *in vitro* envolvendo a estimulação de células T com

alguns componentes antigénicos da *Brucella* - proteínas solúveis, proteínas recombinantes, estirpes inactivadas de *Brucella* - demonstraram uma resposta proliferativa das células T CD4+ e aumento da expressão de ARNm e/ou da produção de IL-12 e IFN- $\gamma$ <sup>15,16</sup>. Outras citocinas produzidas por ratos infectados incluem IL-1, IL-6 e GM-CSF, promotoras da imunidade celular<sup>16</sup>. A IL-10 é produzida nos primeiros dias de infecção e limita a citotoxicidade macrófágica, mas aparentemente não afecta a produção de IFN- $\gamma$ , que é máxima nesse período e fundamental para a aquisição de resistência contra a infecção pela *Brucella*<sup>17-19</sup>.

As células T CD8+ controlam e mediam a protecção contra a infecção pela *Brucella abortus* em ratos<sup>20,21</sup>. Uma experiência com células murinas, bovinas e de guinea pigs demonstrou que as células T CD8+ são importantes para a eliminação da *Brucella* após o pico da infecção e podem lisar macrófagos cronicamente infectados; os autores sugerem que, em alguns ratos susceptíveis, estes macrófagos podem falhar na sua acção como alvo (células apresentadoras de antigénio) ou podem inibir as células T, resultando na existência de macrófagos persistentemente infectados em vez do desenvolvimento de células T *Brucella*-específicas<sup>22</sup>.

Apesar da clara necessidade de uma resposta celular Th1 na imunidade protectora na brucelose, alguns estudos sobre a infecção aguda activa em humanos sugerem a possibilidade de existência de um bloqueio transitório do sistema imunitário nestes doentes, incluindo uma diminuição da proliferação dos linfócitos T e da produção de IFN- $\gamma$ , e a inibição da actividade das células NK<sup>23-25</sup>.

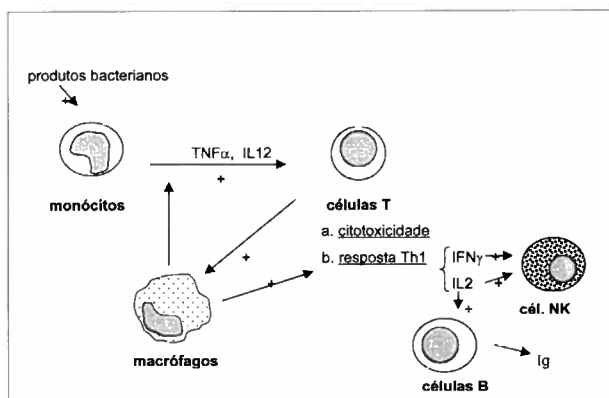
Já foi também referida a expansão selectiva de células T  $\gamma\delta$  durante a infecção aguda por *Brucella melitensis* em crianças<sup>26</sup>.

Quanto à resposta dos macrófagos contra a infecção, há diferenças naturais entre as *Brucella*. O LPS liso está certamente envolvido na resistência, uma vez que as estirpes lisas sobrevivem mais eficazmente que as rugosas; é um indutor de IL-12 e um potente mitogénio para as células esplénicas, o que parece ser importante na indução da imunidade celular. Dentro dos macrófagos, a *Brucella* induz a inibição da fusão do fagolisossoma, da desgranulação e activação do sistema háldio-mieloperoxidase, da produção de TNF- $\alpha$ , e, eventualmente, da produção de superóxido-dismutase do Cu-Zn<sup>27</sup>. Os mutantes *purE* não produzem estes inibidores, razão pela qual são substancialmente atenuados. A sobrevivência dentro dos macrófagos associa-se à síntese de várias outras proteínas, algumas das quais parecem ser especifica-

mente induzidas pelos fagócitos (*proteínas de stress*)<sup>28,29</sup>.

Um estudo sobre a função das células fagocíticas na brucelose humana activa revelou que a adesividade e a quimiocinese dos leucócitos polimorfonucleares estão deprimidas na presença de bacteriémia e que os doentes com maior atraso no diagnóstico e com formas focalizadas da doença têm mais alterações na sua função<sup>30</sup>.

