

## ENSAIOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DA BRUCELOSE BOVINA

Elizabeth Oliveira da COSTA \*  
Rolando CURY \*\*

RFMV-A/14

COSTA, E. O. da & CURY, R. *Ensaio de tratamento biológico da brucelose bovina.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 13(1):219-30, 1976.

**RESUMO:** Foi ensaiado em 37 bovinos brucélicos um método de tratamento biológico da brucelose, usando-se inoculações repetidas de uma associação: brucelina-vacina contra a brucelose. Dois tipos de vacina foram empregados: vacina A, não aglutinogênica (em 22 infectados) e vacina B de baixo poder aglutinogênico (em 15 infectados).

Findo o tratamento, os resultados mostraram, após nove meses de observação, os percentuais de cura de 38.1% para a vacina A e 53.85% para a vacina B.

UNITERMOS: *Brucelose bovina, tratamento biológico\**.

### I. INTRODUÇÃO E LITERATURA

Encontra-se na literatura um grande número de ensaios de tratamento da brucelose bovina baseados no uso de antibióticos diversos, vitaminas, hormônios, etc... e raras referências a propósito de medicações biológicas. Nesse último aspecto há um contraste com o problema da brucelose humana onde, além de outros tipos de medicação, há vários trabalhos sobre o emprego do soro e da vacinoterapia.

PACHECO e col.<sup>1,2</sup> preparam um novo tipo de vacina contra a brucelose, com a finalidade de usá-la na cura da doença humana e a ensaiaram preliminarmente no tratamento da brucelose experimental do coelho, com bons resultados.

GREKOVA<sup>3</sup> estuda os resultados da múltipla revacinação de cobaias contra a brucelose.

### II. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1. *Material*

##### 2.1.1. *Bovinos*

Foram utilizados neste trabalho 420 bovinos (Nelore e cruzados) pertencentes a duas criações vizinhas localizadas no município de Pedro de Toledo, no vale do Ribeira, Estado de São Paulo.

300 bovinos da Fazenda C.K.  
120 bovinos da Fazenda A.R.

\* Professor Assistente Doutor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da FMVZ-USP.

\*\* Professor Livre Docente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da FMVZ-USP.

Esses animais foram submetidos às provas de soro-aglutinação rápida (Huddleson) e soro-aglutinação lenta (Wright) para uma avaliação das condições do rebanho em relação a brucelose.

Reunidos ambos os rebanhos, a situação inicial foi a seguinte:

43 positivos  
7 suspeitos  
370 negativos

Os termos: positivo, suspeito e negativo são usados neste trabalho para indicar respectivamente, em relação a brucelose, segundo os critérios da OMS: os bovinos infectados, os suspeitos de estarem infectados e os não-infectados.

#### 2.1.2. *Medicação*

Empregamos a seguinte medicação:

2.1.2.1. *Vacina A*: preparada com a amostra 45/20 de Mc Ewen\*.

2.1.2.2. *Vacina B*: preparada com a associação da amostra 45/20 de Mc Ewen e amostra B<sub>19</sub> morta\*\*.

2.1.2.3. *Brucelina*: preparada pelo Instituto Biológico de São Paulo, de acordo com a técnica indicada por ALTON & JONES<sup>†</sup>.

#### 2.1.3. *Antígenos*

2.1.3.1. Antígeno para a prova da soro-aglutinação rápida (Huddleson) — fornecido pelo Instituto Biológico de São Paulo, preparado conforme as especificações da OMS<sup>11</sup>.

2.1.3.2. Antígeno para a prova da soro-aglutinação lenta (Wright) — suspensão espessa de *Brucella abortus*, amostra B<sub>19</sub> (colônias S) em solução fisiológica fenicada a 0,5%. Diluída na ocasião do uso, no mesmo veículo, ao tubo 4 da escala de Mac Farland.

2.1.3.3. Antígeno para "ring-test" com tetrazólio — preparado pelo Instituto Bio-

lógico de São Paulo, de acordo com MELLO & PACHECO<sup>5</sup>.

2.1.3.4. Antígeno para a prova do mercaptoetanol — utilizou-se nesta prova o mesmo antígeno empregado para a prova da soro-aglutinação lenta, excetuando-se o fato do veículo de suspensão ser utilizado sem acréscimo do fenol.

2.1.4. *Cobaias* — foram utilizadas 122 cobaias albinas de peso médio (200 a 220 g) da criação do Instituto Biológico de São Paulo.

2.1.5. *Soro sanguíneo* — obtido dos bovinos utilizados neste trabalho na fase inicial de triagem e organização dos grupos experimentais e em diferentes períodos durante as fases de tratamento e observação.

2.1.6. *Leite* — coletado com cuidados de assepsia de todas as vacas em lactação no início do trabalho, após a organização dos grupos experimentais e no final do período de observação.

