



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



Brucelose

A Última Década no Centro Hospitalar da Cova da Beira, E.P.E.

Tânia Maria Pinheiro de Almeida

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

Maio de 2009

UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



Brucelose

A Última Década no Centro Hospitalar da Cova da Beira, E.P.E.

Por

Tânia Maria Pinheiro de Almeida

Orientador

Dra. Rita Faísca

Dissertação Mestrado Integrado em Medicina

Maio de 2009

Declaro que a presente dissertação é resultado da minha investigação pessoal e independente, o seu conteúdo é original e todas as fontes consultadas estão devidamente referenciadas na bibliografia.

Declaro também que a obtenção dos dados estudados foi realizada após autorização do Conselho de Administração do Centro Hospitalar Cova da Beira-EPE e da Comissão de Ética do mesmo hospital.

Por último acrescento que a mesma não foi utilizada em nenhuma outra instituição com outra finalidade para além daquela a que diz respeito.

O candidato,

Covilhã, Maio de 2009

Declaro que, tanto quanto me foi possível verificar, esta dissertação é o resultado da investigação pessoal e independente do candidato.

O orientador,

Covilhã, Maio de 2009

Dedicatória

À minha querida avó,
Que esteve sempre presente.

Agradecimentos

O acto de “nascer”, nunca se opera sozinho, não provem do nada e não caminha para parte incerta... É sempre fruto de um desejo, de uma necessidade ou de um mero querer...

À Administração do Centro Hospitalar Cova da Beira-EPE por ter permitido a realização desta dissertação.

À Dra. Leopoldina Vicente por ter sugerido a temática.

À Dra. Rita Faísca, minha orientadora, pelo interesse e disponibilidade. Pelo profissionalismo revelado. Pelas críticas e sugestões.

Aos meus pais pelo apoio incondicional. Por sempre acreditarem que a filha seria uma vencedora. Por acreditarem que a sua obra seria perfeita.

Ao David por tornar esta realização apaixonante. Por estar perto, apesar da distância.

Às minha “irmãs” e amigas, por me inspirarem nos momentos mais difíceis. Pelo carinho e motivação incutidos nos momentos menos favoráveis.

Índice

Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Lista das Figuras	viii
Lista das Tabelas	ix
Lista dos Gráficos	x
Lista das Abreviaturas	xi
Resumo/Abstract	xii
Capítulo 1 Introdução	1
1.1 Enquadramento Conceptual	1
1.2 Objectivos da Dissertação de Mestrado	4
Capítulo 2 Revisão da Literatura	6
2.1 Perspectiva Histórica	6
2.2 Enquadramento Nacional e Internacional	10
2.3 Agente Etiológico	12
2.3.1 Taxonomia: Estrutura e Metabolismo Celular	12
2.3.2 Classificação e Tipagem Antigénica	15
	vi

2.4	Mecanismos de Patogenicidade: Interação Parasita-Hospedeiro	20
2.4.1	Reservatório da Infecção	20
2.4.2	Transmissão da Brucelose para Humanos	22
2.4.2.1	Meios de Transmissão	22
2.4.2.2	Transmissão Pessoa-Pessoa	24
2.4.2.3	Transmissão através de Produtos Alimentares	24
2.4.2.4	Transmissão através de Ambiente Contaminado	26
2.4.2.5	Exposição Ocupacional	26
2.4.3	Fisiopatologia	29
2.5	Diagnóstico	33
2.5.1	Classificação das Formas Clínicas de Brucelose	33
2.5.1.1	Brucelose Aguda e Subaguda	34
2.5.1.2	Brucelose Crónica	40
2.5.2	Diagnóstico Laboratorial	41
2.6	Tratamento e Prevenção	45
2.6.1	Tratamento da Brucelose Aguda Não Complicada	45
2.6.2	Tratamento da Brucelose Complicada	46
2.6.3	Tratamento da Brucelose em Grupos Especiais	48
2.6.4	Tratamento da Brucelose Crónica	49
2.6.5	Seguimento Pós-Tratamento	50
2.6.6	Prevenção	50

Capítulo 3	Materiais e Métodos	51
3.1	Base de Dados	51
3.2	Metodologia Estatística	52
Capítulo 4	Resultados	53
Capítulo 5	Discussão e Conclusão	60
5.1	Discussão	61
5.2	Conclusão	68
Capítulo 6	Bibliografia	69
Capítulo 7	Anexos	74

Lista das Figuras

Figura 1	David Bruce (1855-1931)	6
Figura 2	Taxas de Incidência (/10 ⁵) de Brucelose Distribuídas por Distritos do Continente, 2000 (9)	11
Figura 3	Estrutura da Membrana Celular de Microrganismos Gram-Negativos (72)	16
Figura 4	Estrutura Molecular do LPS (73)	17
Figura 5	Titulação de Anticorpos em Função das Fases da Doença Causada por Brucelose (14)	31
Figura 6	Representação Esquemática dos Principais Eventos Relativos à Patogénese da Brucelose (19)	32

Lista das Tabelas

Tabela 1	Casos Diagnosticados em vários Países, no Ano de 2006 (19)	10
Tabela 2	Estrutura Hierárquica da Classificação Científica usada em Biologia (23)	12
Tabela 3	Características Diferenciais das Biovariedades de <i>Brucella</i> (1, 2)	19
Tabela 4	Virulência Humana das Diferentes Espécies de <i>Brucella</i> (19)	23
Tabela 5	Classificação das Formas Clínicas da Brucelose (7, 4)	33
Tabela 6	Sinais e Sintomas de 500 Doentes com Brucelose por <i>B. melitensis</i> (4)	35
Tabela 7	Avaliação Laboratorial do LCR de Doentes com Neurobrucelose (36, 19)	38
Tabela 8	Diagnóstico Laboratorial em Função do Estadio Evolutivo (36)	42
Tabela 9	Sintomatologia de Apresentação nas Crianças (≤ 15 anos) e nos Adultos (> 15 anos)	55

Lista dos Gráficos

Gráfico 1	Distribuição do Número de Casos Registados por Ano (n=55)	53
Gráfico 2	Distribuição Sazonal do Número de Casos Registados (n=55)	54
Gráfico 3	Número de Casos em Função da Idade e do Sexo (n=55)	54
Gráfico 4	Tipo de Artralgias Localizadas e Poliartralgias (n=37)	56
Gráfico 5	Resultados do Primeiro Teste de Wright (n=52)	57
Gráfico 6	Níveis de Transaminases (n=55)	58
Gráfico 7	Tratamento Instituído a Doentes com Idade Inferior a 8 anos	59
Gráfico 8	Tratamento Instituído a Doentes com Idade Compreendida Entre 8 e 55 anos	59
Gráfico 9	Tratamento Instituído a Doentes com Idade Superior a 55 anos	60
Gráfico 10	Casos Diagnosticados no CHCB-EPE de 1999 a 2008	61

Gráfico 11	Casos Declarados a Nível Nacional (60, 61)	61
Gráfico 12	Relação entre os Casos Diagnosticados no CHCB-EPE com os Declarados no Distrito de Castelo Branco de 2001 a 2008 (62, 63)	62

Lista das Abreviaturas

a.C.	Antes de Cristo
A.V.C.	Acidente Vascular Cerebral
CHCB-EPE	Centro Hospitalar Cova da Beira-Entidade Pública Empresarial
CO ₂	Dióxido de Carbono
DGS	Direcção-Geral da Saúde
ELISA	Teste Imuno-Enzimático
EUA	Estados Unidos da América
FNT	Factor de Necrose Tumoral
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
IgG	Imunoglobulina da Classe G
IgM	Imunoglobulina da Classe M
INE	Instituto Nacional de Estatística
LCR	Líquido Cefalo-Raquidiano
LPS-R	Lipopolissacarídeo de Estirpes Rugosas
LPS-S	Lipopolissacarídeo de Estirpes Lisas
mg/ g	Miligrama/ Grama
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S.U.	Serviço de Urgência
SER	Sistema Retículo-Endotelial
SNC	Sistema Nervoso Central
TAC	Tomografia Axial Computorizada
TAS	Testes de Aglutinação Sérica
TMP/SMZ	Trimetropim/Sulfamatexazol

Resumo

Introdução: A brucelose humana é das zoonoses mais frequentes a nível mundial (19). Em Portugal, os distritos de Guarda e Castelo Branco ocupam o quarto lugar quanto às regiões mais afectadas (7). A doença é transmitida através do contacto directo ou indirecto com animais infectados. Os principais meios de transmissão são a ingestão de alimentos não pasteurizados e o contacto ocupacional (42).

Objectivos: Caracterizar a brucelose no Centro Hospitalar Cova da Beira-EPE (CHCB-EPE) quanto à população afectada, sintomatologia apresentada, diagnóstico e tratamento. Proceder à análise comparativa dos casos verificados na última década no CHCB-EPE com os registados no Instituto Nacional de Estatística (INE) e na Direcção-Geral da Saúde (DGS).

Material e Método: Foram diagnosticados 55 casos de brucelose no CHCB-EPE na última década. Procedeu-se ao estudo retrospectivo dos respectivos processos clínicos, nomeadamente à análise das variáveis: idade, sexo, ano, mês, sintomatologia predominante, primeiro resultado do Teste de Wright e tratamento aplicado.

Resultados: Da amostra constatou-se predominância do sexo masculino (2,4:1) com uma idade média de 43 anos. As manifestações revelaram-se inespecíficas, sendo a febre o sinal e sintoma mais frequente (53%). O envolvimento osteo-articular foi a focalização mais comum, ocorrendo em 69% dos doentes. A artralgia localizada manifestou-se mais nas crianças do que adultos, com diferenças estatisticamente significativas (FET = 0,011). Em 48% dos doentes, o primeiro Teste de Wright foi 1/320 ou 1/160. Em 9,6% o resultado revelou-se negativo. O tratamento de eleição foi a combinação de doxiciclina com rifampicina (35%). Os doentes foram hospitalizados, com a duração média de internamento de 13 dias.

Conclusão: A brucelose é uma doença de declaração obrigatória não erradicada em Portugal. Quando comparados os dados deste estudo com dados disponibilizados pelo INE, é clara a extensa subnotificação da doença. Os grupos etários da amostra constituem fonte de preocupação, uma vez que 40% dos casos correspondem a crianças e idosos. Foram detectados grupos vulneráveis à infecção, designadamente alcoólicos e toxicodependentes, que podem representar um grupo subdiagnosticado. O rastreio dos familiares em coabitação é um importante passo para a erradicação da brucelose.

Palavras Chave

Brucelose · Febre de Malta · Febre Mediterrânea · *Brucella melitensis* · Manifestações inespecíficas · Serologia · Antibioterapia combinada · Subnotificação · Rastreio

Abstract

Introduction: Human brucellosis is one of the most frequent zoonosis in the world (19). In Portugal, Guarda and Castelo Branco districts occupy the fourth place as more affected regions (7). The disease is transmitted by direct or indirect contact with infected animals. Ingestion of non pasteurized aliments and occupational contact are the dominant means of transmission (42).

Objective: Characterize brucellosis in Centro Hospitalar Cova da Beira-EPE (CHCB-EPE) regarding the affected population, exhibited symptomatology, diagnosis and treatment. Proceed to the comparative analysis of last decade verified cases in CHCB-EPE with those registered in Instituto Nacional de Estatística (INE) and Direcção Geral de Saúde (DGS).

Material and Method: 55 cases of brucellosis have been diagnosed in CHCB-EPE in the last decade. The retrospective study of clinic processes, namely the analysis of the following factors: age, sex, year, month, pre dominant symptomatology, first result of Wright Test and applied treatment.

Results: From the sample, 2,4:1 were males with an average of 43 years old. Manifestations reveal unspecific, being fever the most frequent symptom and sign (53%). The osteoarticular involvement was the most common focalization, seen on 69% of patients. Located arthralgia was seen mostly on children, with statistically significant differences (FET=0,011). On 48% of the patients, the first Wright Test was 1/320 or 1/160. On 9,6% the result was negative. The most chosen treatment was the combination of doxyclyne with rifampicin (53%). The patients were hospitalized for an average period of 13 days.

Conclusion: Brucellosis is a disease of obligatory declaration not eradicated in Portugal. When data of this study is compared with data given by INE, it's obvious the large under notification of the disease. The age groups of the sample are source of concern, once 40% of cases correspond to children and old people. Vulnerable groups to infection were identified, including alcoholics and drug addicts, which may represent a group underdiagnosed. The tracing of family members in cohabitation is an important step towards the eradication of brucellosis.

Keywords

Brucellosis · Malta Fever · Mediterranean Fever · *Brucella melitensis* · Protean manifestations · Serology · Combined antibiotherapy · Under notification · Screening

Capítulo 1

Introdução

1.1 Enquadramento Conceptual

A Brucelose, também designada Febre de Malta, Ondulante, Mediterrânea ou Doença de Bang, é uma zoonose ainda digna de preocupação. Esta doença, caracteristicamente regional e sazonal, está fundamentalmente associada à exposição ocupacional e doméstica (3). A infecção é transmitida através do contacto directo ou indirecto com animais infectados ou pelo consumo de produtos de origem animal. Apesar dos progressos conseguidos em muitos países no sentido de controlar a incidência desta doença, muitas regiões ainda são afectadas por este flagelo (4).

O agente etiológico da Brucelose pertence ao género *Brucella* e é responsável pelo seu carácter infeccioso. A característica mais inquietante é a capacidade de provocar infecção crónica debilitante em humanos e esterilidade em animais (3).

A doença no Homem pode assumir quadros muito variados já amplamente divulgados mas cuja fisiopatologia ainda não está totalmente esclarecida (5). Caracteriza-se por uma doença sistémica que pode comprometer qualquer órgão ou sistema do corpo humano de forma aguda, subaguda ou crónica. Apesar do polimorfismo clínico, a febre é o sintoma de apresentação mais comum (6).

A distribuição mundial que assume é preocupante, com mais de 500.000 infectados anualmente (7). Algumas áreas geográficas apresentam maior risco,

nomeadamente a bacia do Mediterrâneo (Portugal, Espanha, Sul de França, Itália, Grécia, Turquia, Norte de África), América Central e do Sul, Este da Europa, Ásia, África, Caraíbas e Médio Oriente (8). O número de países que oficializaram a erradicação da brucelose é muito reduzido. Mesmo nestes países, ainda estão documentados casos de brucelose em cidadãos imigrantes, provenientes de zonas endémicas (4).

Há cerca de 30 anos, a brucelose era considerada uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade em Portugal. As medidas de combate à infecção, que visam o seu controlo e erradicação (9), têm-se reflectido no decréscimo sistemático da sua notificação. De 1994 até 2002, verificou-se uma diminuição de casos declarados de 1240 para 206, respectivamente. Em virtude de ser das zoonoses com mais impacto a nível nacional, é abrangida desde 1949 pelo sistema de doenças transmissíveis de declaração obrigatória (10).

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), actualmente, mesmo em países desenvolvidos, a verdadeira incidência da brucelose poderá ser cinco ou mais vezes superior à que os números oficiais sugerem. Esta disparidade deve-se não só ao não diagnóstico das formas frustres, mas também ao incumprimento da declaração obrigatória (11). Estudos realizados em 1980 demonstraram que na Califórnia a taxa de notificação foi de apenas 10% (12). Apesar da inexistência de estudos desta natureza em Portugal, as taxas de notificação poderão ser similares às verificadas na Califórnia.

Do ponto de vista de Saúde Pública, a brucelose assume um papel relevante como doença incapacitante que leva ao absentismo laboral e à diminuição do rendimento. Outra preocupação consiste no fabrico de produtos alimentares contaminados, principalmente de proteínas de origem animal (13).

O actual crescente interesse pela brucelose deve-se ao incremento dos fenómenos do turismo e migração, juntamente com o potencial manuseamento da *Brucella* como arma biológica (7).

“A febre mediterrânea está em curso de evolução, com tendência a ser uma doença com grande repercussão, e será uma enfermidade do futuro.”

(Ch. Nicolle, 1905)

1.2 Objectivos da Dissertação de Mestrado

A escolha do tema “Brucelose” esteve inteiramente relacionada com o meu local de formação académica, onde a doença não se limita ao estudo teórico ou “livresco”, sendo também uma realidade manifestada nesta população. A endemia da doença, a dificuldade da sua erradicação e o potencial uso como arma biológica, contribuíram para o meu interesse no desenvolvimento desta temática.