No que respeita à imunidade humoral por anticorpos, experiências com transferência passiva de imunoglobulinas indicam que estas podem ser responsáveis por alguma protecção contra a infecção, mas esta protecção é transitória e incompleta. De acordo com alguns estudos em ratos, a IgG3 está particularmente elevada durante a doença activa e, juntamente com as IgM, é importante para a opsonização da *Brucella* e posterior fagocitose<sup>31</sup>. Eventualmente, os anticorpos terão um papel mais relevante na protecção contra a reinfeção.



## MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Após um período de incubação de duas a oito semanas, cerca de metade dos casos manifestam doença aguda<sup>1</sup>. Os restantes seguem um curso insidioso, com alguns períodos de exacerbação.

Os sintomas na doença aguda são inespecíficos e variados: febre (geralmente com acentuação vespertina) seguida de sudação, arrepios, cefaleias, mal-estar, astenia, anorexia, emagrecimento, artralgias, mialgias, lombalgias. Os sinais podem incluir febre, hepatomegalia, esplenomegalia e adenomegalias (mais frequentes na criança). Nos casos de evolução subaguda, a febre tende a manifestar um carácter ondulante e é frequente a referência a hipersudorese nocturna com cheiro característico (*palha molhada*)<sup>32</sup>.

Como infecção sistémica, a brucelose pode envolver qualquer órgão e alguns doentes manifestam queixas específicas de órgão ou sistema. Estas formas *focalizadas* podem manifestar-se na fase aguda da doença ou

mais tardiamente. Cerca de 3/4 das formas focalizadas observam-se durante os seis primeiros meses após a infecção.

Todas as localizações são possíveis, mas o envolvimento osteoarticular é o mais frequente (cerca de 75% de todas as focalizações). O eixo raquidiano é particularmente atingido, sobretudo nos grupos etários mais avançados, sendo afectada principalmente a coluna lombar (3/4 dos casos), seguida dos segmentos dorsal (cerca de 20%) e cervical (10%); a infecção nestas situações manifesta-se por dor, contractura muscular e impotência funcional, podendo não ser evidente uma síndrome febril; na fase inicial, a radiografia da coluna pode revelar apenas rectificação de um grupo de vértebras, diminuição do disco intervertebral e, mais tardiamente, erosão de um dos planaltos (habitualmente a aresta antero-superior da vértebra inferior -  *sinal de Pedro Pons*) seguida da formação de um geode; a TAC e a RMN dão melhor definição do processo infeccioso, revelando lesões líticas a par de fenómenos reparadores e, nalguns casos, a presença de abscesso epidural ou paravertebral. A sacroilíaca é outra das articulações mais atingidas, principalmente nos grupos etários mais jovens; costuma ser unilateral e manifesta-se por dor local exacerbada pelo exame objectivo; a radiografia pode mostrar alterações da interlinha articular e a TAC revela irregularidades e má definição das superfícies articulares. As grandes e, sobretudo, as pequenas articulações dos membros raramente são envolvidas; quando o são, pode haver atingimento da sinovial ou das bolsas por extensão do processo; nestes casos é comum o isolamento do agente no local e o título de anticorpos intra-articular pode ser superior ao do sangue<sup>32,33</sup>.

A orquiepididimite unilateral é também frequente, sendo mais vezes observada na fase aguda da doença.

O envolvimento do sistema nervoso central é raro (4-5%). A meningite e a meningoencefalite são as formas de apresentação mais frequentes, seguidas da radiculite. A sintomatologia é proteiforme, variando entre alterações do humor ou do comportamento, ausências, alterações da força muscular ou da sensibilidade, muitas vezes apenas detectadas por um exame neurológico cuidadoso e confirmadas por exames complementares como a análise do liquor, o electroencefalograma ou o electromiograma. Os sinais meníngeos são geralmente discretos ou inexistentes. Quando há envolvimento meníngeo, o exame do líquido pode revelar pleocitose à custa de linfócitos, aumento moderado de proteínas e glucose normal ou baixa; a imunoelectroforese pode revelar síntese intratecal de imunoglobulinas, particularmente de IgG;

*Brucella* pode ser identificada em alguns casos e a pesquisa de anticorpos pode ser positiva<sup>1,34,35</sup>.