#### 2.2. *Métodos*

##### 2.2.1. *Tratamentos*

Os animais foram divididos em três grupos:

Grupo A = 45 bovinos  
Grupo B = 30 bovinos  
Grupo C (controle) = 20 bovinos

##### 2.2.1.1. Tratamento do Grupo A

Este grupo foi organizado na fazenda C.K., após os exames preliminares citados no item 2.1.1. Ficou assim constituído:

22 positivos  
0 suspeitos  
23 negativos

Esses animais receberam 10 doses de 5 ml por via intramuscular, da Vacina A (item 2.1.2.1.) e 10 doses de 2 ml. por

\* Vacina "Duphovac N.A." — Philips Duphar S.A., Produtos Químicos e Biológicos.

\*\* Vacina "Dubrucel" — Química e Farmacéutica Nikkho do Brasil Ltda.

via subcutânea, de brucelina (item 2.1.2.3.). A dose de vacina era injetada 24 horas após a inoculação da brucelina. O intervalo entre as aplicações foi de uma semana.

#### 2.2.1.2. Tratamento do Grupo B

Este grupo foi organizado na Fazenda A.R. e era assim constituído:

15 positivos  
4 suspeitos  
11 negativos

Este grupo seguiu o mesmo esquema de tratamento daquele do grupo A, substituindo-se apenas a Vacina A pela Vacina B (item 2.1.2.2.).

#### 2.2.1.3. Grupo C (testemunho)

Constituído da seguinte forma, com bovinos das duas fazendas citadas:

6 positivos  
3 suspeitos  
11 negativos

Estes animais não receberam tratamento algum durante todo o período de trabalho.

#### 2.2.2. Técnicas de diagnóstico e controle

2.2.2.1. Soro-aglutinação, técnicas rápida e lenta<sup>6,7</sup>. Utilizadas inicialmente como provas de triagem para organização dos grupos experimentais. Empregadas ainda com intervalos de cerca de 30 dias no decorrer do trabalho: durante o período de tratamento (antes da inoculação da dose de brucelina) e durante o período de observação, para acompanhamento dos títulos aglutinantes, nos três grupos experimentais.

Essas técnicas mostraram resultados concordantes, motivo pelo qual não são citadas em separado no decorrer do trabalho.

2.2.2.2. "ring-test" — empregado nas vacas em lactação logo após a organização

dos grupos experimentais e no final do período de observação.

2.2.2.3. Técnica do Mercaptoetanol<sup>6,7</sup>. Empregada logo após a organização dos grupos experimentais, para avaliação do estágio evolutivo da doença.

2.2.2.4. Isolamento biológico (inoculação em cobaias) — o sobrenadante do leite centrifugado (2000 r.p.m.) após tratamento com antibióticos (penicilina + estreptomicina) foi inoculado, por via intraperitoneal, na dose de 1 ml em cobaias. Essa inoculação foi feita em separado para o leite de cada vaca em lactação e para um "pool" dessas amostras de leite.

O diagnóstico da infecção experimental foi acompanhado por provas de:

- A — soro-aglutinação rápida e lenta;
- B — intradermoreação com a brucelina (via intradermoplantar);
- C — necrópsia:
  - a — exame anátomo-patológico;
  - b — coloração de Koster modificado<sup>9</sup>, para esfregaços de órgãos.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Tratamento A (Tabela 1)

Um total de 22 bovinos positivos foi tratado. Destes, ao final do período de observação 8 ficaram negativos e 2 passaram a suspeitos. O percentual de cura, considerando-se os 21 bovinos que chegaram ao fim da prova, foi de 38,1%. Dos 23 negativos tratados, no final da prova restaram 22 dos quais 21 estavam negativos e um suspeito.

#### 3.2. Tratamento B (Tabela 2)

Dos 15 animais positivos tratados no fim da prova restavam 13 e destes 7 estavam negativos e nenhum passou a suspeito. O percentual de cura, considerando-se o total que chegou ao fim da prova foi de 53,85%.

Os 4 bovinos suspeitos tratados passaram a negativos. Dos 11 negativos tratados, ao fim do período de observação restaram 10,

TABELA 1

Evolução dos títulos (UI ml<sup>-10</sup>) da soro-aglutinação de bovinos, positivos e negativos para a brucelose, tratados com associação de brucelina e vacina A (amostra 45/20 de McEven). Os negativos foram tratados para se verificar a persistência dos títulos aglutinantes.