A presente dissertação de mestrado pretende caracterizar a brucelose, quanto às suas variáveis, designadamente incidência, sintomatologia de apresentação, diagnóstico e tratamento, no sentido de enquadrar a doença no Centro Hospitalar Cova da Beira (CHCB) - EPE e contextualizá-la a nível nacional.

A comparação dos dados adquiridos no CHCB-EPE, com os registos fornecidos por entidades como a Direcção Geral de Saúde e o Instituto Nacional de Estatística, poderão servir de alerta quanto à necessidade de maior intervenção a nível dos profissionais de saúde, no sentido de não se negligenciar o diagnóstico de brucelose, nem a sua declaração obrigatória.

Os resultados poderão assumir extrema importância, na consciencialização do verdadeiro impacto a nível socioeconómico e na saúde pública regional. Pretende-se que este tipo de análise seja o ponto de partida, não só para a adopção de novas medidas de saúde pública, mas também para a alteração de medidas já institucionalizadas, que objectivam a erradicação da brucelose.

Relativamente à estruturação geral da tese, inicialmente será apresentada uma revisão teórica sobre a patologia, com alusão ao microrganismo etiológico, à sua interacção com o hospedeiro humano e às suas manifestações como doença.

Posteriormente, serão analisados os dados dos processos dos doentes do CHCB - EPE diagnosticados com a patologia em estudo.

Pretende-se com este trabalho evidenciar uma realidade de forma qualificável e quantificável, no sentido de demonstrar resultados válidos cientificamente que possibilitem a sua generalização e que possam de alguma forma contribuir para a realização de posteriores trabalhos de investigações nesta área.

Capítulo 2

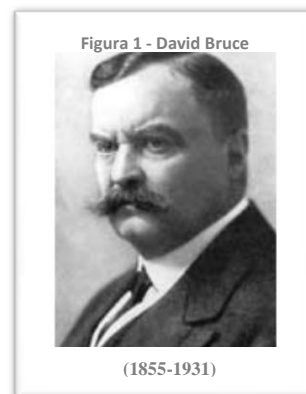
Revisão da Literatura

2.1 Perspectiva Histórica

Desde o tempo de Hipócrates, em **450 a.C.**, era reconhecido um tipo de febre, que se caracterizava por remissões regulares completas ou interrupções (6).

Em **1860**, na ilha Mediterrânea de Malta, o assistente de cirurgia, Marston, elaborou a primeira definição clínica moderna da brucelose, a que chamou febre remitente gástrica Mediterrânea (14, 6).

Ainda na ilha de Malta, em **1887**, o médico militar escocês David Bruce imortalizou-se quando, juntamente com Carrauna-Secluna, isolou e realizou culturas de um microrganismo, extraído do baço de quatro doentes, que teriam morrido de brucelose – *Micrococcus* (14, 6).



Em **1896**, na Dinamarca, Bernhard Bang e Stribolt demonstraram que o aborto epizootico das vacas era provocado por um bacilo, baptizando a doença assim manifestada por doença de Bang (11, 15, 6).

A designação de Febre Ondulante vigorou desde **1897**, proposta por Louis Hughes, até ao aparecimento definitivo do termo brucelose. Hughes estabeleceu o nome da espécie – *melitensis* – quando isolou *Micrococcus melitensis* de tecido cerebral (14).

Etimologicamente, o nome da espécie derivou de Melita (mel), o nome romano para a ilha de Malta (6).

No **mesmo ano**, Wright e Smith detectaram anticorpos do *Micrococcus melitensis* em humanos e em animais, através de testes de aglutinação, sugerindo um potencial zoonótico de transmissão (6).

A necessidade de estudar a doença, assim como o seu meio de transmissão, levou à formação da Comissão da Febre Mediterrânea em **1904** (16), com Bruce como dirigente (17). Faziam ainda parte desta comissão, individualidades como o bacteriologista Themistocles Zammit e William Horrocks, que em pouco tempo também contribuíram significativamente para o conhecimento que temos hoje sobre esta patologia.

Em **1905**, Zammit, juntamente com Carrauna-Secluna, procederam ao isolamento de *Brucella* no sangue de cabras, estabelecendo um dos princípios epidemiológicos mais importantes da patologia infecciosa: o princípio zoonótico, que valorizava o papel dos animais na transmissão da infecção ao ser humano (14).

Simultaneamente, Horrocks isolou o microrganismo no leite (16). Concluindo-se que a cabra era o reservatório de *Micrococcus melitensis*, e o consumo de leite e queijo não cozinhados, infectariam o Homem (6).

A bacteriologista americana Alice Evans, no ano **1918**, publicou informação com evidência de que os microrganismos encontrados nas cabras, não eram passíveis de se diferenciarem morfológicamente, por cultura ou reacções bioquímicas, dos gram-negativos encontrados nas vacas. No entanto, testes de aglutinação e absorção expunham antígenos diferentes. Em **1920**, a mesma bacteriologista, conseguiu demonstrar que a bactéria consistia num bacilo.

Meyer e Shaw confirmaram a demonstração de Evans, e alteraram a designação original (*Micrococcus*) para o nome actual - *Brucella* - em homenagem a David Bruce (6), médico do exército britânico que estudou intensivamente este microrganismo (14).

Lemaire isolou *B. melitensis* no Líquido Céfalo-Raquidiano (LCR) em **1924** e, subsequentemente, a brucelose foi reconhecida como uma doença endémica, em quase todos os países do Mediterrâneo, Índia, China, África do Sul e a maioria dos países da América Central e do Sul (14).

Não obstante a sua necessidade urgente, foi apenas em **1938**, que a pasteurização do leite se tornou um requisito legal em Malta (16).

No decorrer de investigações, foram reconhecidas as restantes espécies do género *Brucella*. Em **1956**, Buddle e Boyce identificaram *B. ovis*, no estudo da causa de epididimite em carneiros. Em **1957**, Stoenner e Lackman isolaram *B. neotomae* de uma espécie de ratos em Utah, nos EUA. Em **1968**, Carmicheal e Bruner descobriram *B. canis* como causa de uma epidemia de abortos em cães de raça “beagles” (6).

Em **1994**, Ewalt e Ross isolaram duas novas espécies de *Brucella* em hospedeiros marinhos, designadas provisoriamente por *B. pinnipediae* e *B. cetaceae* (18, 19).

Em Portugal, Carlos Tavares, em **1893**, descreveu pela primeira vez a doença em humanos, sendo no entanto a doença do conhecimento popular e denominada conforme a região afectada, “Febres da Marinha Grande”, “Febres de Leiria”, “Febres de Santarém” (11). O primeiro estudo documentado de veterinários portugueses surge em **1930** (Viana Conde e Mário Rosa) (11).

Em **1938**, inicia-se o saneamento oficial nos bovinos e caprinos. Apenas em **1980** a Direcção-Geral da Pecuária inicia o saneamento dos ovinos, não havendo ainda hoje saneamento dos efectivos suínos. No entanto, apesar das campanhas oficiais, existem zonas não rastreadas no nosso país (11).

É notável a evolução de conhecimentos no âmbito da brucelose, impulsionada pelo avanço das novas tecnologias, e pelo espírito em busca de novas experiências e resultados em ciência, intrínseco ao ser humano.

Do ponto de vista da biologia molecular e do seu comportamento in vitro, apesar do vasto conhecimento sobre o agente, várias dúvidas persistem acerca da sua actividade in vivo, particularmente ao infectar o homem (5). Neste sentido, é essencial que estudos e investigações se mantenham, no sentido de esclarecer todo o mecanismo patogénico inerente ao género *Brucella*.

2.2 Enquadramento Nacional e Internacional

A incidência de brucelose apresenta uma desigual distribuição mundial, verificando-se incidências superiores em sociedades agrárias, devido ao menor controlo do manuseamento de produtos animais (20).

Tabela 1 – Casos Diagnosticados em vários Países, no Ano de 2006 (19).

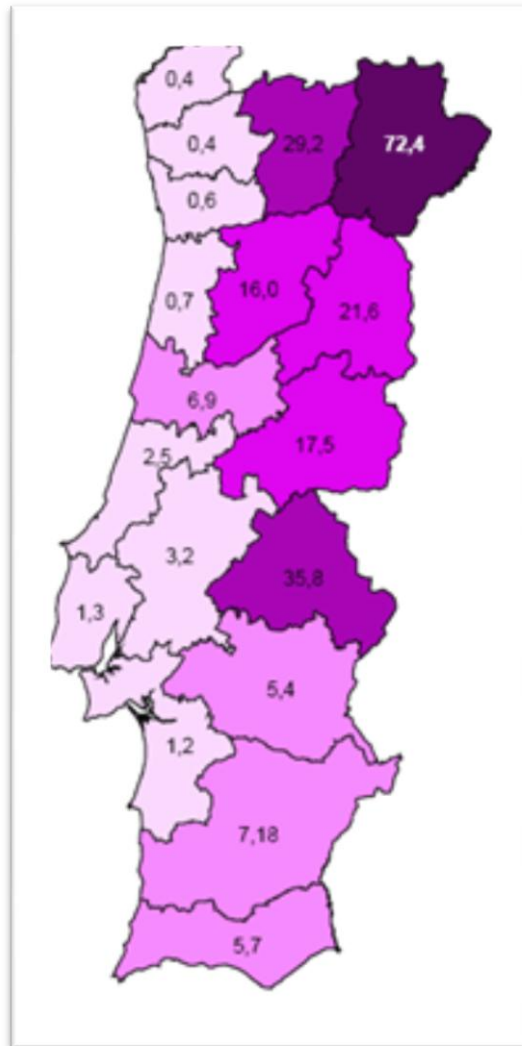
Algéria	2,766
Argentina	325
Austrália	17
Azerbaijão	407
Bósnia-Herzegovina	48
Colômbia	238
Alemanha	27
Grécia	222
Irão	17,765
Israel	56
Itália	520
Jordânia	159
México	3,008
Inglaterra	19
Portugal	139
Espanha	596
Síria	23,297
Tunísia	128
Turquia	14,435
E.U.A.	93

A brucelose humana é das zoonoses mais frequentes a nível mundial. Em termos epidemiológicos sofreu alterações drásticas na última década. Condições sanitárias, socioeconómicas e políticas, assim como um acréscimo das viagens internacionais, favoreceram tais alterações. Enquanto muitas áreas consideradas endémicas, nomeadamente França, Israel e a maior parte da América Latina conseguiram controlar a incidência da infecção, outras como a Ásia Central e alguns países do Médio Oriente lutam actualmente com o crescente número de infectados. A Tabela 1 salienta a

existência de uma alta prevalência em certas áreas geográficas. A prevalência em países Europeus e nos EUA é bem reconhecida, embora largamente subestimada (21).

A nível nacional, as taxas de incidência distritais apresentam uma marcada assimetria. De acordo com a Direcção-Geral da Saúde (DGS) (9), no ano 2000, Bragança foi a região mais afectada, seguindo-se Portalegre e Vila Real. Os distritos da Guarda e de Castelo Branco ocuparam o quarto lugar (Figura 2).

Figura 2 - Taxas de Incidência ($/10^5$) de Brucelose, por Distritos do Continente, no Ano 2000 (9).



2.3 Agente Etiológico

2.3.1 Taxonomia: Estrutura e Metabolismo Celular

Bactérias pertencentes ao género *Brucella* são cocobacilos ou bastonetes curtos Gram-negativos com 0,5 a 0,7 µm de diâmetro e 0,6 a 1,5 µm de comprimento. São observados com maior frequência isolados e, por vezes, em cadeias curtas. In vivo, o seu crescimento é lento e classifica-se de parasita intracelular facultativo, carecido de cápsula, não formador de esporos e sem flagelo na sua estrutura (22, 2).

Tabela 2 – Estrutura Hierárquica da Classificação Científica usada em Biologia (23).	
Nível Taxonómico	
Reino	Bacteria
Filo/ Divisão	Proteobacteria
Classe	Proteobacteria grupo alfa 2
Ordem	Rhizobiales
Família	Brucellaceae
Género	Brucella

No que respeita às características bioquímicas, os microrganismos isolados de humanos são quimiorganotróficos, catalase e oxidase positivos (excepto *B. neotomae* e *B. ovis* que são oxidase-negativas), reduzem o nitrato a nitrito (excepto *B. obis*) e exibem actividade de urease variável. Não utilizam o citrato como única fonte de carbono, não são hemolíticas (23), não acidificam os glúcidos nas condições habituais, não produzem indol e reagem negativamente aos testes de Vermelho de Metilo e de Voges-Proskauer (15, 22). Todas as espécies hidrolizam a ureia, excepto a *B. ovis* (23).

A membrana celular externa assemelha-se à de outros bacilos Gram-negativos e será referida na secção seguinte. O conteúdo guanina-citosina do DNA é de 55-58 moles% (1).

O isolamento de *Brucella* pode conseguir-se com meios vulgares, como por exemplo, agar-tripticase-soja. Actualmente estão comercializados meios de cultura altamente selectivos, sendo o meio de Farrell o mais usado. No entanto, existem algumas espécies com exigências particulares, nomeadamente a *B. ovis*, que requer meios de cultura contendo sangue ou soro sanguíneo (na percentagem de 5 a 10%) (23).

O crescimento do microrganismo em meio sólido necessita de 48 horas de incubação para a visualização das colónias a olho nu. No quarto dia, o diâmetro atinge 1 a 2 mm, que aumenta nos dias seguintes (23). Comporta-se como estritamente aeróbio, com excepção de algumas espécies que exigem dióxido de carbono suplementar no seu crescimento (5-10%). Em meio ágar, o comportamento dos membros do grupo é semelhante, formando-se pequenas colónias convexas, circulares, de bordos nítidos e translúcidas. A temperatura óptima é de 37°C e o pH é de 6.7-7.4 (24). O seu crescimento é estimulado quando é adicionada proteína animal, especialmente extracto de fígado, e quando o meio de cultura tem uma concentração de 25% de glicose (1, 25).

O género *Brucella* contém actualmente seis espécies, *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. neotomae* e *B. ovis* (22), das quais as primeiras quatro estão associadas à brucelose humana (15).

Apesar de existirem algumas evidências serológicas de infecção causada por *B. ovis*, tal não foi relacionado com a doença humana. Relativamente à espécie *B. neotomae*, não existem casos relatados. Considerando a possibilidade deste

microrganismo ser patogénico para o Homem, em consequência da sua raridade e restrita distribuição geográfica, conclui-se ser improvável que provoque infecção (26).

Quanto às espécies anteriormente referidas, no âmbito do seu isolamento em animais marinhos, pouca informação se encontra disponível. Apenas três casos de infecção humana foram literariamente registados. Um dos casos refere-se a um trabalhador de laboratório infectado através de exposição ocupacional, os restantes, a infecções adquiridas na comunidade, com manifestações de granuloma intracerebral (27) e osteomielite espinhal (28).

Actualmente, na sequência de estudos de hibridação de ácidos nucleicos que revelaram alto grau de homogeneidade entre as espécies do género *Brucella*, sugeriu-se que apenas existe uma espécie (*B. melitensis*). As restantes são consideradas variantes biológicas estreitamente relacionadas (biovariantes). A classificação das seis espécies do género *Brucella* numa única espécie é considerada redutora por não esclarecer com precisão as diferenças que se verificam quanto à sua patogenicidade, à preferência do hospedeiro e à história evolutiva. Desta forma, a comunidade científica continua a classificar o género *Brucella* em seis espécies. Artigos de comparação genómica suportam a concepção de uma mesma história evolutiva, de sequências de DNA e distribuição de pseudogenes específicos para cada espécie, justificando as diferenças ao nível da preferência de hospedeiro (29).

Hipoteticamente, as espécies *B. melitensis* e *B. abortus* partilham o mesmo ancestral. A distinção ocorreu há cerca de 20 milhões de anos, quando *artiodactyls* foram submetidos a radiações (30). Reorganizações genómicas, sequências de DNA espécie-específicas e diferentes padrões de inactivação génica sugerem que *B. melitensis* e *B. abortus* partilham a mesma linhagem, que difere da linhagem de *B. suis*.

Efectivamente, *B. melitensis* e *B. abortus* são mais restritos quanto aos seus hospedeiros, enquanto *B. suis* infecta um maior espectro de animais (31).