O envolvimento cardiovascular é raro mas contribui para a maioria das mortes atribuídas à brucelose (cerca de 2% dos casos).

Com frequência, a doença recidiva após terapêutica aparentemente adequada, mas um segundo curso de antibióticos é geralmente eficaz. Em alguns doentes, contudo, há persistência das manifestações clínicas apesar da terapêutica<sup>36</sup>, situação que se deve habitualmente à persistência de um foco de infecção; casos menos frequentes mantêm-se sintomáticos, com elevados títulos de IgG e sem qualquer foco de infecção evidente. Desconhece-se se estas situações implicam a existência de infecção persistente dos macrófagos ou se resultam de imunorreactividade post-infecção na ausência de agente.

Um pequeno número de doentes mantém queixas não específicas, com fadiga, mal-estar e depressão, sem evidência objectiva de infecção e sem títulos de IgG elevados no soro. Manifestam um quadro clínico semelhante à *síndrome da fadiga crónica*<sup>1</sup>.

A infecção subclínica está documentada - presença de títulos elevados de anticorpos (com IgG) sem manifestações clínicas - e é particularmente relevante entre populações rurais e alguns grupos profissionais (trabalhadores em matadouros, veterinários, etc.).

## DIAGNÓSTICO

É fundamental a obtenção de uma história epidemiológica detalhada, uma vez que as manifestações clínicas da brucelose são inespecíficas. Os exames laboratoriais de rotina podem ser normais; o número de leucócitos pode estar normal ou deprimido, por vezes com linfocitose relativa; pode existir anemia ligeira e/ou trombocitopenia; a velocidade de sedimentação é variável e tem pouco valor diagnóstico; uma proteína C reactiva positiva pode estar associada a um curso desfavorável<sup>37</sup>; pode haver elevação discreta das enzimas hepáticas.

Uma hemocultura positiva dá o diagnóstico, mas a taxa de isolamento varia muito (15-70%), dependendo da duração da infecção e dos métodos usados. As mieloculturas poderão ter uma rentabilidade diagnóstica superior às culturas de sangue periférico. Alguns autores verificaram uma percentagem de isolamentos manifestamente maior com a realização concomitante de culturas de sangue periférico e medular<sup>38</sup>. *Brucella* desenvolve-se em quase todos os meios de cultura habituais, embora os de *albimi-Brucella-agar* e *trypticase-soy* sejam os mais favoráveis e permitam um reconhecimento mais rápido. Dos métodos utilizados, o de lise-concentração

tem os melhores resultados em menos tempo e os de incubação-deteção automáticos (*Bactec*, *DuPont Isolator*) são eficazes mas exigem pelo menos 30 dias. As primeiras colónias são habitualmente lisas (colónias S) e em meio líquido ou por sucessivas passagens obtêm-se colónias R<sup>32,39-41</sup>.

Quando um microorganismo é isolado, a identificação presuntiva baseia-se em propriedades morfológicas, culturais e serológicas. A confirmação requer estudos de metabolismo oxidativo *phage-typing*, ou genotipagem (alguns testes bioquímicos comerciais não contêm o perfil da *Brucella* e identificam-na erradamente como *Moraxella* spp.)<sup>1</sup>.

Testes serológicos para deteção de anticorpos são frequentemente o único auxiliar laboratorial no diagnóstico da brucelose.

O teste de aglutinação é o mais simples e o mais usado. O tratamento prévio do soro com 2-mercaptoetanol ou dihidrotreitól permite a diferenciação das imunoglobulinas, visto que inibe a aglutinação das IgM mas não alteram as IgG. A maioria dos casos com doença activa tem títulos  $\geq 1:160$ , com presença de IgG. Este teste é preparado a partir de *Brucella abortus* 1119 e só reage com outras estirpes lisas de *Brucella* - *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* - não detectando a *B. canis*<sup>1</sup>.

Contudo, os métodos enzimáticos de deteção (ELISA) têm provado ser mais sensíveis que os de aglutinação, com idêntica especificidade, razão pela qual têm vindo a substituir os outros métodos<sup>42,43</sup>.