| Grupo A            | Bovinos n.º | Exame Inicial | Período de Tratamento |         |         |         | Período de Observação |          |          |          |         |         | Resultado Final |         |         |       |          |
|--------------------|-------------|---------------|-----------------------|---------|---------|---------|-----------------------|----------|----------|----------|---------|---------|-----------------|---------|---------|-------|----------|
|                    |             |               | 19-4-72               | 06-7-72 | 28-7-72 | 17-8-72 | 14-9-72               | 19-10-72 | 16-11-72 | 06-12-72 | 22-1-73 | 23-3-73 |                 | 15-5-73 | 27-6-73 |       |          |
| positivos tratados | 001         | 200 I         | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 100      | 100 I    | 50       | 100 I   | 50      | 100 I           | 50      | 100 I   | 50    | negativo |
|                    | 115         | 200 I         | 50                    | 200 I   | 100     | 100     | 200                   | 100      | 200 I    | 100      | 200 I   | 200 I   | 100 I           | 200 I   | 200 I   | 200 I | positivo |
|                    | 134         | 100           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200 I    | 100      | 100 I    | 100 I   | 50      | 100 I           | 50      | 100 I   | 100   | positivo |
|                    | 141         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200   | positivo |
|                    | 143         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200   | positivo |
|                    | 144         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200 I    | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200             | 200 I   | 200 I   | 200 I | positivo |
|                    | 145         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200   | positivo |
|                    | 172         | 200           | 200 I                 | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 I   | 200 I | positivo |
|                    | 194         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 100      | 100      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 50    | suspeito |
|                    | 198         | 200           | 200 I                 | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 100      | 100      | 200 I   | 100     | 100 I           | 100 I   | 25      | 25    | negativo |
|                    | 206         | 100           | 100                   | 100     | 100     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 100      | 100 I   | 100 I   | 50              | 100 I   | 25      | 25    | negativo |
|                    | 210         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200 I | positivo |
|                    | 212         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200   | positivo |
|                    | 213         | 100           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200 I    | 200      | 200      | 200     | 200     | 100             | 200 I   | 50      | 50    | negativo |
|                    | 217         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200   | negativo |
|                    | 219         | 200           | 200 I                 | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200   | negativo |
|                    | 220         | 100           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 100      | 100     | 200     | 200             | 200     | 100     | 50    | suspeito |
|                    | 225         | 100           | 50                    | 200     | 200 I   | 200     | 200                   | 200      | 50       | 50       | 50 I    | 50 I    | 50 I            | 50 I    | 50 I    | 50    | negativo |
|                    | 226 ♂       | 100           | 100                   | 100     | 100     | 200 I   | 200                   | 200      | 100      | 50       | 200 I   | 50      | 50              | 50      | 50      | N     | negativo |
|                    | 237         | 100           | 100                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 100      | 50 I     | 50 I    | 50 I    | 25              | 25      | 25      | N     | negativo |
|                    | 241         | 200           | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200      | 200     | 200     | 200             | 200     | 200     | 200   | positivo |
|                    | 248         | 100           | 100                   | 200     | 200     | 200     | 200                   | 200      | 100      | 100      | 100     | 100     | 50              | 50 I    | 50      | 25    | negativo |

TABELA 1 (Continuação)

| Grupo A | Bovinos n.º      | Exame Inicial | Período de Tratamento |         |          |         | Período de Observação |          |          |         |         |         | Resultado Final |         |     |         |     |          |  |
|---------|------------------|---------------|-----------------------|---------|----------|---------|-----------------------|----------|----------|---------|---------|---------|-----------------|---------|-----|---------|-----|----------|--|
|         |                  |               | 17-8-72               |         | 19-10-72 |         | 16-11-72              |          | 06-12-72 |         | 22-1-73 |         |                 | 23-3-73 |     | 15-5-73 |     | 27-6-73  |  |
|         |                  |               | 06-7-72               | 28-7-72 | 17-8-72  | 14-9-72 | 19-10-72              | 16-11-72 | 06-12-72 | 22-1-73 | 23-3-73 | 15-5-73 |                 | 27-6-73 |     |         |     |          |  |
|         | 103              | N             | 100                   | 50      | 50 I     | 25 I    | N                     | N        | 25       | 100 I   | 100 I   | 25      | 25              | 25      | 25  | 25      | 25  | negativo |  |
|         | 108              | N             | 50                    | 200     | 25       | 25      | N                     | N        | 25 I     | 50      | 25      | 25      | 25 I            | 25      | 25  | 25      | 25  | negativo |  |
|         | 109              | N             | 50 I                  | 100     | 200      | 100     | 50 I                  | 50 I     | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 138              | N             | 100                   | 200     | 200      | 200 I   | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | suspeito |  |
|         | 149 <sup>δ</sup> | N             | 50                    | 50      | 200      | 100     | 100 I                 | 100 I    | 100      | 100     | 100     | 100     | 100             | 100     | 100 | 100     | 100 | negativo |  |
|         | 150              | N             | 200                   | 100     | 200      | 50      | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 160              | N             | 50                    | N       | 200 I    | 50      | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 161              | N             | 50 I                  | 100     | 25       | 25      | 25 I                  | 25 I     | 25       | 25      | 25      | 25      | 25              | 25      | 25  | 25      | 25  | negativo |  |
|         | 163              | N             | 50                    | 200     | 200      | 50      | 200                   | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 164              | N             | 50                    | 100     | 200      | 50 I    | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 167              | N             | 200                   | 50      | 200      | 50      | 200                   | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 170              | N             | 100                   | 50      | 200      | 100     | 50                    | 100 I    | 100      | 100     | 100     | 100     | 100             | 100     | 100 | 100     | 100 | negativo |  |
|         | 186              | N             | 100                   | 50      | 200      | 100     | 100                   | 100      | 100      | 100     | 100     | 100     | 100             | 100     | 100 | 100     | 100 | negativo |  |
|         | 188              | N             | 100 I                 | 100     | 200      | 100     | 100                   | 100      | 100      | 100     | 100     | 100     | 100             | 100     | 100 | 100     | 100 | negativo |  |
|         | 193              | N             | 50 I                  | N       | 200      | N       | 200                   | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 195              | N             | 100 I                 | 100 I   | 200      | 50      | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 207              | N             | 50                    | 50      | 100      | 50      | 100                   | 100      | 100      | 100     | 100     | 100     | 100             | 100     | 100 | 100     | 100 | negativo |  |
|         | 209              | N             | 50                    | 100     | 200 I    | 50      | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 211              | N             | 100                   | 200     | 200      | 200     | 200                   | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 215              | N             | —                     | —       | —        | —       | —                     | —        | —        | —       | —       | —       | —               | —       | —   | —       | —   | negativo |  |
|         | 004              | N             | 50                    | 100     | 200      | 50      | 200                   | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 168              | N             | 100                   | 50      | 200      | 50      | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |
|         | 137              | N             | 50                    | 50 I    | 200      | 200 I   | 200 I                 | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200             | 200     | 200 | 200     | 200 | negativo |  |