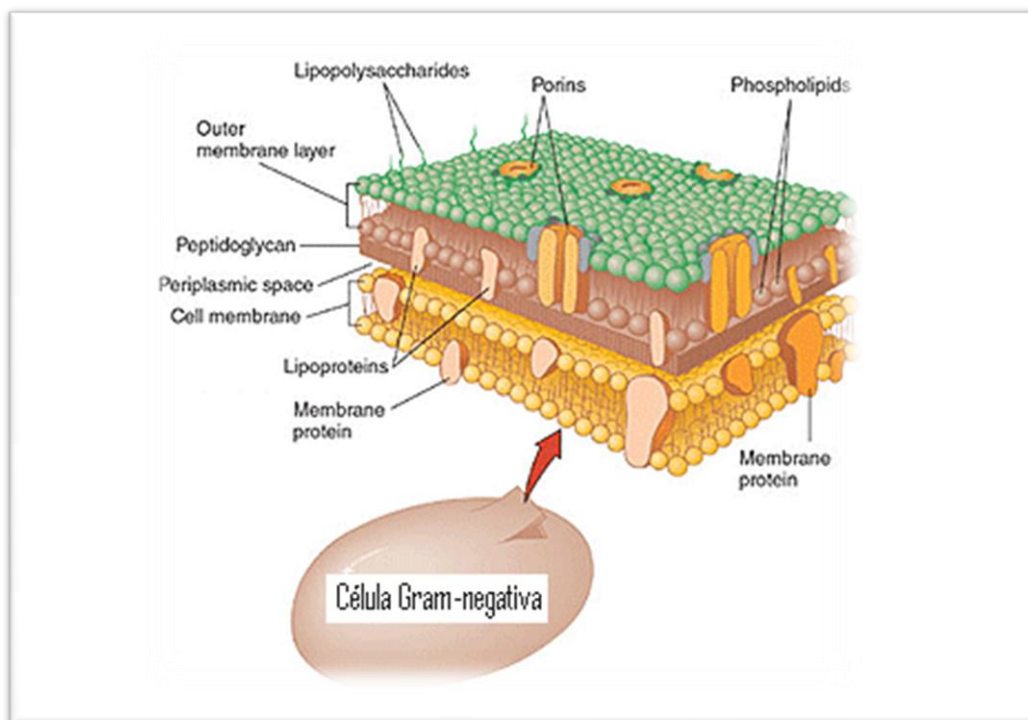
2.3.2 Classificação e Tipagem Antigénica

A estrutura antigénica de um microrganismo diz respeito aos constituintes que induzem uma resposta imune, no decurso do correspondente processo infeccioso. Esta resposta surge em função, entre outros factores, da localização celular e das propriedades moleculares dos antígenos bacterianos (23).

A estrutura dos microrganismos do género *Brucella* corresponde ao esquema geral das bactérias Gram-negativas (Figura 2). A parede celular contém duas camadas externas à membrana citoplasmática. Imediatamente antes desta, existe uma delgada camada de peptidoglicano. Na superfície externa da camada de peptidoglicano encontra-se a membrana externa (exclusiva de Gram-negativos). Esta membrana possui dois folhetos. O folheto to interno contém fosfolípidos, presentes em todas as membranas celulares. O folheto externo é principalmente constituído por uma molécula anfipática, denominada lipopolissacarídeo (LPS) ou endotoxina (15).

No que respeita à expressividade antigénica, embora muitos componentes antigénicos, dos microrganismos do género *Brucella*, tenham sido identificados, o antígeno mais importante, na resposta dos anticorpos é o LPS (6).

Figura 3 - Estrutura da Membrana Celular de Microrganismos Gram-Negativos (72).

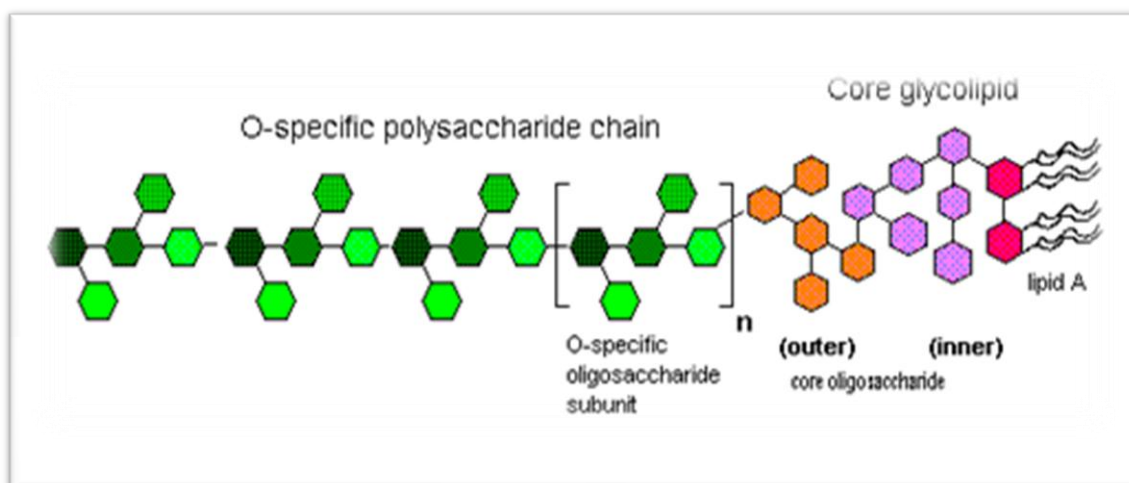


De acordo com o evidenciado na Figura 4, o LPS é constituído por uma parte lipídica (lípidio A), inserida na membrana externa, e outra parte polissacarídea, dirigida para o exterior. A parte polissacarídea pode assumir tamanhos e formas variáveis, verificando-se a existência de estirpes lisas (LPS-S) ou rugosas (LPS-R) e epítomos dos tipos A ou M. A dimensão máxima desta porção é atingida na estirpe LPS-S, constituída por ácidos gordos, uma porção com glucose, manose e quinovosamina, e uma cadeia O, formada por um homopolímero de cerca de 100 resíduos de 4-formamido-4,6-dideoximanose. Nas estirpes rugosas LPS-R, a cadeia somática O está reduzida ou mesmo inexistente, portanto a sua especificidade é determinada essencialmente pela porção polissacarídea (32).

O género *Brucella* tem a particularidade única entre as bactérias Gram-negativas de incluir, além de mutantes rugosas das estirpes lisas (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*

e *B. neotomae*), espécies permanentemente rugosas (*B. ovis* e *B. canis*). Um dos métodos mais utilizados para distinguir as espécies LPS-S das LPS-R consiste na observação das colónias com lupa binocular por transluminação oblíqua, designado por método de Henry. As colónias lisas apresentam uma coloração azulada típica e as rugosas surgem amareladas e granulosas. Um outro método consiste na prova de aglutinação bacteriana em acriflavina neutra a 1/1000, no qual o resultado é positivo para as formas rugosas (há aglutinação), e negativo para as lisas (não há aglutinação) (23, 33).

Figura 4 - Estrutura Molecular do LPS (73).



Alterações decorrentes ao nível das ligações moleculares da cadeia O influenciam o tipo e a forma dos epítomos do LPS-S. O tipo A-dominante tem uma forma arredondada, sendo determinada por cinco α -1,2 resíduos ligados consecutivamente. O tipo M dominante apresenta-se torcido e é determinado por quatro resíduos, incluindo uma ligação α -1,3 (32).

Apesar das biovars de estirpes lisas conterem os antígenos de Wilson e Miles, A e M, comuns às várias espécies de *Brucella*, a distribuição é desigual, o que permite diferenciar as várias espécies e biovars do género (23). A subdivisão em biovars é

então essencial pelas suas diferentes características bioquímicas e/ou comportamentais, frente a soros monoespecíficos (A e M) (22). Neste sentido, *B. melitensis*, *B. abortus* e *B. suis* possuem dois antígenos de superfície em comum - os antígenos A e M. Sendo que, o antígeno A está mais concentrado na espécie *B. abortus*, o antígeno M é mais expresso na *B. melitensis*. *B. canis* é antígenicamente distinta (15).

O Homem é susceptível a *B. melitensis*, a *B. abortus*, a *B. suis* e de forma esporádica a *B. canis*. Na Tabela 3 estão representadas algumas características que diferenciam as espécies com relevância patológica no ser humano, bem como as diferenças entre as biovars das respectivas espécies (23).

Apesar da extrema importância do LPS é necessário fazer referência a outros antígenos, por assumirem relevância em provas de diagnóstico imunológico e na actividade protectora das vacinas. Com interesse em determinados diagnósticos serológicos, é importante mencionar o Hapteno Nativo (HN), obtido a partir de estirpes de *B. melitensis* de biovar 1, e o Polissacarídeo B, obtido a partir de uma estirpe rugosa de *B. melitensis*. As Proteínas da Membrana Externa também são marcantes, distribuindo-se em função do seu peso molecular por três grupos: Grupo 1 entre 88 e 94 kDa (função ainda desconhecida), Grupo 2 entre 41 e 43 kDa (equivalentes às porinas de outras bactérias Gram-negativas) e o Grupo 3 entre 25 e 31 kDa (semelhante à proteína OmpA de *E.coli*) (23).

O isolamento de uma estirpe de *Brucella* implica a sua identificação. O conhecimento da espécie e da biovar de uma dada estirpe assume um papel indispensável para a análise epidemiológica das fontes de infecção.

Tabela 3 - Características Diferenciais das Biovariedades de *Brucella* (1, 2).

Espécies	Biovar	Necessidade de CO ₂	Produção de H ₂ S	Aglutinação com Soros ¹			Crescimento em corantes		Reservatório animal
				A	M	R	Fucsina Básica 20µg/ml	Tionina 20µg/ml	
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	-	+	-	+	+	Ovelhas, cabras, carneiros, camelos
	2	-	-	+	-	-	+	+	
	3	-	-	+	+	-	+	+	
<i>B. abortus</i>	1	+	+	+	-	-	+	-	Gado vacum (bois, vacas, touros, vitelos), búfalos
	2	+	+	+	-	-	-	-	
	3	+	+	+	-	-	+	+	
	4	+	+	-	+	-	+	-	
	5	-	-	-	+	-	+	+	
	6	-	-	+	-	-	+	+	
	9	±	+	-	+	-	+	+	
<i>B. suis</i>	1	-	+	+	-	-	-	+	Suíno
	2	-	-	+	-	-	-	+	Suíno, lebres
	3	-	-	+	-	-	+	+	Suíno
	4	-	-	+	+	-	-	+	Renas
	5	-	-	-	+	-	-	+	Roedores selvagens
<i>B. canis</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	Cães

¹ A: anti-soro contra *B. abortus*; M: anti-soro contra *B. melitensis*; R: soro anti-rugoso; (+): positivo; (-): negativo.

2.4 Mecanismos de Patogenicidade: Interação Parasita-Hospedeiro

2.4.1 Reservatório da Infecção

A classificação da brucelose como uma zoonose identifica-a como uma doença infecciosa transmissível em condições naturais, dos animais vertebrados ao Homem e vice-versa (34). Actualmente está comprovado que os reservatórios desta infecção são animais infectados. As espécies animais responsáveis pela contaminação do humano são aquelas com que contacta, nomeadamente gado, ovelhas, cabras e porcos. Outras, incluindo camelos, cães, cavalos, búfalos, renas e iaques, são consideradas menos relevantes, embora possam ser reservatório importante em regiões específicas em função da cultura, hábitos, costumes e condições sanitárias. Recentemente, o isolamento da bactéria em animais marinhos alertou para este novo reservatório (4).

O conhecimento da fonte da infecção é essencial, no sentido de prevenir a exposição face ao animal infectado, e conseqüentemente, impedir a infecção no ser humano. Cada espécie corresponde a hospedeiros específicos, sendo caracterizada por manifestações próprias.

B. melitensis é reconhecida como a espécie com maior impacto na infecção humana, adicionalmente é também a mais prevalente (7). É a espécie que mais provoca doença sintomática, classificando-se a severidade de leve a severa, muitas vezes com complicações (2, 14). Os hospedeiros preferenciais são ovelhas e cabras, embora possa também infectar gado, carneiros, cães e camelos. A infecção bovina merece especial atenção, uma vez que um único animal pode produzir uma grande quantidade de leite

infectado, assim como conduzir a contaminação ambiental significativa, apenas através de um aborto ou nascido vivo infectado (4).

A espécie mais amplamente distribuída ao nível mundial é a *B. abortus* (14). Relativamente à infecção no Homem, investigações recentes não relataram diferenças clínicas entre a doença causada por *B. abortus* e por *B. melitensis*, embora a primeira raramente complique (35). Apesar da similaridade clínica, as preferências do hospedeiro diferem, salientando-se que a *B. abortus* infecta principalmente gado vacum (2, 7). Búfalos, camelos, cães e ianques também são relevantes focos de infecção em algumas áreas geográficas (4).

Contrariamente a *B. abortus* e *B. canis*, *B. suis* provoca doença grave de curso prolongado, muitas vezes associado a lesões destrutivas supurativas (7). A fonte e virulência do microrganismo depende da biovar. Biovares 1, 2 e 3 estão associados a suínos e no caso da biovar 2 também a lebres. As biovares 1 e 3 apresentam alta virulência sendo susceptível de causar doença severa. A biovar 4 raramente foi associado a infecção no humano, quanto à biovar 5 nunca foi relatada (4).

B. canis produz infecção indistinguível da causada por *B. abortus*, embora menos prevalente. As manifestações clínicas, de início insidioso, provocam frequentes recaídas, não causando doença crónica. Tal como o nome indica, o reservatório é o cão (7).

Embora sem relevância na brucelose humana, é de referir que as espécies *B. ovis* e *B. neotomae* podem estar presentes em ovinos e roedores do deserto, respectivamente (1).

Apesar do amplo espectro de espécies animais que podem constituir reservatório da infecção, a grande preocupação recai sobre os animais domésticos, porque quando

infectados são os principais responsáveis pela transmissão e perpetuação da infecção (36, 14).

2.4.2 Transmissão da Brucelose para Humanos

Na brucelose humana, os casos diagnosticados no mesmo espaço de tempo, devem fazer suspeitar de uma fonte externa comum de infecção (37).

A transmissão da infecção causada por *Brucella*, numa dada região, depende de vários factores, nomeadamente dos hábitos alimentares, métodos de processamento do leite e seus derivados, costumes sociais, práticas pecuárias, condições climatéricas, estatuto socioeconómico e higiene ambiental (6).

2.4.2.1 Meios de Transmissão

O microrganismo pode aceder ao corpo humano através de várias portas de entrada, no entanto, a sua identificação é muitas vezes dificultada pelo carácter sistémico da brucelose (1). Em 60% dos casos a contaminação dá-se por contacto directo com animais ou carcaças infectadas. A transmissão pode ainda ocorrer através do contacto directo com secreções infectadas por soluções de continuidade cutâneas e membranas mucosas, designadamente inoculação no saco conjuntival, aerossóis contaminados ou sistemas gastrointestinal e geniturinário. A ingestão do microrganismo e a sua entrada na corrente sanguínea através do tracto gastrointestinal é responsável por

25% dos casos. No caso de veterinários e microbiologistas, a injeção parenteral, também deve ser considerada uma possível via de transmissão (14, 11).

Tabela 4 - Virulência Humana das Diferentes Espécies de *Brucella* (19).

Espécie	Virulência humana¹
<i>B. melitensis</i>	++++
<i>B. abortus</i>	++ a +++
<i>B. suis</i>	+
<i>B. canis</i>	+
<i>B. ovis</i>	-
<i>B. neotomae</i>	-
<i>B. pinnipediae e B. cetaceae</i>	+

¹A virulência é classificada numa escala de virulência máxima (++++) a nula (-).

Após exposição ao microrganismo há uma grande probabilidade de ocorrer infecção. A dose infecciosa de *Brucella*, sobretudo a de *B. melitensis*, é de tal forma baixa, que cerca de 10 microrganismos são suficientes para conduzir à infecção. Na Tabela 4 estão demonstrados os diferentes graus de virulência das espécies, evidenciando a superioridade da *B. melitensis* relativamente às restantes espécies do género. O período de incubação prolonga-se entre sete dias a três meses, embora tenham sido descritos casos com período de incubação de dez meses (6).