A resposta humoral por anticorpos consiste num aumento inicial de IgM (durante 3-4 semanas), seguido do crescente aumento da síntese de IgG e IgA (com início 7-14 dias após a infecção). Todas as imunoglobulinas se elevam depois, particularmente as IgG. Durante a recuperação, os valores de imunoglobulinas declinam. A persistência de IgG é geralmente considerada um sinal de infecção mantida, o que é controverso, mas uma segunda elevação dos títulos de IgG ou de IgA pressagia recidiva da doença<sup>1,44-46</sup>. Os anticorpos IgG e IgA parecem ser os indicadores mais úteis de infecção activa<sup>2</sup>.

A reacção em cadeia da polimerase (PCR) tem tido resultados promissores, podendo ser útil na tipagem da *Brucella* e para diagnóstico. É necessária ainda padronização do método, bem como maior avaliação na doença não aguda<sup>5,47-49</sup>.

Os métodos de deteção de antigénios são potencialmente úteis, mas a padronização dos antigénios é problemática; a sua combinação com a PCR (imuno-PCR) tem um potencial considerável, a necessitar avaliação. Técnicas de *Western-blot* contra proteínas citoplasmáti-

cas podem ser úteis como reforço dos testes serológicos, para diferenciar as formas activas de infecção das inactivas 2,4,6,8,9,50.

## TRATAMENTO

*In vitro*, *Brucella* é sensível a vários antibióticos: tetraciclina, rifampicina, aminoglicosídeos, trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ), quinolonas, entre outros.

A escolha do regime e a duração da terapêutica a adotar vão depender da existência de focalizações ou de contra-indicação particular para o uso de determinado antibiótico. O objectivo da terapêutica antimicrobiana é eliminar os sintomas e prevenir as complicações e as recidivas.

Na fase aguda da doença, sem evidência de focalização, a primeira opção deve recair sobre doxiciclina 100mg oral de 12/12 horas durante 45 dias + estreptomomicina 1 g intramuscular (IM) por dia nos primeiros 14 dias. Este esquema associou-se a menos recidivas (5-7%) do que a terapêutica com doxiciclina (mesma dose) e rifampicina oral (600-900 mg/ dia), durante seis semanas, recomendada pela OMS desde 1986<sup>51-53</sup>.

Contudo, a associação terapêutica preconizada pela OMS tem tido bons resultados nas focalizações osteoarticulares, nomeadamente na espondilodiscite e na sacroileíte, que exigem uma maior duração de tratamento, o mesmo se verificando na neurobrucelose.

A doença focalizada poderá requerer cirurgia coadjuvante, particularmente em casos de envolvimento osteoarticular com formação de abscesso e resposta insuficiente à terapêutica médica. Na endocardite brucélica é preferível a terapêutica combinada com tetraciclina, aminoglicosídeo e rifampicina, sendo geralmente necessária a intervenção cirúrgica<sup>54</sup>.

Crianças com menos de oito anos devem ser medicadas com rifampicina e TMP-SMZ durante 45 dias, ou rifampicina durante 45 dias associada a gentamicina nos primeiros cinco dias.

As mulheres grávidas podem ser tratadas com rifampicina e TMP-SMZ durante quatro semanas, ou só com rifampicina (900 mg/ dia) por seis semanas<sup>1,51</sup>.

As tetraciclina devem ser evitadas nas crianças, mulheres grávidas e a amamentar.

Em investigação estão preparações liposómicas de aminoglicosídeos<sup>55</sup>.

Um ensaio para avaliar a imunoterapia com levamisol ou com IFN- $\alpha$  2b na brucelose persistente foi publicado; conseguiram-se resultados promissores com o IFN- $\alpha$  2b, mas são ainda necessários mais estudos<sup>56</sup>.

## PREVENÇÃO

Várias vacinas contra a brucelose têm sido estudadas, mas nenhuma se revelou ainda suficientemente eficaz ou segura para ser usada no homem. Por exemplo, a *B. abortus* S19 atenuada (usada na imunização de gado bovino) e a *B. melitensis* Rev.1 (usada em gado ovino e caprino) são virulentas para o homem; uma variante da primeira, *B. abortus* S19-BA foi usada na URSS em alguns grupos profissionais; a *B. abortus* 104M, outra estirpe atenuada, é administrada na China a grupos profissionais seleccionados, por escarificação da pele ou em aerosol.