I = incompleto      N = negativo      — = eliminados da relação

TABELA 2

Evolução dos títulos (UI/ml<sup>100</sup>) da soro-aglutinação de bovinos positivos, suspeitos e negativos para a brucelose, tratados com associação brucelina e vacina B (amostra 45/20 de Mc Ewen + Brucella 19 morta). Os negativos foram tratados para se verificar a persistência dos títulos aglutinantes.

| Grupo B            | Bovinos n.º | Exame Inicial | Período de tratamento |        |         |          | Período de observação |         |         |         |         |         | Resultado Final |     |     |     |          |          |
|--------------------|-------------|---------------|-----------------------|--------|---------|----------|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------------|-----|-----|-----|----------|----------|
|                    |             |               | 13-7-72               | 3-8-72 | 24-8-72 | 12-10-72 | 16-11-72              | 6-12-72 | 22-1-73 | 23-3-73 | 15-5-73 | 27-6-73 |                 |     |     |     |          |          |
| positivos tratados | 006         | 200           | 200                   | 200    | 200     | —        | —                     | —       | —       | —       | —       | —       | —               | —   | —   | —   | negativo |          |
|                    | 007         | 100           | 100                   | 100    | 100     | 50       | 100                   | 100     | 50      | 50      | 200     | 100     | 50              | 50  | 200 | 50  | positivo |          |
|                    | 008         | 200           | 200                   | 200    | 200     | 200      | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200     | 200     | 200             | 200 | 200 | 200 | 200      | positivo |
|                    | 009         | 200           | 100                   | 100    | 100     | 50       | 50                    | 50      | 50      | 50      | 50      | 50      | 50              | 50  | 50  | 50  | 50       | negativo |
|                    | 021         | 100           | 100                   | 100    | 100     | 50       | 50                    | 50      | 50      | 50      | 50      | 50      | 50              | 50  | 50  | 50  | 50       | negativo |
|                    | 011         | 200           | 200                   | 200    | 200     | 200      | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200     | 200     | 200             | 200 | 200 | 200 | 200      | positivo |
|                    | 012         | 200           | 200                   | 200    | 200     | 200      | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200     | 200     | 200             | 200 | 200 | 200 | 200      | positivo |
|                    | 013         | 200           | 200                   | 200    | 200     | 200      | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200     | 200     | 200             | 200 | 200 | 200 | 200      | positivo |
|                    | 014         | 200           | 200                   | 200    | 200     | 200      | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200     | 200     | 200             | 200 | 200 | 200 | 200      | positivo |
|                    | 015         | 100           | 50                    | 100    | 50      | 50       | 50                    | 50      | 50      | 50      | 50      | 50      | 50              | 50  | 50  | 50  | 50       | negativo |
|                    | 016         | 100           | 50                    | 50     | 50      | 50       | 50                    | 50      | 50      | 50      | 50      | 50      | 50              | 50  | 50  | 50  | 50       | negativo |
|                    | 261         | 200           | 200                   | 200    | 200     | 200      | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200     | 200     | 200             | 200 | 200 | 200 | 200      | positivo |
|                    | 265         | 200           | 200                   | 200    | 200     | 200      | 200                   | 200     | 200     | 200     | 200     | 200     | 200             | 200 | 200 | 200 | 200      | positivo |
|                    | 277         | 100           | 50                    | 50     | 50      | 50       | 50                    | 50      | 50      | 50      | 50      | 50      | 50              | 50  | 50  | 50  | 50       | negativo |
|                    | 285         | 100           | 50                    | 50     | 50      | 50       | 50                    | 50      | 50      | 50      | 50      | 50      | 50              | 50  | 50  | 50  | 50       | negativo |