2.4.2.2 Transmissão Pessoa-Pessoa

A transmissão de pessoa para pessoa é possível, contudo, extremamente rara (32).

Reconhecem-se como possíveis meios de transmissão a transplantação de tecidos, o aleitamento materno e o contacto sexual e intra-uterino (38, 39, 40).

A doação de sangue e a transplantação de tecidos, sobretudo de medula óssea, constituem as principais ameaças na transmissão pessoa a pessoa. Segundo a OMS, sangue e tecidos de doadores com história recente de brucelose, devem ser rastreados a fim de evitar este tipo de transmissão.

2.4.2.3 Transmissão através de Produtos Alimentares

Nas últimas décadas a brucelose sofreu uma alteração significativa. Deixou de ser considerada, essencialmente uma doença ocupacional, passando a ser identificada principalmente como uma infecção transmitida através da alimentação (41). No mesmo sentido, em 2003, Kozukeev, Ajeilat, Maes, & Favorov, reconheceram a ingestão de leite não aquecido adequadamente ou de produtos frescos originados de vacas, pequenos ruminantes ou camelos, como as principais fontes de infecção humana.

A permanência da *Brucella* em leite cru e queijo fresco não pasteurizado é de duas semanas a três meses. A temperaturas abaixo de 5°C, o crescimento e multiplicação da bactéria é inibido, condicionando assim a sua viabilidade. No entanto sobrevive mesmo a temperaturas de congelação, com a capacidade de resistir no leite

conservado no frio até quinze dias. Outra condicionante da viabilidade da *Brucella* é a acidez, que não resiste quando o pH atinge valores inferiores a 4. No decurso do processo de pasteurização, a *Brucella* é destruída em quinze segundos à temperatura de 72°C, e em três minutos à temperatura de 62/63°C (11).

Manteiga e gelados preparados a partir de leite contaminado constituem factores de risco na transmissão da infecção. O caso particular do requeijão de leite de ovelha ou cabra, com adição de coalho, é uma fonte frequente de infecção em países do Mediterrâneo e Médio Oriente. Nestas condições a bactéria sobrevive no requeijão até trinta dias. Caso o leite seja obtido por acidificação, sem a adição de coalho, a viabilidade do microrganismo é comprometida (4).

A ingestão de carne infectada, insuficientemente cozinhada, é também considerada uma fonte de infecção (42). O pequeno número de bactérias por grama de músculo, e a escassez com que a carne é ingerida crua, promove a raridade deste tipo de transmissão. No entanto, a *Brucella* pode persistir nas células do Sistema Retículo-Endotelial (SER), nas secreções uterinas, na glândula mamária e na medula óssea, levando à contaminação da carne, aquando do abate e evisceração das carcaças. Na carne, a *Brucella* pode manter-se viável durante meses, sendo pouco afectada pela acidificação muscular, sobretudo quando esta é conservada em refrigeração ou congelação. Tal como no leite, o tratamento térmico é fundamental, assim como a adopção de medidas de higiene rigorosas, durante situações de risco (36).

A ingestão de vegetais crus, água de cisternas e de poços contaminados por secreções de animais infectados é também possível fonte de infecção (43). Há referência de um caso de brucelose humana em Portugal, mais especificamente na região de Castelo Branco, por ingestão de vegetais, ocorrido no ano de 1991 (44).

2.4.2.4 Transmissão através do Ambiente Contaminado

A transmissão através do ambiente contaminado é difícil de documentar e conseqüentemente mais frequente que a constatada. Animais infectados que atravessam áreas populacionais ou que são mantidos na proximidade podem constituir uma fonte importante de infecção através das suas secreções e material abortado. O aborto consiste numa das principais manifestações da brucelose animal, verificando-se no material expelido uma grande concentração de microrganismos. Quando exposto ao humano traduz-se na subsequente contaminação.

A *Brucella* pode sobreviver por longos períodos no solo, pó, fezes, fetos abortados, carne e produtos frescos. Pode resistir até seis semanas em solo seco contaminado com urina, corrimento vaginal, placenta ou tecidos fetais infectados e até seis meses, em solo húmido ou estrume líquido, mantidos em condições frias e escuras (2). A duração precisa da sobrevivência, depende da natureza do substrato, número de microrganismos, temperatura, pH, luz solar e da presença de outros microrganismos (4).

2.4.2.5 Exposição Ocupacional

Segundo Godfroi (42), cumulativamente à ingestão de alimentos contaminados, o contacto ocupacional também ocupa o primeiro lugar, quanto a situações que estão associadas a maior risco de infecção. A maioria dos doentes com brucelose estão ligados a profissões de risco, designadamente pastores, veterinários, técnicos auxiliares das brigadas de campo, talhantes, ordenhadores, inseminadores, comerciantes de gado, caçadores, trabalhadores dos matadouros, trabalhadores de fábricas de enchidos,

conservas de carne, queijarias e laboratórios (11). A cada profissão está inerente uma série de riscos, que se relacionam com o tipo de contacto com o microrganismo e com as medidas comportamentais do trabalhador.

Frequentemente as condições de vida e a rotina familiar impossibilitam separar a exposição doméstica da ocupacional. As famílias de agricultores e criadores de gado mantêm contacto directo com os animais, muitas vezes no próprio quintal ou mesmo dentro de casa. Esta proximidade favorece o contacto com animais abortados e o uso de esterco seco como combustível, os quais podem constituir uma ameaça para toda a família (4).

As crianças representam um grupo particularmente vulnerável, cuja infecção pode ter origem num animal doente, que tenha sido adoptado como animal de estimação. Este grupo de risco pode ser o único na comunidade a apresentar sintomatologia aguda (4). Segundo Almuneef (45), o rastreio de todos os moradores da casa dos indivíduos infectados constitui um importante passo epidemiológico na erradicação da brucelose.

Os trabalhadores de laboratórios fazem parte de outro grupo de risco. A nível mundial, 2% de todos os casos de brucelose humana são adquiridos no laboratório (46). O principal veículo de transmissão é a inalação de aerossóis, produzidos acidentalmente, por técnicas microbiológicas (42). A OMS classificou a bactéria de grau III no Manual de Biossegurança em Laboratório (1983). A elevada virulência do microrganismo condiciona os procedimentos de diagnóstico da brucelose a serem realizados em câmaras de fluxo laminar de tipo II ou III (23). Medidas de segurança devem ser tomadas, no sentido de considerar que qualquer amostra que chegue ao laboratório, possa ser uma estirpe do género *Brucella*. Injecções acidentais de vacinas

vivas (*B. abortus* S19 e *B. melitensis* Rev 1), também estão documentadas, como fonte de infecção adquirida no laboratório (4).

2.4.3 Fisiopatologia

A doença resulta da interacção do parasita com o seu hospedeiro. Neste processo, os mecanismos de patogenicidade – que incluem a expressão *in vivo* de variados factores de virulência – tentam superar a resposta induzida pelo hospedeiro. Com a evolução, na interacção microrganismo-hospedeiro, há alterações genéticas no microrganismo que favorecem a sua adaptação ao microambiente, resultando numa diversidade fenotípica e genotípica e um contacto com sucesso (47).

O mecanismo patogénico da *Brucella* aquando a sua interacção com o hospedeiro difere de outros microrganismos. A bactéria não apresenta factores de virulência clássicos relativamente às características de exotoxinas, endotoxinas e à patogenicidade do LPS. Tem a capacidade de invadir e persistir no hospedeiro humano, através da inibição da apoptose (19).

O LPS-S tem um papel fundamental na sobrevivência intracelular. Apresenta uma baixa toxicidade para os macrófagos, baixa pirogenicidade - o que justifica a inexistência de febre alta na brucelose - e baixa actividade ferropénica. É também um fraco indutor do interferão (IFN) e do Factor de Necrose Tumoral (FNT), paradoxalmente é um indutor da interleucina 12 e dos linfócitos Th1 (48, 49).

Os microrganismos têm a capacidade de infectar células fagocitárias e não fagocitárias, nomeadamente células epiteliais, tecido respiratório, neurónios e tecido do sistema reprodutor feminino e masculino (47).

Após a invasão da mucosa pelo microrganismo, a resposta imune inata é activada, mediando a activação dos macrófagos e leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos), na fagocitose do mesmo. Tal como num processo de fagocitose clássico, o

microrganismo é incluído num vacúolo, denominado fagossoma. Este funde-se com lisossomas, originando o fagolisossoma. Ocorre acidificação do espaço, com consequente formação de mediadores da morte celular, nomeadamente, metabólitos reactivos de oxigénio e nitrogénio. Concomitantemente, as enzimas hidrolíticas do lisossoma são activadas acelerando o processo de destruição e, posteriormente, eliminam o material através de exocitose (50).

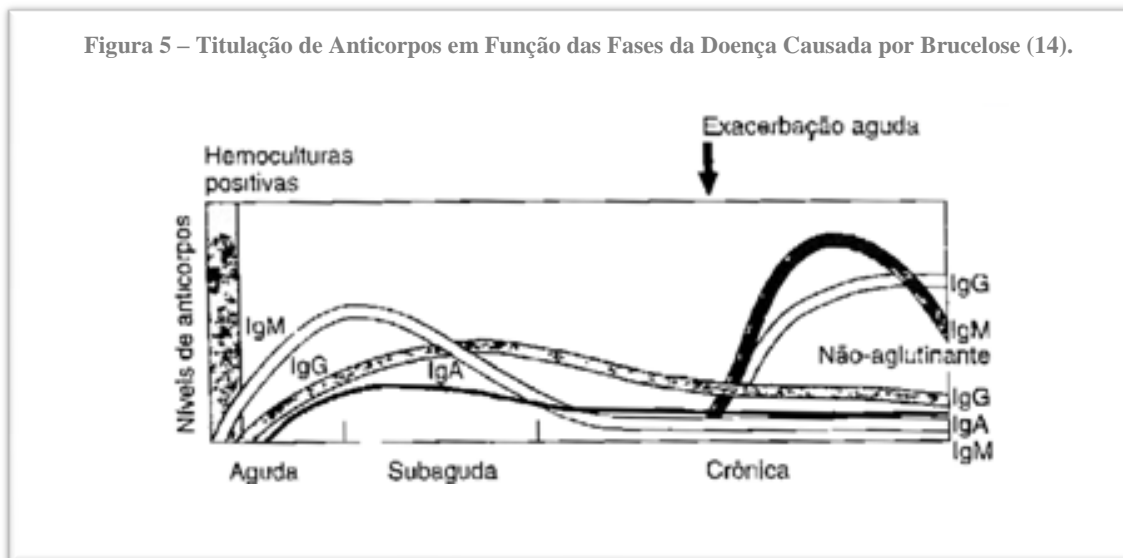
Diferenças a nível da virulência das diversas estirpes reflectem-se após a fagocitose. Enquanto a maioria das bactérias do género *Brucella* rapidamente são eliminadas na fusão do fagolisossoma, 15 a 30% sobrevivem (51). A produção de adenina e guanina monofosfato determina a inibição da fusão de fagolisossomas, da desgranulação, da actividade do sistema de Zn-Cu-superóxido dismutante e da produção de FNT (36). Associada à inibição da fusão do fagossoma com o lisossoma, ocorre transição das bactérias para uma estrutura multimembranar proveniente do Retículo Endoplasmático (RE) rugoso, conhecida como autofagossoma. Nestes compartimentos, a síntese de proteínas induzidas pelo stress, especialmente a de 24kDa, acidificam o meio ($\text{pH} < 4$) e contribuem significativamente para a sobrevivência da bactéria. Este mecanismo de protecção ainda não foi esclarecido, sendo contudo reconhecido como o responsável pela limitação da acção antibiótica e pela discrepância entre os estudos elaborados *in vitro* e *in vivo* (52, 6).

Estirpes virulentas conseguem alcançar o SRE, onde se multiplicam, sem afectar a integridade celular do hospedeiro. A fase de infecção e replicação no macrófago pode subsistir por longos períodos de tempo, determinando a cronicidade do processo (47). Após esta fase de replicação, os microrganismos são libertados através de hemolisinas sendo induzida a necrose celular (19).

A inibição do FNT- α pela bactéria interrompe o efeito bactericida das células *Natural-Killer* (NK) e dos macrófagos. Em contraste, a produção de INF- γ induz um efeito bactericida directo através das células NK e dos linfócitos T e, indirectamente, através da estimulação do macrófago (19).

A produção de anticorpos por linfócitos B também é activada, embora exerça um papel menos importante na resposta imunitária. Os níveis de Imunoglobulinas M (IgM) começam a subir a partir da primeira semana de infecção, atingindo o seu pico em aproximadamente um mês (Figura 5). Na segunda semana, os níveis de IgG começam a ser detectáveis. Posteriormente os níveis de IgG diminuem, mesmo na doença não tratada. Os níveis de IgM podem permanecer elevados durante anos. Se após a diminuição dos níveis de IgG for notada uma nova subida, sem alteração apreciável das IgM, há forte sugestão de uma recaída da doença. A IgA é produzida tardiamente e os seus títulos podem permanecer positivos por longos períodos. A cura é aferida pela diminuição progressiva dos títulos de IgG, enquanto a infecção localizada é caracterizada pela persistência de altos níveis de IgG (14, 53).

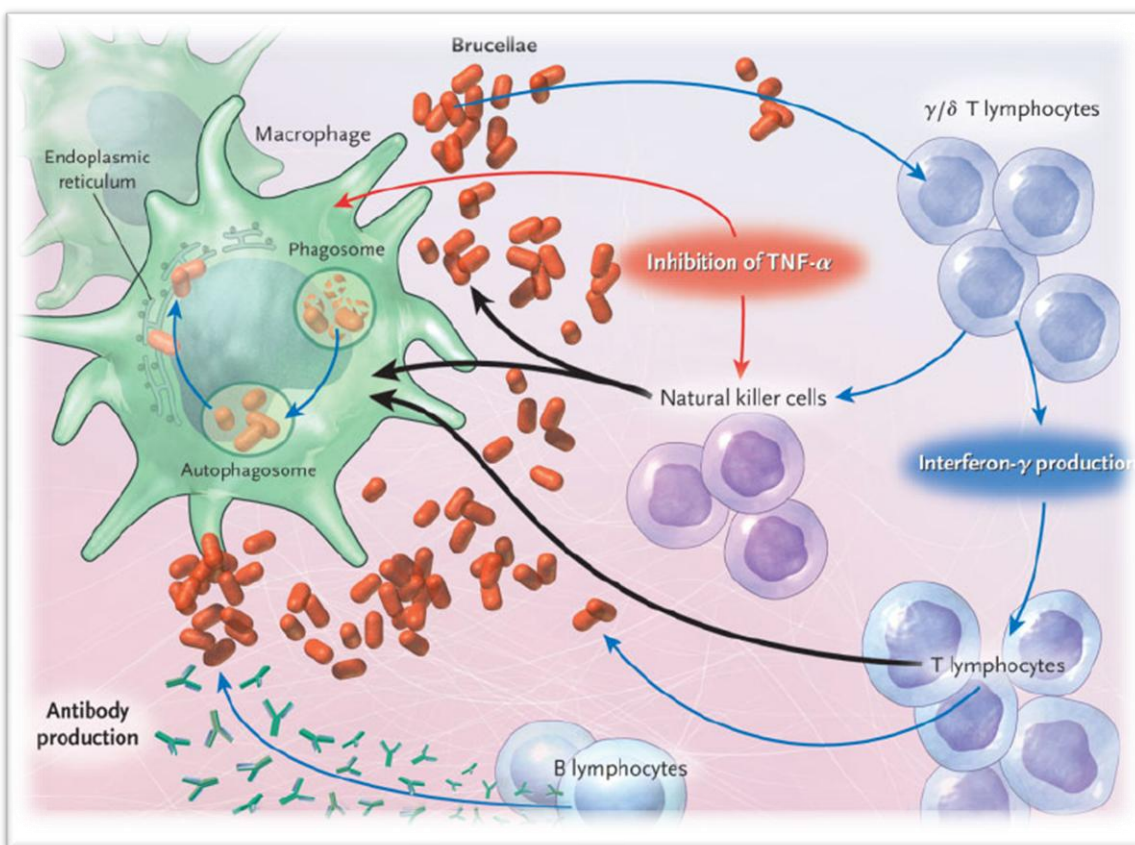
Figura 5 – Titulação de Anticorpos em Função das Fases da Doença Causada por Brucelose (14).