Uma fracção peptidoglicano de *Brucella* foi também utilizada como vacina, mas a sua eficácia é questionável. Um complexo proteína-polissacárido derivado do LPS liso foi considerado tão protector quanto a vacina de *B. abortus* S19-BA, mas as vacinas vivas induzem mais eficazmente a resistência celular adquirida<sup>15</sup>.

A estirpe RB51 de *B. abortus* confere protecção contra a *B. abortus*, a *B. melitensis* e a *B. ovis*, em ratos<sup>57</sup>. Contudo, é improvável que se torne útil para administração humana.

Mutantes da cadeia O de *B. melitensis* ou de *B. suis* podem ser promissores, mas ainda mais promissor é o desenvolvimento de derivados metabólicos das estirpes virulentas, tais como os mutantes *purE*. As vacinas subunitárias são menos eficazes, excepto se incorporadas a um sistema de distribuição ou adjuvante, sendo capazes de desencadear um resposta TH1.

Proteínas de fusão contendo proteínas ribosómicas L7/L12 induzem respostas mediadas por células e por anticorpos, e ainda protecção contra a estimulação em ratos; poderão ter futuro como componentes de vacinas humanas<sup>58,59</sup>.

A prevenção da brucelose, em última análise, continua dependente da erradicação da doença dos hospedeiros animais. Uma vez que a vacinação dos mesmos e a realização de testes serológicos não têm sido totalmente eficazes na redução da incidência da doença, o abate de animais infectados é necessário<sup>51</sup>.

Por outro lado, a adopção de medidas que limitem a infecção humana pela exposição ocupacional e a pasteurização do leite e seus derivados são fundamentais.

## BIBLIOGRAFIA

1. YOUNG EJ: *Brucella* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, 1995; 2053-60.
2. CORBEL MJ: National Institute for Biological Standards and Control. Brucellosis: an Overview. Emerging Infectious Diseases 1997; 3 (2): 213-21.
3. CLOECKAERT A, VERGER JM, GRAYON M, VIZCAINO N: Molecular and immunological characterization of the major outer membrane proteins of *Brucella*. FEMS Microbiol Lett (Netherlands) 1996; 145 (1): 1-8.