TABELA 2 (Continuação)

| Grupo B            | Bovinos<br>n.ºs | Exame inicial | Período de tratamento |         |        |         |          | Período de observação |         |         |         |         | Resultado Final |          |          |
|--------------------|-----------------|---------------|-----------------------|---------|--------|---------|----------|-----------------------|---------|---------|---------|---------|-----------------|----------|----------|
|                    |                 |               | 19-5-72               | 13-7-72 | 3-8-72 | 24-8-72 | 12-10-72 | 16-11-72              | 6-12-72 | 22-1-73 | 23-3-73 | 15-5-73 |                 | 27-6-73  |          |
| suspeitos tratados | 017             | 50            | 50                    | 50      | 50 I   | 25      | 50 I     | 25                    | 25 I    | 50 I    | N       | 50 I    | N               | N        | negativo |
|                    | 019             | 50            | 50                    | 100     | 100 I  | 100 I   | 50       | 50                    | N       | 50      | 50      | 50 I    | N               | 50       | negativo |
|                    | 020             | 50 I          | 50 I                  | 50 I    | 25     | 25 I    | N        | N                     | 25 I    | 25 I    | 50 I    | 50 I    | N               | 25       | negativo |
|                    | 010             | 50            | 50                    | 100     | 50     | 50 I    | 50 I     | 50 I                  | 50 I    | 50 I    | 50 I    | 50 I    | N               | 25       | negativo |
| negativos tratados | 022             | N             | N                     | N       | 25     | 50      | 25       | N                     | N       | N       | N       | N       | N               | N        | —        |
|                    | 023             | N             | N                     | N       | N      | 25 I    | N        | 25 I                  | N       | 25 I    | N       | N       | N               | N        | negativo |
|                    | 024             | N             | 50                    | 50      | 50     | 50 I    | 50       | 25                    | 25      | 50 I    | 50 I    | 50 I    | N               | 25       | negativo |
|                    | 025             | N             | N                     | 100 I   | 100    | 50      | 50       | 50                    | 50      | 50 I    | 50 I    | 50 I    | N               | 25       | negativo |
|                    | 026             | N             | N                     | N       | N      | 25      | 25       | 25 I                  | 25      | 25      | 25 I    | 50 I    | N               | 25       | negativo |
|                    | 027             | N             | N                     | 100     | 50     | 50      | 50       | 50 I                  | 50 I    | 50 I    | 50 I    | 50 I    | N               | 25       | negativo |
|                    | 028             | N             | N                     | N       | N      | N       | N        | N                     | N       | N       | N       | N       | N               | 25       | negativo |
|                    | 029             | N             | 50                    | N       | 100    | 100 I   | 100 I    | 50                    | 50      | 50      | 25      | 25      | 25 I            | N        | negativo |
|                    | 030             | N             | 50                    | 50      | 50     | 50      | 50       | 25                    | 25      | 25      | 25 I    | 25 I    | N               | 25 I     | negativo |
|                    | 275             | N             | N                     | N       | 50     | 25      | 25       | 25                    | 25      | 25 I    | 25      | 25      | N               | 25       | negativo |
| 278                | N               | N             | N                     | N       | N      | N       | N        | N                     | N       | N       | N       | N       | N               | negativo |          |

I = incompleto    N = negativo    — = eliminados da criação

TABELA 3

Evolução dos títulos (UJ ml<sup>100</sup>) da soro-aglutinação de bovinos positivos, suspeitos e negativos para a brucelose que não receberam tratamento algum durante todo o tempo de desenvolvimento do trabalho (grupo controle).