A acção dos linfócitos T inclui os auxiliares e os citotóxicos, consoante a fase da doença em que o indivíduo se encontra (Figura 6) (19).

Após a entrada do microrganismo no corpo e reconhecidos por linfócitos do tecido no local, as bactérias são transferidas até aos nódulos linfáticos regionais. A afectação dos nódulos linfáticos converte-os em hemorrágicos, resultando em bacteriémia, o que facilita a disseminação por todo o corpo (com tropismo para o SRE). O período de inoculação dura entre duas a quatro semanas (54, 19).

Figura 6 - Representação Esquemática dos Principais Eventos Relativos à Patogénese da Brucelose (19).



Setas vermelhas indicam efeito negativo, setas azuis efeito positivo e setas pretas destruição.

2.5 Diagnóstico

2.5.1 Classificação das Formas Clínicas de Brucelose

A brucelose pode provocar vários sintomas, porém nenhum é suficientemente específico para suportar o diagnóstico. Há por isso necessidade de um alto nível de suspeição por parte do profissional de saúde. De acordo com as manifestações clínicas, a infecção pode ser classificada de subclínica, aguda, subaguda ou crónica (Tabela 5). As formas localizada e recidivante também foram descritas. Este sistema de classificação é subjectivo e de uso limitado na prática clínica.

Tabela 5 - Classificação das Formas Clínicas da Brucelose (7; 4).	
Forma Clínica	Características
Subclínica	Doença normalmente assintomática; Diagnóstico feito através de rastreio serológico a pessoas com elevado risco de infecção.
Aguda ou Subaguda	Doença pode ser leve e auto-limitada (<i>B. abortus</i>) ou fulminante com complicações severas (<i>B. melitensis</i>); Os sintomas associados podem estar presentes de 2-3 meses ou de 3-12 meses, respectivamente, antes de ser realizado o diagnóstico.
Crónica	Doença diagnosticada após 1 ano dos sintomas estarem presentes; Os resultados serológicos e culturais podem ser negativos; Muitas vezes resulta de terapia inicial inadequada.
Localizada	Típico de doentes com infecção aguda/ crónica não tratada; Culturas do tecido envolvido e serologias (título de IgG persistentemente elevados) podem fazer o diagnóstico.
Recidivante	Difícil de distinguir da reinfeção; Infecção pela mesma estirpe de <i>Brucella</i> ; Os sintomas de apresentação reflectem a doença aguda, embora sejam mais severos e se manifestem 2-3 meses após completar o tratamento; Serologias podem ser positivas (título de IgG elevados); culturas são positivas e o teste ELISA pode ser o mais eficiente para o diagnóstico; O tratamento da recidiva pode ser o mesmo que o inicialmente preconizado.
Convalescença Tardia	Definido por persistência de sintomas, sem sinais objectivos de infecção (febre), em pacientes que completaram o tratamento; Os títulos de anticorpos diminuíram ou desapareceram; Alguns doentes não beneficiam com repetição de antibioterapia.
Reinfecção	Infecção de “novo” em doente recentemente infectado; Provocada por outro agente patogénico.

2.5.1.1 Brucelose Aguda e Subaguda

Em cerca de 50% dos casos (4) a doença manifesta-se através de formas de evolução aguda, correspondentes à primo-infecção (36). A gravidade da doença varia de leve a severa. Quando a doença é leve, as manifestações podem persistir alguns dias. Na fase aguda dos casos severos, as manifestações podem perdurar semanas a meses (14). Geralmente a evolução é insidiosa, caracterizando-se pela tríade sintomática de febre, sudação profusa e dor (36). Na Tabela 6 estão representados os sinais e os sintomas mais frequentes da brucelose.

A febre é o sintoma e sinal mais comum da brucelose. É intermitente em 60% dos doentes com brucelose aguda, e ondulante irregular em 60% dos doentes com a forma subaguda (7). A febre é alta (superior a 38°C), caracteristicamente com acentuação vespertina, prolongando-se durante a noite, com períodos de remissão matinal (36). Esta manifestação pode estar associada com bradicardia relativa e em 80% dos casos é acompanhada de arrepios (7). A severidade e duração são reduzidas com o descanso no leito. Quanto à febre produzida pela espécie mais frequente, *B. melitensis*, caracteriza-se por uma duração de 10-30 dias, de padrão ondulante irregular e não é acompanhada por exantema (14).

A sudorese é profusa, predominantemente nocturna. O cheiro activo e desagradável é praticamente patognomónico da infecção (36, 19).

Tabela 6 - Sinais e Sintomas de 500 Doentes Diagnosticados com Brucelose por *B. melitensis* (4).

Sinais e Sintomas	Número de doentes	Porcentagem
Febre	464	93
Arrepios	410	82
Sudorese	437	87
Dor	457	91
Astenia	473	95
Dor Dorsal e Articular	431	86
Artrite	202	40
Hiperestesia Álgica	241	48
Cefaleias	403	81
Anorexia	388	78
Emagrecimento	326	65
Obstipação	234	47
Dor Abdominal	225	45
Diarreia	34	7
Tosse	122	24
Dor Testicular/ Epididimorquite	62	21 ^a
Exantema	72	14
Alterações do Sono	185	37
Aparência de Doente	127	25
Palidez	110	22
Linfadenopatia	160	32
Esplenomegalia	125	25
Hepatomegalia	97	19
Icterícia	6	1
Alterações no SNC	20	4
Sopro Cardíaco	17	3
Pneumonia	7	1

^a amostra total masculina de 290 homens.

A falta de terapia adequada na fase aguda pode resultar na fixação da bactéria em vários tecidos (6). O envolvimento articular e ósseo é a complicação mais comum, ocorrendo em mais de 40% dos casos. Uma variedade de síndromes foi identificada, nomeadamente sacroileíte, espondilite, osteomielite, artrite periférica, bursite e tenosinovite (4).

Segundo Mantur, Amarnath e Shinde (6), a artrite periférica é a mais frequente, manifestando-se de forma não erosiva, com frequente envolvimento dos joelhos, ancas, tornozelos e pulsos no contexto da infecção aguda (6).

De acordo com Corbel (4), a sacroileíte é especialmente comum. Os doentes apresentam-se muitas vezes com febre e dor dorsal, com irradiação pelo membro inferior (ciatalgia). As crianças podem-se recusar a andar e a suportar peso na extremidade. Com a evolução da infecção, a Tomografia Axial Computorizada (TAC) e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) detectam o estreitamento do espaço intervertebral (4).

A osteomielite é uma lesão que ocorre predominantemente na coluna vertebral (segmento lombar), que evolui para espondilodiscite com lesões erosivas, com ou sem formação de abscessos paravertebrais e posterior fusão dos corpos vertebrais (36). Os abscessos paravertebrais são menos comuns do que na tuberculose espinhal. A espondilodiscite pode ser facilmente diagnosticada através de uma radiografia vertebral, onde é observado o sinal de “Pons” (erosão “steplike” na margem vertebral antero-superior) (19). Na TAC da coluna vertebral observam-se alterações típicas ou sugestivas de osteomielite, antecedendo assim a sua documentação na radiografia convencional. Embora esteja provada esta superioridade da TAC, em doentes com abscesso epidural pode ocorrer um número elevado de falsos negativos. A RMN constitui a técnica

radiológica mais sensível e específica para detectar osteomielite vertebral (36). Foi descrita a espondiloartropatia pós-infecção, com envolvimento de múltiplas articulações, resultante dos complexos imunes em circulação (4).

O sistema reprodutivo é o segundo local de afectação na brucelose. Caso se manifeste por epididimorquite, pode ser difícil a diferenciação de uma doença local (19), como neoplasia ou tuberculose (6). O efeito da inflamação local na função testicular ainda não é clara (19). Grávidas com brucelose activa apresentam uma incidência marcadamente elevada de abortos espontâneos no primeiro e no segundo trimestre da gravidez (55, 19). Adicionalmente, há um risco substancial de transmissão intrauterina (6).

O fígado, maior órgão do SRE, é afectado na maioria dos doentes, apesar das provas de função hepática se apresentarem normais ou levemente aumentadas (6, 4, 36). Abscessos hepáticos e icterícia são raros (19). As lesões mais comuns correspondem a inflamação difusa, similar à observada nas hepatites víricas (36), no entanto, numa amostra de biopsia local podem ser identificados granulomas. Na maioria dos doentes, há desenvolvimento de ascite, seja por exacerbação de doença hepática preexistente, ou por peritonite (19). A antibioterapia leva à resolução das lesões hepáticas, raramente evoluindo para cirrose (36).

Quando a brucelose é transmitida através da alimentação, assemelha-se à febre tifóide, embora as manifestações sistémicas se sobreponham às gastrointestinais. Alguns autores identificam a *Brucella* como possível etiologia de colecistite aguda e crónica, ileíte, colite (4), pancreite e peritonite bacteriana espontânea (36, 4).

A neurobrucelose refere-se a uma variedade de complicações neurológicas associadas à brucelose. Apesar da depressão ser frequente nesta doença, a invasão

directa do Sistema Nervoso Central (SNC) ocorre em apenas 5% dos casos. As consequências mais frequentes são a meningite (ocorrendo rigidez na nuca em menos de 50% dos casos) e a meningoencefalite (4). Pode também ocorrer meningorradiculonevrite, meningomielite, lesão de pares cranianos (preferencialmente o VIII par) (36), abscessos cerebrais ou síndromes desmielinizantes (6). Embora a neurobrucelose seja mais comum na fase crónica da doença, também pode ser responsável pelos sintomas de apresentação (4). O diagnóstico é feito por titulação de anticorpos no LCR (36)(Tabela 7).

Tabela 7 - Avaliação Laboratorial do LCR de Doentes com Neurobrucelose (36; 19).					
	Glicorraquia	Proteinorraquia	Linfócitos	Exame Bacteriológico directo	Exame Cultural
Níveis no LCR	N / ↓↓	↑↑	↑↑	-	+ (em 25% dos doentes)
N: normais, ↑↑: elevados, ↓↓: diminuídos, -: negativos, +: positivos.					

As complicações cardiovasculares assumem extrema importância. Apesar da endocardite infecciosa ser uma complicação rara, é a principal causa de morte por brucelose (56, 57). A incidência global estimada é de 2%. Pode haver comprometimento de válvulas nativas ou protésicas, com envolvimento da válvula aórtica mais frequentemente do que a mitral. A doença evolui no sentido de insuficiência cardíaca congestiva, com necessidade de intervenção cirúrgica para substituição valvular, com concomitante antibioterapia de longa duração (56). O reconhecimento precoce, o tratamento antibiótico adequado e a ausência de sinais de insuficiência cardíaca congestiva, possibilitam a aplicação de um tratamento conservador (58). Aneurisma

micótico, principalmente com envolvimento da artéria cerebral média, pode ser complicação neurológica de endocardite infecciosa (4).

As complicações cutâneas são relativamente raras, com predominância de lesões de hipersensibilidade, sob a forma de exantema maculo-papular, petéquias ou úlceras, destacando-se o eritema nodoso (36).

Quanto a complicações hematológicas, são identificadas em 75% dos doentes (36). É comum o aparecimento de anemia leve, leucopenia, linfocitose relativa ou trombocitopenia. A pancitopenia é multifactorial e atribuída a hiperesplenismo e envolvimento da medula óssea. As alterações hematológicas raramente ocorrem por coagulação intravascular disseminada, hemofagocitose ou por destruição celular mediada pelo sistema imunitário (19).

A proteína C reactiva (PCR) está geralmente elevada e a velocidade de sedimentação (VS) é variável, assumindo pouca relevância diagnóstica.

De acordo com Pappas et al (19) a afecção do sistema respiratório atinge 16% dos doentes infectados com brucelose. A inalação de aerossóis infectados é um meio de transmissão bem conhecido da brucelose, justificando o envolvimento deste sistema. Das manifestações ocorridas destacam-se linfadenopatia hilar e paratraqueal, pneumonite intersticial, broncopneumonia, nódulo pulmonar, derrame pleural e enfisema (4).

Apesar de raras, uma variedade de manifestações oftalmológicas foram descritas em doentes com diagnóstico de brucelose. A uveíte constitui a mais comum e tardia (36), podendo apresentar-se como iridociclite crónica, queratite numular, coroidite multifocal e neurite óptica. A causa do envolvimento ocular ainda não foi esclarecida, embora se suspeite de etiologia imunológica.

2.5.1.2 Brucelose Crónica

Até ao presente, a comunidade científica não chegou a um consenso quanto à definição de brucelose crónica. De acordo com Corbel (4), considera-se brucelose crónica quando os sintomas persistem por mais de doze meses após ter sido realizado o diagnóstico. Neste âmbito, podem ser consideradas três categorias: infecção crónica localizada, recidivante e de convalescença tardia (ver Tabela 5).

2.5.2 Diagnóstico Laboratorial

Para o estabelecimento do diagnóstico há necessidade de alto grau de suspeição, baseado na informação epidemiológica fornecida pelo doente. História de viagens, assim como de exposição a animais de pastoreio e ingestão de laticínios e seus derivados são geralmente críticos para o diagnóstico (6).

A análise laboratorial inclui uma variedade de testes possíveis: isolamento e identificação de *Brucella* em amostras do doente, detecção de antigénios, demonstração de genoma e de anticorpos específicos de *Brucella*.

O diagnóstico definitivo de brucelose requer um exame bacteriológico positivo, isto é, a identificação de *Brucella* no exame microscópico de esfregaços (23), proveniente do sangue, da medula óssea ou, mais raramente, de outros líquidos orgânicos (LCR, líquido sinovial ou exsudado de abscesso) (36). Adicionalmente à observação microscópica, é sempre necessária a confirmação por cultura, único processo realmente fidedigno de diagnóstico individual, cuja negatividade, não invalida a possibilidade de existir infecção (23).

Em função do lento crescimento do microrganismo, a cultura deve persistir no mínimo quatro a seis semanas. A sensibilidade da cultura de amostras de sangue varia, dependendo das práticas do laboratório e da forma de recolha da amostra. Desta forma, as culturas são positivas em 50 a 70% (36), sendo o agente isolado do sangue 15 a 70% dos casos (19, 36). A probabilidade de isolamento no sangue é maior na primeira semana de infecção, uma vez que é a fase em que a bacteriemia é mais elevada (36). Em doentes com infecção crónica, a sensibilidade da cultura pode ser baixa (6). A mielocultura tem uma taxa de isolamento superior, justificada pela preferência das

bactérias pelo SRE, após a primeira semana (36). Desta forma, o mielograma é o *gold standard* para o diagnóstico de brucelose, no entanto, a inerência a um procedimento invasivo, doloroso e não reproduzível universalmente, torna este método pouco frequente. A sensibilidade pode ser melhorada através de técnicas de lise por centrifugação (19).

Quando a confirmação bacteriológica não é possível, o diagnóstico é serológico, baseando-se na detecção de títulos elevados ou da subida de anticorpos específicos.

Os testes laboratoriais disponíveis estão representados na Tabela 8.

Tabela 8 - Diagnóstico Laboratorial em Função do Estadio Evolutivo (36).				
		Brucelose aguda	Brucelose localizada	Brucelose crónica
Hemocultura	+++	Mais elevada na 1 ^a semana	±	±
Mielocultura	+++	A partir da 1 ^a semana	±	±
Teste de Wright (TAS)	+++	Na 1 ^a - 2 ^a semana	±	-
Teste de Rosa de Bengala	+	Na 2 ^a - 3 ^a semana	+	±
Teste de 2-mercapto-etanol	+	Na 2 ^a semana	++	±
Fixação do complemento	++	Na 3 ^a - 4 ^a semana	++	±
Imunofluorescência indirecta	++	Na 2 ^a - 3 ^a semana	++	+
ELISA	+	Na 1 ^a - 2 ^a semana	+	+

*Em nenhum dos testes são detectados antígenos da *Brucella canis*.

O teste de Rosa de Bengala é um método que deve ser utilizado apenas como forma de rastreio e em inquéritos epidemiológicos (23). A sua positividade só significa contacto. Os resultados poderão permanecer positivos por dois a três anos e como tal devem ser confirmados por outros testes (36).