4. GOLDBAUM FA, LEONI J, WALLACH JC, FOSSATI CA: Characterization of an 18-Kilodalton *Brucella* cytoplasmic protein which appears to be a serological marker of active infection of both human and bovine brucellosis. *J Clin Microbiol* 1993; 31 (8): 2141-45.
5. CLOECKAERT A, DEBBARH HS, VIZCAINO N, SAMAN E, DUBRAY G, ZYGMUNT MS: Cloning, nucleotide sequence, and expression of the *Brucella melitensis* bp26 gene coding for a protein immunogenic in infected sheep. *FEMS Microbiol Lett* 1996; 140 (2-3): 139-44.
6. ROSSETTI OL, ARESE AI, BOSCHIROLI ML, CRAVERO SL: Cloning of *Brucella abortus* gene and characterization of expressed 26-kilodalton periplasmic protein: potential use for diagnosis. *J Clin Microbiol* 1996; 34 (1): 165-9.
7. HEMMEN F, WEYNANTS V, SCARCEZ T, LETESSON JJ, SAMAN E: Cloning and sequence analysis of a newly identified *Brucella abortus* gene and serological evaluation of the 17-kilodalton antigen that it encodes. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2 (3): 263-7.
8. CLOECKAERT A, DEBBARH HS, ZYGMUNT MS, DUBRAY G: Production and characterization of monoclonal antibodies to *Brucella melitensis* cytosoluble proteins that are able to differentiate antibody response of infected sheep from Rev.1 vaccinated sheep. *J Med Microbiol* 1996; 45 (3): 206-13.
9. LINDLER LE, HADFIELD TL, TALL BD, SNELLINGS NJ, RUBIN FA, VAN DE VERG LL, HOOVER D, WARREN RL: Cloning of a *Brucella melitensis* group 3 antigen gene encoding Omp28, a protein recognized by the humoral immune response during human brucellosis. *Infect Immun* 1996; 64 (7): 2490-9.
10. BACHRACH G, BANAI M, BARDENSTEIN S, HOIDA G, GENIZI A, BERCOVIER H: *Brucella* ribosomal protein L7/L12 is a major component in the antigenicity of brucellin INRA for delayed-type hypersensitivity in *Brucella*-sensitized Guinea pigs. *Infect Immun* 1994; 62 (12): 5361-6.
11. LOCKSLEY RM, WILSON CB: Cell-mediated immunity and its role in host defense. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1995; 102-49.
12. ZHAN Y, LIU Z, CHEERS C: Tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 contribute to resistance to the intracellular bacterium *Brucella abortus* by different mechanisms. *Infect Immun* 1996; 64 (7): 2782-6.
13. ZAITSEVA MB, GOLDING H, BETTS M, YAMAUCHI A, BLOOM ET, BUTLER LE, STEVAN L, GOLDING B: Human peripheral blood CD4+ and CD8+ T cells express Th1-like cytokine mRNA and proteins following in vitro stimulation with heat-inactivated *Brucella abortus*. *Infect Immun* 1995; 63 (7): 2720-8.
14. ZHAN Y, YANG J, CHEERS C: Cytokine response of T cell subsets from *Brucella abortus* infected mice to soluble *Brucella* proteins. *Infect Immun* 1993; 61 (7): 2841-7.
15. OLIVEIRA SC, HARMS JS, BANAI M, SPLITTER GA: Recombinant *Brucella abortus* proteins that induce proliferation and gamma-interferon secretion by CD4+ T cells from *Brucella*-vaccinated mice and delayed-type hypersensitivity in sensitized guinea pigs. *Cell Immunol* 1996; 172 (2): 262-8.
16. ZHAN Y, KELSO A, CHEERS C et al: Cytokine production in the murine response to *Brucella* infection or immunization with antigenic extracts. *Immunology* 1993; 80: 458-64.
17. FERNANDEZ-LAGO L, MONTE M, CHORDI A: Endogenous gamma interferon and interleukin-10 in *Brucella abortus* 2308 infection in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1996; 15 (2-3): 109-14.
18. ZHAN Y, CHEERS C: Endogenous gamma interferon mediates resistance to *Brucella abortus* infection. *Infect Immun* 1993; 61 (11): 4899-901.
19. JIANG X, BALDWIN CL: Effects of cytokines on intracellular growth of *Brucella abortus*. *Infect Immun* 1993; 61 (1): 124-34.
20. OLIVEIRA SC, SPLITTER GA.: CD8+ type 1 CD44hi CD45 RB1o T lymphocytes control intracellular *Brucella abortus* infection as demonstrated in major histocompatibility complex class I and class II-deficient mice. *Eur J Immunol* 1995; 25 (9): 2551-7.