| Grupo C   | Bovinos n.º | Exame inicial 19-5-72 | 13-7-72 | 3-8-72 | 24-8-72 | 12-10-72 | 16-11-72 | 6-12-72 | 22-1-73 | 23-3-73 | 15-5-73 | 27-6-73  | Resultado Final |
|-----------|-------------|-----------------------|---------|--------|---------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|----------|-----------------|
| positivos | 292         | 200                   | 200     | 200    | 200     | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200     | 200      | positivo        |
|           | 232         | 200                   | 200     | 200    | 200     | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200     | 200      | positivo        |
|           | 262         | 200                   | 200     | 200    | 200     | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200     | 200      | positivo        |
|           | 201         | 100                   | 100     | 100    | 100     | 200 I    | 200      | 200     | 200     | 200     | 200     | 200      | positivo        |
|           | 203         | 100                   | 100     | 200    | 200     | 200      | 200      | 200     | 200     | 200     | 200     | 200      | positivo        |
|           | 200         | 200                   | 200     | 200    | 200     | 100      | 100      | 100     | 100     | 200     | 200     | 200      | positivo        |
| suspeitos | 240         | 50                    | 50      | 100    | 100     | 50       | 50       | 200     | 200     | 200     | 200     | 100      | positivo        |
|           | 205         | 50                    | 50      | 50     | 50      | 50       | 50       | 100     | 100     | 100     | 100     | 50       | suspeito        |
|           | 208         | 50                    | 25      | 25     | 25      | 25       | 25       | 50      | 50      | 50      | 50      | 50       | negativo        |
| negativos | 227         | N                     | N       | N      | N       | N        | N        | N       | N       | N       | N       | N        | negativo        |
|           | 294         | 25                    | N       | N      | N       | N        | N        | N       | N       | N       | N       | 25       | negativo        |
|           | 101         | N                     | N       | N      | N       | 50       | 50       | 200     | 200     | 200     | 200     | 200      | positivo        |
|           | 287         | N                     | N       | N      | N       | N        | N        | N       | N       | N       | N       | N        | negativo        |
|           | 259         | N                     | N       | N      | N       | N        | N        | 50      | 50      | 25      | 25      | 25       | negativo        |
|           | 221         | N                     | N       | N      | N       | N        | N        | 25      | 25      | 25      | 25      | 50       | suspeito        |
|           | 256         | N                     | N       | N      | N       | N        | N        | N       | N       | N       | N       | N        | negativo        |
|           | 228         | N                     | N       | N      | N       | N        | N        | N       | N       | N       | N       | N        | negativo        |
|           | 102         | 25                    | 25      | N      | N       | N        | N        | 25      | 25      | 25      | 25      | 50       | negativo        |
|           | 104         | N                     | N       | N      | N       | N        | N        | N       | N       | N       | 50      | 50       | negativo        |
| 106       | N           | N                     | N       | N      | 50      | 50       | 200      | 200     | 200     | 200     | 200     | positivo |                 |

I = incompleto N = negativo

que estavam negativos, mostrando não ter havido persistência de título na soro-aglutinação.

Foram considerados negativos, para os cálculos dos percentuais de cura nos tratamentos A e B, os bovinos de título inferior a 50 UI/ml e os que repetiram o título 50 UI/ml em provas sucessivas realizadas com intervalo de 30 a 60 dias, de acordo com critérios preconizados por HUDDLESON<sup>10</sup>.

### 3.3. Grupo C — testemunho (Tabela 3)

Neste grupo de bovinos não tratados, ao final do trabalho os resultados foram os seguintes:

- a — os 6 positivos permaneceram positivos;
- b — dos 3 suspeitos, um tornou-se positivo, um passou a negativo e um permaneceu suspeito;
- c — dentre os 11 negativos, 8 continuaram negativos, um passou a suspeito e dois a positivos.

Em todas as fases do trabalho os bovinos dos três grupos experimentais permaneceram junto aos demais animais das duas criações onde foi feito o presente ensaio.

A prova do anel ("ring-test") foi efetuada com o leite de todas as vacas, dos grupos A e B, que estavam em lactação no início do trabalho. Mostrou os seguintes resultados:

vacas do Grupo A (vide Tabela 1)

++++ = 001 e 198  
+++ = 194  
++ = 115  
+ = 225  
- = 108, 109, 163, 170 e 206 e 215

vacas do Grupo B (vide Tabela 2)

++++ = 011, 013 e 016  
+++ = 014  
++ = 008, 015  
+ = 007  
- = 010, 020, 025 e 026

O mesmo exame foi efetuado em todas as vacas que estavam em lactação no final do trabalho e o resultado foi:

vacas do Grupo A (vide Tabela 1)

- = 001, 198, 225, 206, 145, 212, 213, 108, 109, 194, 164, 188, 193, 167, 207, 209 e 163

vacas do Grupo B (vide Tabela 2)

- = 0,13, 014, 265, 015, 007, 020, 017, 024, 025, 026, 275 e 278

A prova do 2-mercaptoetanol foi efetuada com todos os soros sanguíneos dos animais positivos dos grupos A e B (Tabelas 1 e 2). Utilizaram-se os mesmos soros obtidos para o exame inicial de triagem.

Os resultados mostraram que em sua quase totalidade tratava-se de doentes na forma crônica; excetuaram-se os obtidos das vacas 141, 212 e 008 onde as diferenças nos títulos dos soros-aglutinações de soros tratados e não tratados pelo 2-mercaptoetanol mostraram tratar-se de fase menos avançada da doença, embora também já estivessem na fase crônica.

Todas as amostras de leite obtidas das vacas em lactação no início e no fim do trabalho foram inoculadas em cobaias (2 cobaias para cada amostra de leite).