Os Testes de Aglutinação Sérica (TAS) - Wright continuam a ser o método de referência da OMS. São testes de seroaglutinação que medem a quantidade total de anticorpos aglutinantes (sobretudo IgM). Titulações superiores a 1:160, em conjunto com manifestações clínicas compatíveis, são consideradas prova de diagnóstico de brucelose em áreas não endémicas. Em áreas endémicas, titulações superiores a 1:320 são consideradas mais específicas (36, 6, 19). Estes testes são os que mais cedo positivam, permanecendo dessa forma em toda a fase aguda. Os testes devem repetir-se após duas a quatro semanas, uma vez que a subida do título é o indicador mais seguro para a confirmação do diagnóstico (36). Os falsos negativos verificam-se eventualmente devido à não ocorrência de seroconversão ou a fenómenos de pró-zona. Estes podem ser evitados por diluições elevadas ou através do Teste de Coombs anti-*Brucella*. Os falsos positivos podem surgir por reacções cruzadas com *Yersinia enterocolitica* 0:9, *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis*, *Escherichia coli* 0116 e 0157, *Salmonella urbana*, *Xanthomonas maltophilia* ou *Afipia clevelandensis*. A maior desvantagem dos TAS é a impossibilidade de serem usados no seguimento dos doentes, porque a titulação pode permanecer elevada por longos períodos de tempo (19).

O teste de 2-mercapto-etanol quantifica especificamente os níveis de IgG, determinando a correlação de IgG com a fase da infecção. Títulos elevados estão associados à fase aguda. Durante o tratamento a não descida dos mesmos indica infecção crónica ou recidiva (36).

O teste tipo ELISA e a imunofluorescência indirecta são meios de diagnóstico mais específicos e sensíveis do que os TAS. O teste tipo ELISA pode ser vantajoso na neurobrucelose, brucelose crónica e seguimento da doença aguda tratada (36). A imunofluorescência indirecta tem particular interesse no diagnóstico de brucelose

crónica, uma vez que a sua positividade se mantém quando as outras reacções serológicas já são negativas (36).

Salienta-se ainda a existência de uma variedade de outros testes, tais como teste de fixação pelo complemento e testes de biologia molecular (reacção em cadeia da polimerase - PCR), os quais não constituem recurso habitual na prática clínica.

2.6 Tratamento e Prevenção

2.6.1 Tratamento da Brucelose Aguda Não Complicada

Os objectivos do tratamento da brucelose passam pela cura da infecção corrente e a prevenção da recidiva. A precocidade da antibioterapia é essencial para o sucesso terapêutico. O uso de antibióticos não deve ser revogado, mesmo nos doentes que iniciem melhoras aparentes.

Nos doentes que apresentem complicações, pode ser necessário tratamento adicional, inclusive o recurso a intervenção cirúrgica (4).

As *guidelines* definidas pela OMS (4), expressas no “Expert Committee” em 1986, instauraram as principais opções terapêuticas, as quais não sofreram grandes variações desde então.

O tratamento adequado da brucelose não complicada (não focal) em adultos e crianças, com idade igual ou superior a oito anos, pode assumir duas formas.

O *gold standard* é a associação de doxiciclina (100 mg administrados oralmente e em regime bidário, durante seis semanas) e estreptomicina (1 g diariamente, via intramuscular, durante duas a três semanas). A monoterapia está associada a um maior número de recidivas, impondo por isso o uso de antibioterapia combinada. Quando apenas é administrada doxiciclina, a taxa de recidiva é de 10 a 20%. Se houver associação de dois fármacos estes números diminuem para 5 a 10% (2).

A alternativa é a associação de doxiciclina (200 mg diariamente) com rifampicina (600 – 900 mg diariamente), ambas durante seis semanas e administradas

oralmente (4). Este tipo de administração é vantajoso em caso de incapacidade de internamento hospitalar ou rede de cuidados de saúde, que possibilitem a administração parenteral da estreptomicina e/ou gentamicina. Alguns estudos (19) sugerem que o uso deste regime é menos eficaz na prevenção de recidivas, possivelmente devido à capacidade da rifampicina aumentar o clearance plasmático de doxiciclina, conduzindo a níveis subterapêuticos do mesmo. O uso de rifampicina deve ser considerado após a exclusão do diagnóstico de tuberculose. A aplicação de um regime terapêutico com rifampicina como único antibacilar num doente tuberculoso pode induzir resistência ao fármaco.

Outras combinações podem ser válidas, nomeadamente fluoroquinolonas em associação com doxiciclina ou rifampicina, e ainda trimetropim/sulfametoxazol em associação com doxiciclina, estreptomicina ou rifampicina (4).

Os sintomas da brucelose desaparecem após os primeiros quatro a catorze dias de antibioterapia, sem constituir indicação para a interrupção do tratamento.

Após o início da terapêutica de qualquer das formas de brucelose, pode haver um agravamento agudo, intenso e transitório da sintomatologia, que não requer interrupção do tratamento. Serologicamente, uma boa resposta à terapêutica pode ser demonstrada através da descida do título de anticorpos e o desaparecimento das IgM (36).

2.6.2 Tratamento da Brucelose Complicada

A maioria das complicações da brucelose é eficazmente tratada através dos regimes anteriormente referidos (19). Pode haver no entanto necessidade de prolongar a

antibioterapia, no mínimo doze semanas, perante doença complicada ou focalizada. A ineficácia do tratamento deve-se fundamentalmente ao incumprimento da terapêutica prescrita. Excepcionalmente atribui-se ao desenvolvimento de resistência ao fármaco (2).

As complicações mais frequentes são as osteoarticulares, cujo tratamento é diversificado. A sacroileíte pode resolver-se em apenas seis semanas. A espondilite, a osteomielite e as complicações associadas (abscesso paravertebral e epidural, por exemplo) necessitam de pelo menos oito a nove semanas (4, 19). A drenagem cirúrgica raramente é necessária (4).

Na intervenção terapêutica em doentes com neurobrucelose, a eficácia do tratamento depende primariamente da penetração do fármaco no LCR. Segundo recomendações da OMS (4), uma vez que a tetraciclina e os aminoglicosídeos não atravessam a barreira hematoencefálica, a rifampicina ou o trimetropim/sulfametoxazol devem ser adicionados à doxiciclina e estreptomicina. Fauci et al (2), defende a aplicação do regime normal (doxiciclina e estreptomicina), com adição de ceftriaxone. Ambos defendem a continuação do tratamento até seis a oito semanas, havendo a possibilidade de prolongar em função da condição clínica. Meliço-Silvestre et al (59) sugere que a antibioterapia deve durar nove a doze meses. Não foi provado que o uso de esteróides conduza a benefícios consistentes (19).

A dificuldade na abordagem da endocardite infecciosa consiste na necessidade de atingir elevadas concentrações de fármaco nas vegetações valvulares. Adicionalmente, atrasos no diagnóstico e tratamento da brucelose conduzem a lesões valvulares, que complicam o tratamento. Este consiste na administração de regimes triplos: doxiciclina e aminoglicosídeo com rifampicina ou trimetropim/sulfametoxazol

(4). Alguns especialistas adicionam ceftriaxone e/ou fluoroquinolona, no sentido de diminuir a necessidade de substituição valvular. Lamentavelmente, esta assume-se indispensável na maioria dos doentes com envolvimento cardíaco (2). A duração do tratamento farmacológico deve ser de oito semanas (4) a seis meses (2), embora se possa prolongar por dois a três anos. Quando há necessidade de recorrer à cirurgia, a farmacoterapia deve ser mantida até à intervenção (4).

2.6.3 Tratamento da Brucelose em Grupos Especiais

A intervenção a nível de recém-nascidos e crianças menores de oito anos permanece indefinida. Embora seja conhecimento geral que tetraciclina não podem ser administradas neste grupo, ainda não foi esclarecido qual o regime mais eficaz a aplicar. Segundo a OMS (4), a terapia de primeira linha consiste na combinação de TMP/SMZ (8/40 mg/Kg/dia, toma bidiária, via oral, durante seis semanas) com estreptomicina (30 mg/kg/dia, em toma única diária, via intramuscular, ao longo de três semanas) ou com gentamicina (5 mg/kg/dia, em toma única diária, endovenoso ou intramuscular, durante sete a dez dias). Em alternativa, pode estar indicado o uso de TMP/SMZ e rifampicina (15 mg/kg/dia, em toma única diária, via oral), ambos durante seis semanas, ou a combinação de um aminoglicosídeo com rifampicina. Fauci et al (2) recomenda a administração de elevadas doses de TMP/SMZ, ou a sua combinação com gentamicina, três semanas e cinco a sete dias, respectivamente, para o tratamento de crianças sem complicações.

O efeito teratogénico de alguns fármacos complica o tratamento de uma grávida diagnosticada com brucelose. No entanto, o diagnóstico precoce e a antibioterapia

adequada podem evitar complicação fatais para o feto. Embora todos os fármacos atravessem a placenta, com conseqüente exposição do feto aos seus efeitos adversos, a administração de elevadas doses de TMP/SMZ (4, 2) ou de rifampicina ao longo de quarenta e cinco dias (4) provaram ser eficazes. A administração de tetraciclina está contra-indicada (4, 2).

Em doentes com idade superior ou igual a cinquenta e cinco anos, a estreptomicina deve ser evitada devido à sua ototoxicidade. Estudos recentes sugerem que esta deve ser substituída em todos os casos por gentamicina (3-5 mg/kg/dia, em toma única diária, endovenoso ou intramuscular), dada a sua menor toxicidade (36).

2.6.4 Tratamento da Brucelose Crônica

O tratamento das formas crônicas assemelha-se ao das formas focalizadas, diferindo apenas no tempo recomendado. Há quem defenda o prolongamento da antibioterapia para três a seis meses (36). Meliço-Silvestre et al (59) sugere que o período de tempo deverá ser alargado para nove a doze meses. A duração da terapêutica depende da evolução clínica, laboratorial e radiológica. Os esquemas terapêuticos são flexíveis, salientando-se a associação tripla de doxiciclina, rifampicina e estreptomicina (a associação tripla resulta da impossibilidade de uso prolongado da estreptomicina) (36).

2.6.5 Seguimento Pós-Tratamento

Os doentes devem ser seguidos clinicamente por dois anos, após o momento do diagnóstico, para a detecção de possíveis recidivas. Comparativamente com métodos serológicos, o bem-estar do doente e o seu peso corporal são indicadores mais sensíveis para a detecção de recidivas. A inespecificidade dos métodos serológicos deve-se à permanência de níveis de IgG detectáveis por mais de dois anos, após um tratamento com sucesso. A brucelose conduz a um estado de fragilidade imunitária pós-infecção, que vulnerabiliza o doente para a recidiva e reinfecção. Deste modo é importante uma vigilância médica a longo prazo (2).

2.6.6 Prevenção

Tendo em consideração a etiologia da brucelose, a sua prevenção no Homem depende sobretudo do controlo ou erradicação da doença nos animais. Existem vacinas animais disponíveis para estirpes de *Brucella abortus* e *Brucella melitensis*, mas não para *Brucella suis* ou *Brucella canis* (36). Em grupos de elevado risco ocupacional, devem ser tomadas medidas higiénicas, no sentido de ser disponibilizado vestuário e acessórios protectores adequados (máscaras, luvas, etc). Todo o equipamento usado unicamente para as actividades de alto risco, com desinfecção subsequente (4). Quanto a possíveis fontes de infecção alimentares, o não consumo de produtos diários não pasteurizados poderia prevenir a infecção na população (6). As medidas referidas assumem extrema importância na tentativa de prevenir a infecção, uma vez que ainda não foi encontrada qualquer vacina eficaz e segura para o Homem (4).

Capítulo 3

Materiais e Métodos

3.1 Base de Dados

Numa primeira parte da tese de mestrado foi elaborada uma revisão bibliográfica, no sentido de contextualizar o tema à luz dos conhecimentos actuais. Adicionalmente à pesquisa bibliográfica, foram realizadas buscas com os termos “brucelose”, “brucellosis”, “Malta fever” e “*Brucella*” no “Google”, “Medline”, “PubMed”, “British Medical Journal” e “The Lancet”. A pesquisa no motor de busca “Google” resultou fundamentalmente em livros online.

A segunda parte da dissertação teve como alvo os doentes admitidos com o diagnóstico de brucelose no período compreendido entre o dia 1 de Janeiro de 1999 e o dia 31 de Dezembro 2008 no CHCB-EPE. Para o estudo foram considerados os dois Hospitais incluídos no CHCB-EPE (Fundão e Covilhã).

No período de 1 de Janeiro de 1999 a 31 de Dezembro de 2008 foram registados 65 casos de brucelose no CHCB-EPE, referentes a 55 processos clínicos. Nove destes registos consistiram em recorrências ao Serviço de Urgência (S.U.) por agravamento ou persistência da sintomatologia e um caso por intolerância gástrica à medicação oral. Desta forma, a amostra a que se refere o estudo é constituída por 55 doentes.

3.2 Metodologia Estatística

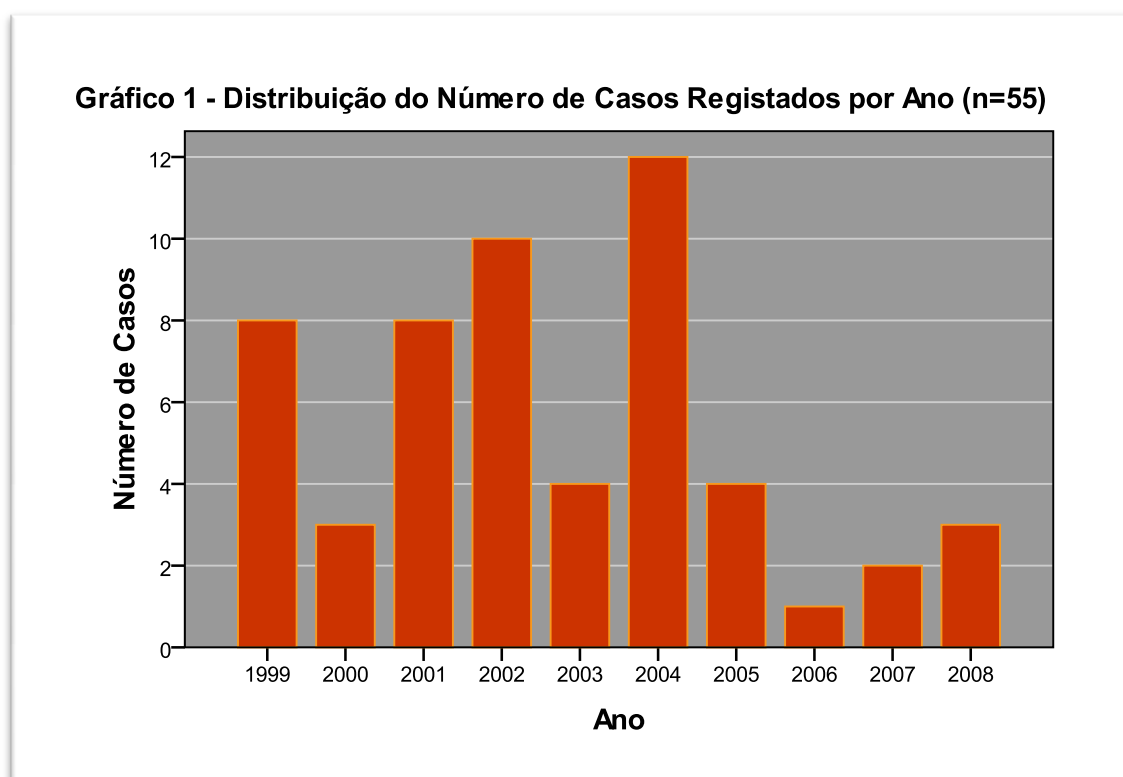
A análise estatística dos dados recolhidos, bem como as respectivas representações gráficas, foram realizadas através da aplicação “SPSS statistics 17.0” para o Windows. O tratamento estatístico foi operacionalizado através do Qui-quadrado (χ^2) e o valor aceite como significância estatística foi de $P < 0.05$. Para valores inferiores a 5 em qualquer célula da Tabela de contingência foi usado o Teste Exacto de Fisher (FET).

A amostra foi dividida em dois grupos etários para a análise da sintomatologia de apresentação da doença. O primeiro grupo incluiu doentes com idade inferior ou igual a 15 anos (crianças) e o segundo doentes com idade superior a 15 anos (adultos).