21. SPLITTER G, OLIVEIRA S, CAREY M, MILLER C, KO J, COVERT J: T lymphocyte mediated protection against facultative intracellular bacteria. *Vet Immunopathol* 1996; 54 (1-4): 309-19.
22. BALDWIN CL, WINTER AJ: Macrophages and *Brucella*. *Immunol Ser* 1994; 60: 363-80.
23. RODRIGUEZ-ZAPATA M, ALVAREZ-MON M, SALMERON I, PRIETO A, MANZANO L, SALMERON OJ, CARBALLIDO J: Diminished T lymphocyte proliferative response to polyclonal mitogens in acute brucellosis patients. *Infection* 1996; 24 (2): 115-20.
24. RODRIGUEZ-ZAPATA M, SALMERON I, MANZANO L, SALMERON OJ, PRIETO A, ALVAREZ-MON M: Defective interferon-gamma production by T lymphocytes from patients with acute brucellosis. *Eur J Clin Invest* 1996; 26 (2): 136-40.
25. SALMERON I, RODRIGUEZ-ZAPATA M, SALMERON O, MANZANO L, VAQUER S, ALVAREZ-MON M: Impaired activity of Natural Killer cells in patients with acute brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 764-70.
26. BERTOTTO A, GERLI R, SPINOZZI F, MUSCAT C, SCALISE F, CASTELLUCI G, SPOSITO M, CANDIO F, VACCARO R: Lymphocytes bearing the gd T cell receptor in acute *Brucella melitensis* infection. *Eur J Immunol* 1993; 23: 1177-80.
27. LIAUTARD JP, GROSS A, DORNAND J, KOHLER S: Interactions between professional phagocytes and *Brucella* spp. *Microbiologia* 1996; 12 (2): 197-206.
28. RAFIE-KOLPIN M, ESSENBERG RC: Wyckoff JH 3rd. Identification and comparison of macrophage-induced proteins and proteins induced under various stress conditions in *Brucella abortus*. *Infect Immun* 1996; 64 (12): 5274-83.
29. ELZER PH, PHILLIPS RW, ROBERTSON GT, ROOP RM: The HtrA stress response protease contributes to resistance of *Brucella abortus* to killing by murine phagocytes. *Infect Immun* 1996; 64 (11): 4838-41.
30. OCON P, REGUERA JM, MORATA P, JUAREZ C, ALONSO A, COLMENERO JD: Phagocytic cell function in active brucellosis. *Infect Immun* 1994; 62 (3): 910-14.
31. ELZER PH, JACOBSON RH, JONES SM, NIELSEN KH, DOUGLAS JT, WINTER AJ: Antibody-mediated protection against *Brucella abortus* in BALB/c mice at successive periods after infection: variation between virulent strain 2308 and attenuated vaccine strain 19. *Immunology* 1994; 82 (4): 651-8.
32. JANBON F: Brucellose. *Encycl Méd-Chir (Paris-France), Maladies Infectieuses*, 1993; 8- 038-A-10.
33. REIS P, COELHO P, LEANDRO MJ, FERREIRA ML, AGUAS MJ, BERNARDO L, COSTA ML, CABRAL T, PROENÇA AP, VIANA QUEIROZ M: Manifestações Osteo-articulares na Brucelose Humana: estudo prospectivo em 60 doentes. *Rev Port Reumatologia* 1994; 45:1057-75.
34. COLMENERO JD, REGUERA JM, MARTOS F, SANCHEZ-DE-MORA D, DELGADO M, CAUSSE M, MARTIN-FARFAN A, JUAREZ C: Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases. *Medicine-Baltimore* 1996; 75 (4):195-211.
35. FERREIRA ML, BERNARDO L, BOTAS J, LOBO O: O Líquido Cefalorraquidiano na Brucelose. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1989; 12 (3): 163-7.
36. ARIZA J, CORREDOIRA J, PALLARES R, VILADRICH PF, RUIF G, PUJOL M, GUDIOL F: Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. *Clin Infect Dis* 1995; 20 (5): 1241-9.
37. NAVARRO JM, MENDOZA J, LEIVA J, RODRIGUEZ-CONTRERAS R, DE-LA-ROSA M: C-reactive protein as a prognostic indicator in acute brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990; 13 (3): 269-70.
38. DOROANA M, FERREIRA L, TAVARES L, FELICIANO H, BOTAS J: Brucelose: avaliação dos métodos de diagnóstico. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1989; 12 (1): 35-9.
39. GAVIRIA-RUIZ MM, CARDONA-CASTRO NM: Evaluation and comparison of different blood culture techniques for bacteriological isolation of *Salmonella typhi* and *Brucella abortus*. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (4): 868-71.