No início do trabalho foram também inoculados os seguintes "pool" de amostras (2 cobaias para cada "pool").

vacas do Grupo A

a — 001, 194, 198, 115, 206 e 225  
b — 108, 109, 163, 170 e 215

vacas do Grupo B

a — 011, 013, 016, 014, 008, 015 e 007  
b — 010 e 020  
c — 025 e 026

No final do trabalho além da inoculação individual de amostras de leite, os seguintes "pool" foram inoculados (2 cobaias para cada "pool").

vacas do Grupo A

- a — 001, 198, 225, 206, 145, 212, 213, 194
- b — 108, 109, 164, 188, 193, 167, 209 e 163

vacas do Grupo B

- a — 013, 014, 265, 015 e 007
- b — 017 e 020
- c — 024, 025, 026, 275 e 278

Todas as cobaias inoculadas foram submetidas às provas indicadas no item 2.2.2.4.

Os resultados foram, para o material coletado no início do trabalho:

Grupo A

- a — soro-aglutinação
  - + = 001, 198, 194, 225, "pool" Aa
  - = 115, 108, 109, 163, 170, 206, 215, "pool" Ab
- b — intradermoreação
  - + = 198, 194, 225 e "pool" Aa
  - = 001, 115, 108, 109, 163, 170, 206, 215 e "pool" Ab
- c — necrópsia
  - esplenomegalia: 001, 198, 194, 115, 225 e "pool" Aa
  - nenhuma lesão: 109, 163, 170, 206, 215 e "pool" Ab
- d — coloração de Köster modificada em esfregaço de órgãos:
  - presença de germes com aspecto morfológico de *Brucella*: 001, 198, 115, 225, 206 e "pool" Aa
  - nenhum germe com características de *Brucella*: 194, 108, 109, 163, 170, 206, 215 e "pool" Ab

Grupo B

- a — soro-aglutinação
  - + = 011, 013, 016, 014, 015, 007, 010 e "pool" Ba e Bb
  - = 008, 020, 025, 026 e "pool" Bc
- b — intradermoreação
  - + = 020, 011, 013, 014, 007, 015 e "pool" Ba e Bb
  - = 025, 026, 008, 016, 015, 010, "pool" Bc

c — necrópsia

- esplenomegalia: 011, 013, 014, 015 e "pool" Ba e Bb
- nenhuma lesão: 016, 008, 007, 020, 025, 026 e "pool" Bc

d — coloração de Köster modificada em esfregaço de órgãos:

- presença de germes com aspecto de *Brucella*: 011, 013, 014, 007, 016, 015 e "pool" Ba e Bb
- nenhum germe com características de *Brucella*: 008, 010, 020, 025, 026 e "pool" Bc

Os resultados das inoculações de amostras de leite coletadas de todas as vacas em lactação dos grupos A e B no final do trabalho foram negativas para todas as cobaias, sem exceção. As cobaias inoculadas sofreram as mesmas provas já indicadas para as inoculadas com amostras de leite coletadas no início do trabalho.

*Análise estatística:* o teste de significância feito com a proporção de positivos antes e depois dos tratamentos dos grupos A e B foi significativo ao nível de 5%.

#### IV. DISCUSSÃO

Os animais negativos tratados com as vacinas A e B (Tabelas 1 e 2), ao final do período de observação voltaram a apresentar títulos negativos, com exceção de uma vaca que mostrou título suspeito (com a vacina A). Esse resultado indica que na quase totalidade dos casos (96,88%) as vacinas usadas não induziram persistência dos títulos aglutinantes.

O tratamento com a vacina A (Tabela 1) revelou que o percentual de bovinos que respondeu satisfatoriamente a esse tratamento — 38,1% — foi inferior a aquele tratado com a vacina B — 53,85% (Tabela 2).

O grupo controle (Tabela 3) mostrou que bovinos positivos, suspeitos e negativos, não tratados e mantidos junto aos dois rebanhos utilizados nesse trabalho, seguiram uma evolução considerada normal

nessa doença: os positivos continuaram positivos, dos suspeitos um regridiu a negativo, um manteve-se suspeito e um teve evolução da doença; dentre os negativos alguns mantiveram-se negativos e outros infectaram-se.

As provas biológicas no final do trabalho mostraram que o leite das vacas tratadas quando em lactação, mesmo as positivas tratadas que mantiveram título aglutinante, revelaram resultado negativo na inoculação em cobaias.

Esse fato sugere a possível permanência de uma cicatriz sorológica ou pelo menos uma supressão da eliminação de *Brucella abortus* pelo leite.

A prova do mercaptoetanol, realizada nos animais positivos para avaliação do estágio evolutivo da doença, demonstrou que, em sua quase totalidade, tratava-se de doentes já na forma crônica.

Por outro lado:

a -- o tratamento de um pequeno grupo de quatro suspeitos (Tabela 2) passando todos eles a negativos (100%);

b -- a observação das Tabelas 1 e 2 onde se pode verificar que de um total de 19 bovinos com título inicial 200 UI/ml completos 2 ficaram negativos (10,53%) e que de um total de 14 bovinos com título inicial 100 UI/ml completos 12 ficaram negativos (85,71%);

sugerem que:

-- melhores resultados podem ser obtidos no tratamento da brucelose na fase inicial ou pelo menos naqueles de baixo título aglutinante.