Capítulo 4

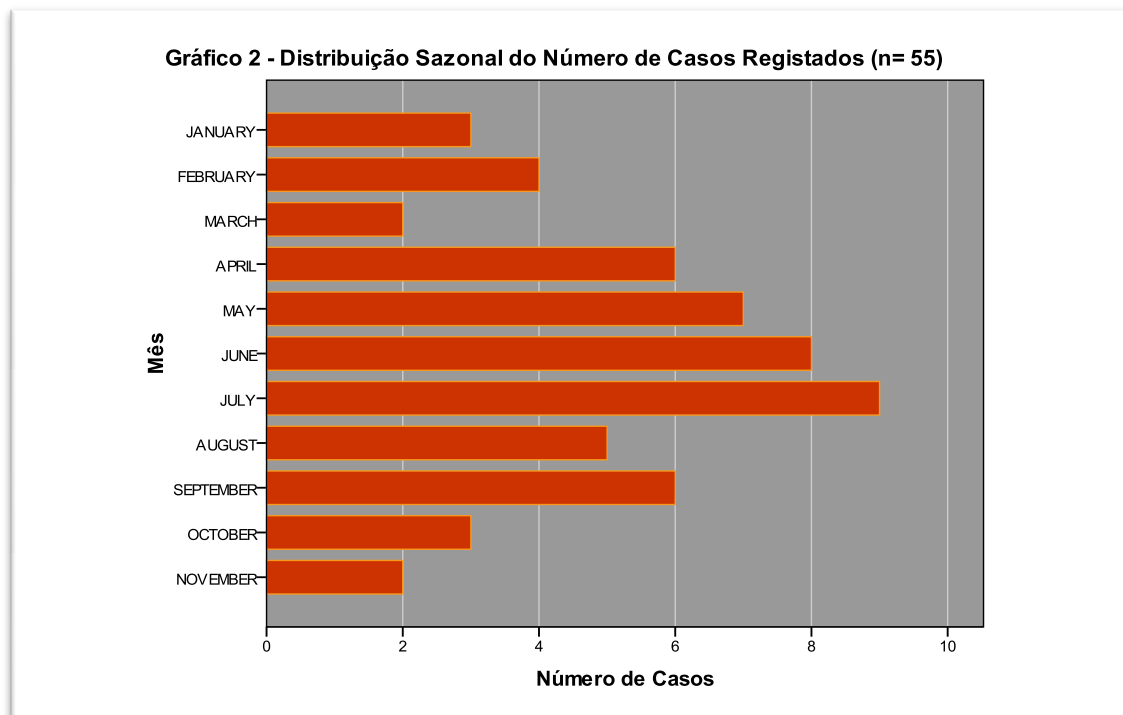
Resultados

Na última década foram diagnosticados 55 casos de brucelose no CHCB-EPE. O ano de 2004 foi o período em que se registaram mais casos. Apesar da disparidade anual foi visível uma redução nos últimos 3 anos (Gráfico 1).

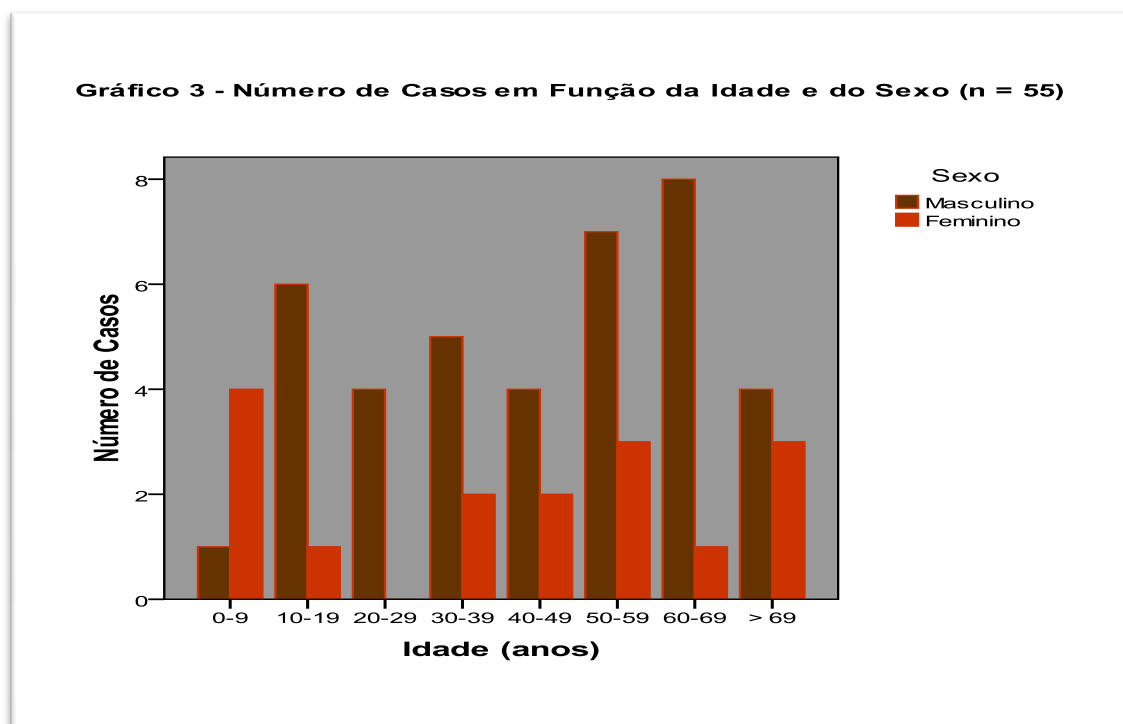


Os meses mais representativos foram Maio, Junho e Julho, contabilizando 43,6% dos casos (Gráfico 2).

A amostra era constituída por 39 doentes do sexo masculino (70,9%) e 16 do sexo feminino (29,1%), com uma razão masculino:feminino de 2,4:1,0. As idades estavam compreendidas entre 1 e 85 anos, com a média aproximada de 43 anos. Cerca de um terço dos casos enquadravam-se no grupo etário dos 50 aos 69 anos. A distribuição dos sexos em função da idade está representada no Gráfico 3.



As queixas dos doentes levaram a maioria a recorrer ao S.U. (92,7%). O diagnóstico de brucelose foi realizado na primeira ida ao S.U. em 82,4% dos casos. Em 11,8% foram diagnosticados apenas na segunda ida ao S.U., em 3,8% dos casos na terceira e 2% na quarta. Os restantes doentes recorreram à Consulta Externa (7,3%).



Os comportamentos de risco identificados nos doentes adultos foram o etilismo (18,6%) e a toxicodependência (7%). Deste grupo, um doente (2,3%) padecia do Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH). A patologia psicose paranóide também estava presente na amostra (2,3%).

O sintoma mais frequente na amostra foi febre, presente em 53% da amostra (Tabela 9). As mialgias e a sudorese profusa representaram importantes sintomas nos adultos (ambos de 18%). As manifestações gastrointestinais foram pouco comuns nos adultos e inexistentes nas crianças.

Tabela 9 - Sintomatologia de Apresentação nas Crianças (≤ 15 anos) e nos Adultos (> 15 anos).

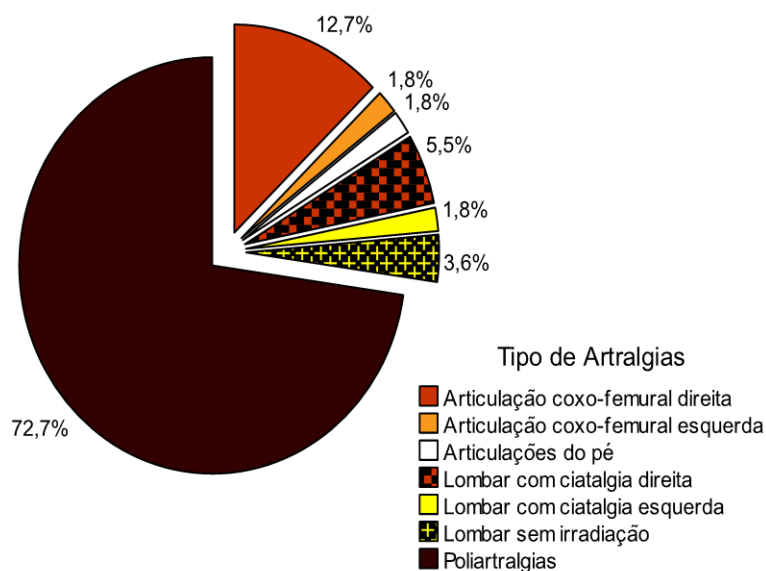
Sintomas	Crianças		Adultos		χ^2	P-value
	Nº	%	Nº	%		
Febre	6	11	23	42	0,046	> 0,05
Sintomas Gastrointestinais¹	0	0	9	16	-	FET = 0,181
Emagrecimento	0	0	3	5	-	FET = 1
Cefaleias	0	0	6	11	-	FET = 0,321
Retenção Urinária	0	0	1	2	-	FET = 1
Mialgias	0	0	10	18	-	FET = 0,096
Astenia	1	2	5	9	-	FET = 1
Odinofagia	0	0	1	2	-	FET = 1
Anorexia	0	0	2	4	-	FET = 1
Edema Articular	0	0	1	2	-	FET = 1
Exantema Cutâneo	0	0	1	2	-	FET = 1
Tosse	0	0	2	4	-	FET = 1
Sudorese Profusa	0	0	10	18	-	FET = 0,096
Artralgia Localizada	7	13	8	15	-	FET = 0,011
Poliartralgias	4	7	19	35	-	FET = 0,742
Ciatalgia	0	0	5	9	-	FET = 0,574

¹ Dor abdominal, náuseas, vômitos e diarreia; *FET = Fisher exact test

Os sintomas osteo-articulares foram referidos em 69% dos doentes (Gráfico 4). As queixas dividiram-se entre poliartralgias (72,7%) e em artralgias localizadas, das quais se destacou a articulação coxo-femural direita (12,7%). Em 9,1% dos doentes, a

ciatalgia constituiu numa das principais queixas. A artralgia localizada foi mais comum nas crianças do que nos adultos e as diferenças demonstraram-se estatisticamente significativas (FET = 0,011). As poliartralgias constituíram uma das principais queixas em apenas 7% das crianças, comparativamente com 35% dos adultos.

Gráfico 4 - Tipo de Artralgias Localizadas e Poliartralgias (n=37)

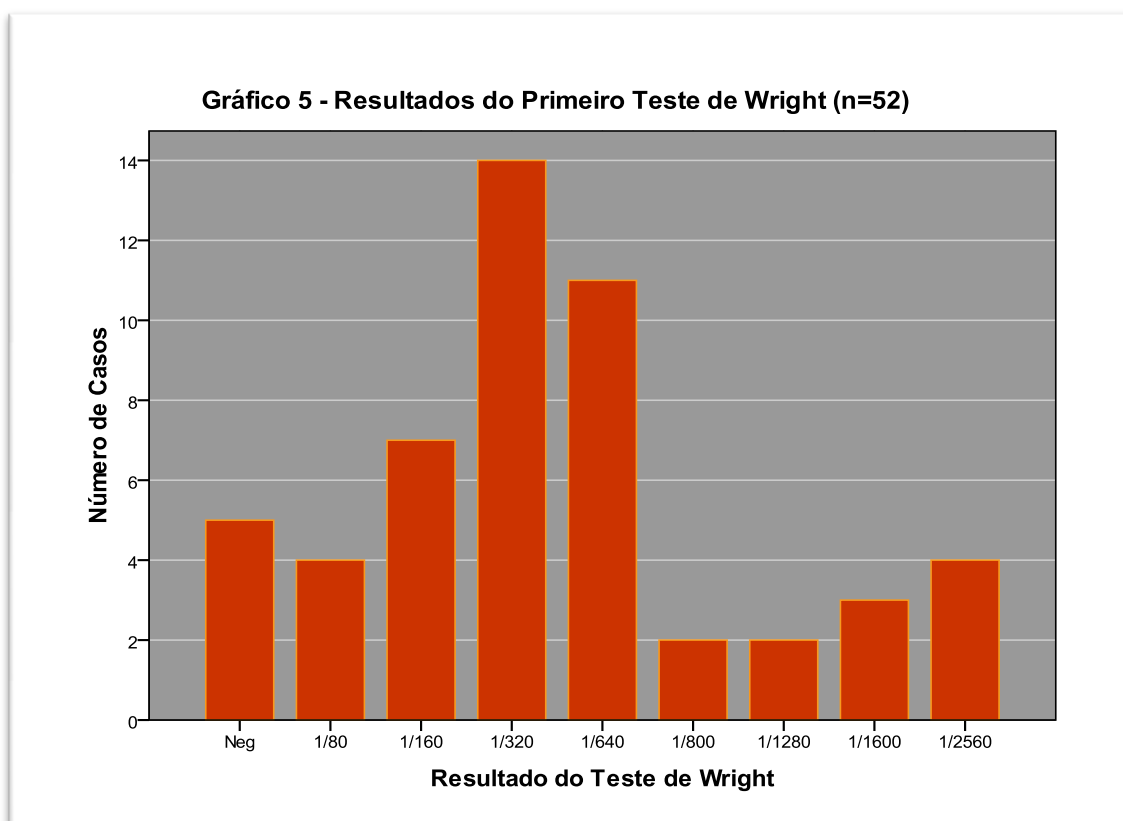


Exames complementares imagiológicos detectaram abscesso paravertebral e retrovertebral em 1,8%, sacroileíte em 1,8% e espondilodiscite em 3,6% dos casos.

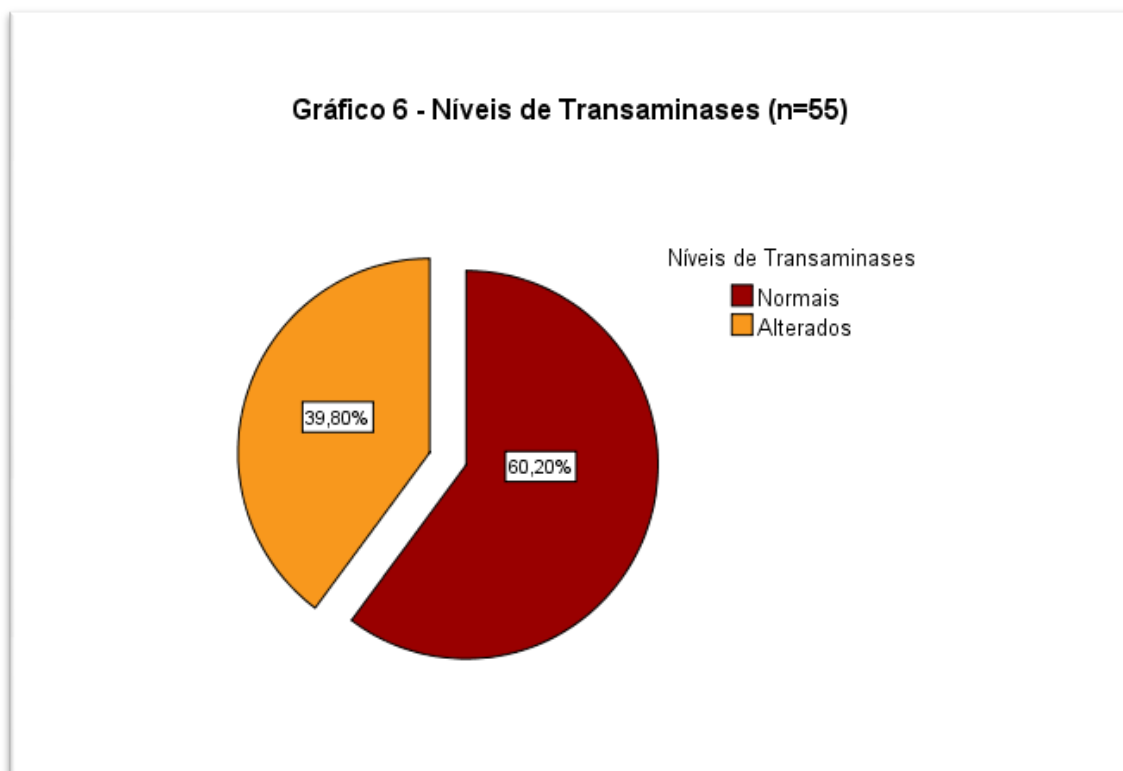
A duração média da sintomatologia até à recorrência ao CHCB – EPE foi aproximadamente 14 dias (n=43). A mínima foi 1 dia, a máxima 90 dias e o desvio padrão 18 dias. Neste âmbito, pode classificar-se a brucelose como aguda, uma vez que em nenhum doente ultrapassou a duração de 3 meses. A média da duração da

sintomatologia foi menor nas crianças do que nos adultos, de 8 dias e de 16 dias respectivamente.