40. NAVAS E, GUERRERO A, COBO J, LOZA E: Faster isolation of *Brucella* spp. from blood by Isolator compared with BACTEC NR. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993; 16 (1): 79-81.
41. BAUM M, ZAMIR O, BERGMAN-RIOS R, KATZ E, BEIDER Z, COHEN A, BANAI M: Comparative evaluation of microagglutination test and serum agglutination test as supplementary diagnostic methods for brucellosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (8): 2166-70.
42. DIAZ-APARICIO E, MARIN C, ALONSO-URMENETA B, ARAGON V, PEREZ-ORTIZ S, PARDO M, BLASCO JM, DIAZ R, MORIYON I: Evaluation of serological tests for diagnosis of *Brucella melitensis* infection of goats. *J Clin Microbiol* 1994; 32 (5): 1159-65.
43. ARAJ GF, LULU AR, MUSTAFA MY, KHATEEB MI: Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. *J Hyg Lond* 1986; 97 (3): 457-69.
44. ARIZA J, PELLICER T, PALLARES R, FOZ A, GUDIOL F: Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992; 14 (1): 131-40.
45. BALDI PC, MIGUEL SE, FOSSATI CA, WALLACH JC: Serological follow-up of human brucellosis by measuring IgG antibodies to lipopolysaccharide and cytoplasmic proteins of *Brucella* species. *Clin Infect Dis* 1996; 22 (3): 446-55.
46. MARTIN-MORENO S, GUINEA-ESQUERDO L, CARRERO-GONZALEZ P, VISEDO-ORDEN R, GARCIA-CRBAJOSA S, CALVO-DEL-OLMO T, REVERTE-CEJUDO D: Brucellosis after treatment: the diagnosis of recurrences. *Med Clin Barc* 1992; 99 (1): 13-6.
47. ROMERO C, GAMAZO C, PARDO M, LOPEZ-GONI I: Specific detection of *Brucella* DNA by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (3): 615-7.
48. MATAR GM, KHNEISSER IA, ABDELNOOR AM: Rapid laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence on the 31-kilodalton *Brucella* antigen DNA. *J Clin Microbiol* 1996; 34 (2): 477-8.
49. CLOECKAERT A, VERGER JM, GRAYON M, GREPINET O: Polymorphism at the dnaK locus of *Brucella* species and identification of a *Brucella melitensis* species-specific marker. *J Med Microbiol* 1996; 45 (3): 200-5.
50. LEIVA-LEON J, DE-LA-ROSA M, PLATA J, MARTINEZ MJ, JIMENEZ-ALONSO J: An immunoblotting study of serologic response in patients with acute brucellosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1991; 14 (6): 515-8.
51. SOLERA J, MARTINEZ-ALFARO E, ESPINOSA A: Recognition and Optimum Treatment of Brucellosis. *Drugs* 1997; 53 (2): 245-56.
52. SOLERA J, ESPINOSA A, MARTINEZ-ALFARO E, SANCHEZ L, GEIJO P, NAVARRO E, ESCRIBANO J, FERNANDEZ JA: Treatment of human brucellosis with doxycycline and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41 (1): 80-4.
53. SOLERA J, ESPINOSA A, GEIJO P, MARTINEZ-ALFARO E, SAEZ L, SEPULVEDA MA, RUIZ-RIBO MD: Treatment of human brucellosis with netilmicin and doxycycline. *Clin Infect Dis* 1996; 22 (3): 441-5.
54. COHEN N, GOLIK A, ALON I, ZAIDENSTEIN R, DISHI V, KARPUGH J, ZYSSMAN I, MODAI D: Conservative treatment for *Brucella* endocarditis. *Clin Cardiol* 1997; 20 (3): 291-4.
55. VITAS AI, DIAZ R, GAMAZO C: Protective effect of liposomal gentamicin against systemic acute murine brucellosis. *Chemotherapy* 1997; 43: 204-10.
56. PRINTZIS S, RAPTOPOULOU-GIGI M, ORPHANOU-KOUMERKERIDOU H, LAGRE F, GOULIS G: Immunotherapy in chronic brucellosis. Effect of levamisole and interferon; mechanisms of action and clinical value. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1994; 16 (4): 679-93.
57. JIMENEZ-DE-BAGUES MP, ELZER PH, JONES SM, BLASCO JM, ENRIGHT FM, SCHURIG GG, WINTER AJ: Vaccination with *Brucella abortus* rough mutant RB51 protects BALB/c mice against virulent strains of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, and *Brucella ovis*. *Infect Immun* 1994; 62 (11): 4990-6.
58. OLIVEIRA SC, SPLITTER GA: Immunization of mice with recombinant L7/L12 ribosomal protein confers protection against *Brucella abortus* infection. *Vaccine* 1996; 14 (10): 959-62.
59. CORBEL MJ: National Institute for Biological Standards and Control. Vaccines against bacterial zoonoses. *Med Microbiol* 1997; 46: 267-9.