Concluindo:

durante os períodos de tratamento e observação nenhum aborto foi verificado nos grupos de bovinos tratados, enquanto que no grupo testemunho observaram-se dois abortos entre os positivos não tratados.

Grande parte dos autores que trabalharam na terapêutica da brucelose humana e animal se preocupou em ensaios com sulfas e antibióticos.

Os resultados obtidos com a associação brucelose + vacina, por nós ensaiada, permite sugerir futuras pesquisas associando brucelina, dentro das normas indicadas por Huddleson, ao uso de sulfas e antibióticos. Segundo esse autor a brucelina afeta o curso da doença ao provocar reação alérgica sistêmica acompanhada de leucocitose neutrofilica e aumento das imune-opsoninas.

A eficácia da brucelina, ainda conforme HUDDLESON<sup>8</sup>, depende da existência e continuação do estado de sensibilização do paciente sob tratamento.

Huddleson usava a brucelina na dose de 0,5 ml por via intradérmica e admita que se assim não exercesse reação sistêmica dever-se-ia repetir, empregando 0,5 ml por via intradérmica e 0,5 ml por via intramuscular. Nós usamos neste trabalho a dose de 2 ml por via subcutânea.

#### V. CONCLUSÕES

A associação brucelina e vacina contra a brucelose, de baixo poder aglutinogênico, constitui um método promissor no tratamento da brucelose bovina.

As evidências obtidas indicam que melhores resultados no tratamento da brucelose são obtidos na medicação de bovinos com baixo título aglutinante.

#### A G R A D E C I M E N T O S

Ao: Sr. Enio França, Dr. Cyro Troise, Profa. Dra. Saemi Ogassawara, Profa. Dra. Margarida de Fátima Machado Mendes, Sr. Antonio Eduardo Alencar de Freitas Guimarães, Sr. Pedro Luiz Colabuono, Dra. Maria de Fátima Machado Mendes, Prof. Dr. Adolpho Martins Penha, Sr. Julio Masanori Nakama, Profa. Dra. Tamara Nitikin e Prof. Dr. Mario Mariano, pelo auxílio prestado na execução deste trabalho.

COSTA, E. O. da & CURY, R. *Assays on biological treatment of bovine brucellosis.* **Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, 13(1):219-30, 1976.

**SUMMARY:** A biological method for the treatment of brucellosis was tried in 37 bovines suffering of this disease. The method consisted in a serie of injections of brucelin and a vaccine against brucellosis. Two type A a non agglutinogenic vaccine that was used in 22 animals and type B vaccine which have a low agglutinogenic power and which was used in 15 animals.

After the treatment and 9 month of follow up the percentages of cure were respectively 38.1% for type A and 53.85% for type B vaccines.

**UNITERMS:** Bovine brucellosis, biologic treatment\*.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — PACHECO, G.; SILVA, D.S.; SILVA, J. G. Nova vacina curativa contra a brucelose. *O Hospital*, 76(2):345-51, 1969.
- 2 — PACHECO, G.; SILVA, D.S.; SILVA, J.G. Sobre o emprego da nova vacina curativa da brucelose. *O Hospital*, 77(4):329-37, 1970.
- 3 — GREKOVA, N.A. Effects on multiple revaccination against Brucellosis on guine pigs. *Zh. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol.*, Moskva, 2:131-35, 1968 apud *Vet. Bull.*, 38(12):838, 1968.
- 4 — ALTON, G.G. & JONES, L.M. *Las tecnicas de laboratorio en la Brucelosis*. Washington, OMS, 1969. (Serie Monografias, 55).
- 5 — PACHECO, G. & MELLO, M.T. *Brucelose*. Rio de Janeiro, 1955. 727 p. (Instituto Oswaldo Cruz. Monografia, 7).
- 6 — ANDERSON, R.K.; JENNISS, R.; BRUNFIELD, H.P.; GOUGH, P. Brucella — agglutinating antibodies: relation of mercaptoethanol stability to complement fixation. *Science*, 143(3612):1334-35, 1954.
- 7 — CPS. Instituto Biologico da Bahia. *Curso sobre controle de vacina B. abortus cepa 19*. Antigenos para diagnósticos da Brucelose. Salvador, 1970.
- 8 — HUDDLESON, I.F. *Brucellosis in man and animals*. 3rd ed. Cambridge. Harvard University Press, 1947.
- 9 — COSTA, E.O. da; OGASSAWARA, S.; CURY, R. Nova modificação na técnica de coloração diferencial de *Brucella abortus*. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:107-10, 1974.
- 10 — OMS. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. *Tercer informe*. Ginebra, 1958. (Serie informes técnicos, 148).
- 11 — CPZ/OSP. *Elaboracion y normalizacion de antigenos para las pruebas de sero-aglutinacion en la brucelosis*. Argentina, 1968. (Nova técnica, 3. rev. 2).

Recebido para publicação em 15-3-76  
Aprovado para publicação em 25-3-76