O teste de Wright consistiu a prova laboratorial mais utilizada. Em 5,5% dos doentes o resultado não foi registado no processo. Em 9,6% dos doentes o resultado da primeira avaliação foi negativo. Os valores mais frequentes foram 1/320 e 1/160, 26,9% e 21,2% respectivamente (Gráfico 5).



Ainda quanto ao diagnóstico laboratorial, as alterações da PCR foram bastante frequentes na amostra. Apesar do resultado não ter sido registado em 4 processos clínicos, os valores foram superiores a 0,5 mg/dL em 86,3% dos doentes. Os níveis de Transaminases também constituíram um achado frequente (Gráfico 6).



Todos os doentes foram hospitalizados, com um período mínimo de internamento de 2 dias e o máximo de 51. A média foi de 13 dias e o desvio padrão de 9 dias. No decorrer do internamento, a brucelose foi a primeira doença a ser diagnosticada em 87,3% dos doentes. Em 10,9% foi o segundo diagnóstico e em 1,8% o terceiro.

Em 2007, foi detectado o único caso de neurobrucelose da última década, no CHCB-EPE (1,8%). A doente deu entrada no S.U. por Acidente Vascular Cerebral (A.V.C.) Isquémico e ficou imediatamente internada na Unidade de A.V.C.. No dia seguinte apresentou quadro de agitação e febre, que conduziu à realização de Electroencefalograma e Punção Lombar. A clínica e os exames complementares de diagnóstico sugeriram a etiologia brucélica.

A terapêutica mais instituída foi a combinação de doxiciclina com rifampicina (35%). Em 96% dos doentes foi eleito um tratamento baseado na combinação de dois antibióticos. Em 4% dos casos foi aplicada monoterapia com doxiciclina ou ceftriaxone. As representações gráficas (7,8 e 9) estratificam o tratamento em três grupos etários.

Gráfico 7 - Tratamento Instituído a Doentes com Idade Inferior a 8 anos

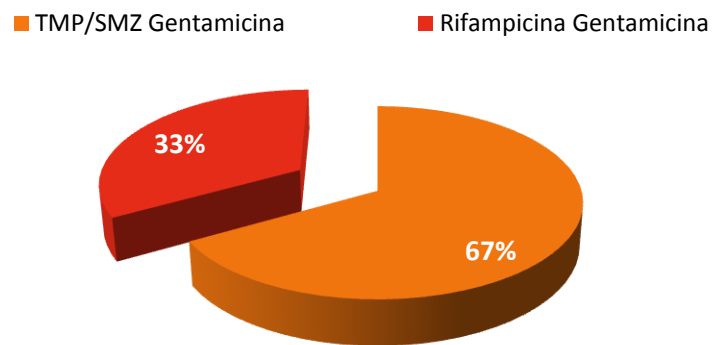


Gráfico 8 - Tratamento Instituído a Doentes com Idade Compreendida Entre 8 e 55 Anos

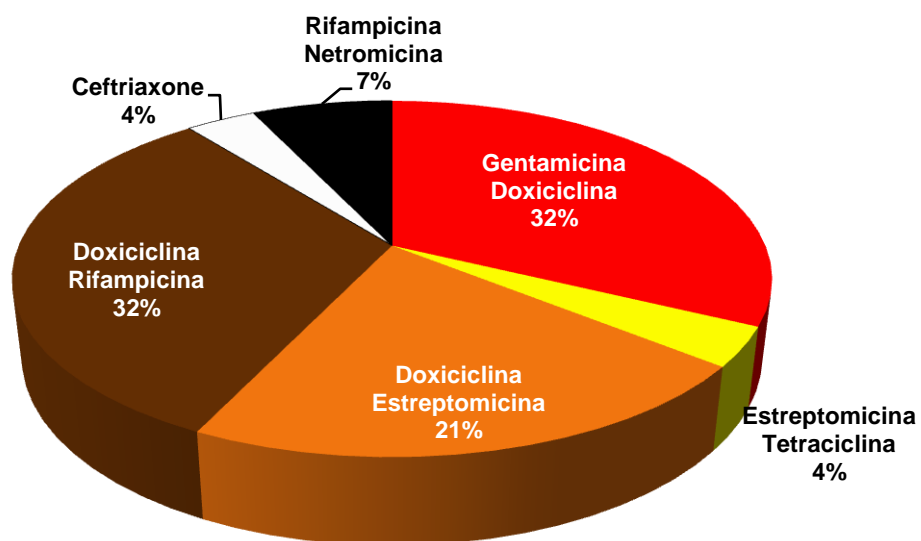
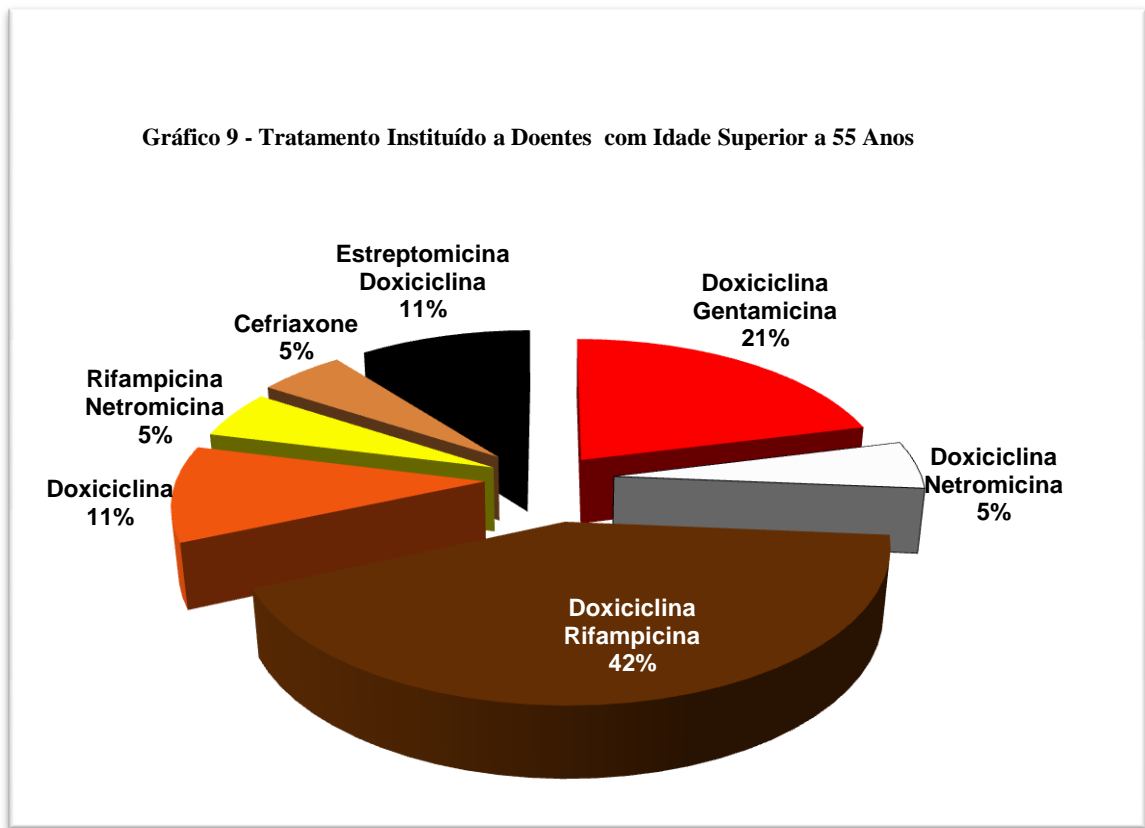


Gráfico 9 - Tratamento Instituído a Doentes com Idade Superior a 55 Anos



A farmacoterapia instituída na doente com neurobrucelose foi a associação de doxiciclina e rifampicina.

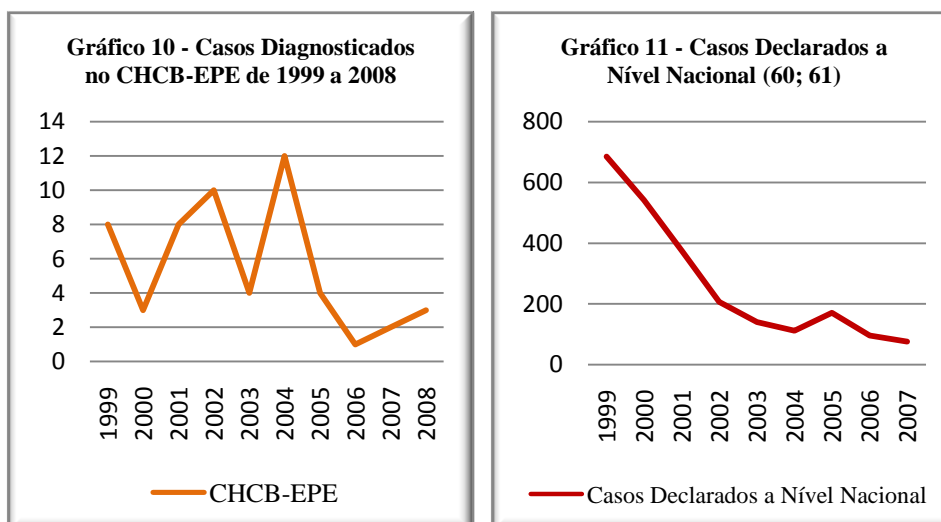
A evolução com sequelas foi extremamente rara, embora tenha sido registada a lesão lítica femural de etiologia brucélica em 1,8% da amostra.

Capítulo 5

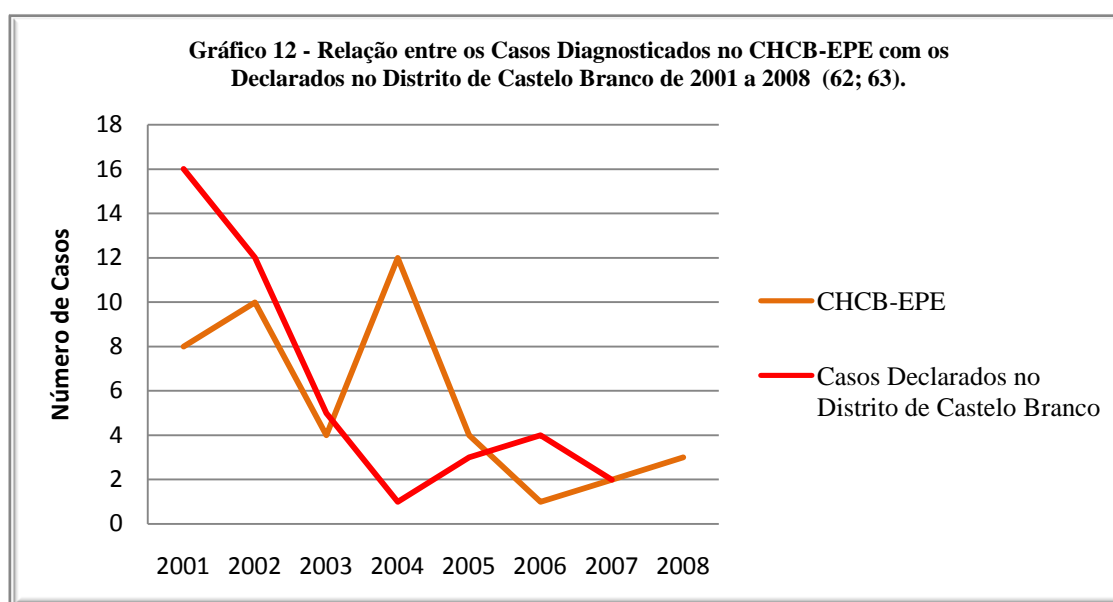
Discussão e Conclusão

5.1 Discussão

A brucelose não apresentou uma incidência anual linear na última década no CHCB-EPE. Constatou-se uma acentuada variabilidade numérica de casos registados por ano. O número máximo foi de 12 doentes em 2004 e o mínimo de 1 doente em 2006. A análise destes dados comparativamente com os relativos à evolução nacional demonstra uma diferente distribuição anual (Gráficos 10 e 11). Os dados disponibilizados pelo INE (60, 61) revelaram um declínio gradual do número total de casos declarados de 685 para 95 casos, no período de 1999 a 2006.



Esta discrepância é ainda reforçada quando comparados os dados do estudo com os notificados no distrito de Castelo Branco. Em 2004, de acordo com a DGS (62) foi declarado apenas um caso de brucelose no distrito embora o estudo revele terem sido diagnosticados 12 casos no CHCB-EPE no mesmo ano (Gráfico 12). Este fenómeno comprova a marcada subnotificação da doença, demonstrando a frequente negligência da declaração obrigatória.



*A DGS ainda não disponibilizou os dados relativos ao ano 2008.

A sazonalidade da brucelose está patente na amostra, tal como na restante população portuguesa. Segundo dados da DGS (64), a taxa de notificação nacional é mais elevada no segundo trimestre do ano. A maior incidência da doença nestes meses deve-se ao aumento do número de partos nos animais, com subsequente exposição de altos níveis de bactérias ao humano. Neste período, está também disponível uma maior quantidade de leite cru para transformação e consumo.

A maior incidência da doença em indivíduos do sexo masculino está concordante com a informação disponível na literatura (2), no entanto difere dos resultados obtidos em investigações mais recentes. Num estudo actual realizado em Inglaterra por Dahouk (46) é referida a inexistência de predomínio de um género. Esta variação pode ser explicada através da análise do meio de transmissão em cada região. Dahouk (46) designou o consumo de alimentos contaminados como principal meio de transmissão. Na Covilhã, a exposição directa a animais infectados constitui o principal factor de risco. A elevada prevalência de criadores e comerciantes de gado na região justifica a predominância da doença em indivíduos do sexo masculino.

Verificou-se também uma maior incidência em indivíduos com idades compreendidas entre os 50 e os 69 anos, grupo etário que mantém o exercício de actividades rurais.

De acordo com Maloney (20), embora a brucelose não tenha preferência por um grupo etário específico, o diagnóstico é raro em crianças e idosos nos países desenvolvidos. No CHCB-EPE foram detectados 40% de casos em crianças (idade igual e inferior a 15 anos) e idosos (idade igual e superior a 65 anos), o que demonstra que a Covilhã ainda é representativa de uma região sub-desenvolvida.

O reconhecimento de novos grupos de risco alerta para a possível existência de doentes subdiagnosticados. Em 27,9% dos adultos foram identificados comportamentos ou patologias preocupantes, designadamente etilismo, toxicodependência e patologia psiquiátrica.

A infecção por VIH esteve presente em 2,3% da amostra estudada. Apesar da eliminação intracelular de *Brucella* depender da imunidade celular, não se verifica aumento da incidência de brucelose nos doentes VIH positivos. O estudo de Moreno

(65) revelou que no momento do diagnóstico de brucelose, estes doentes apresentam imunidade relativamente preservada. A epidemiologia, a apresentação clínica, o diagnóstico e a resposta ao tratamento demonstraram similaridade quanto a doentes não VIH positivos.

Segundo Al-Nassir (7), os doentes infectados em áreas não endêmicas são frequentemente diagnosticados com Síndrome Febril de etiologia desconhecida. Na amostra estudada, apenas 17,6% dos doentes tiveram alta na primeira recorrência ao S.U., sem ser confirmado o diagnóstico de brucelose. Esta incapacidade de diagnóstico na primeira abordagem clínica justifica-se pela possível negatividade inicial dos exames laboratoriais. O atraso no diagnóstico pode ser evitado através de uma anamnese completa relativa aos últimos três meses, com investigação dirigida aos factores de risco.

A menor duração da sintomatologia em crianças comparativamente com adultos até ao recurso ao CHCB-EPE, demonstra a maior rapidez ao acesso a cuidados de saúde quanto àquele grupo etário. Al-Shamahy (66) também evidenciou esta relação, tendo considerado indicadora de que a doença nos adultos não é grave nem progressiva, ao ponto de recorrerem com urgência a cuidados médicos.

O quadro clínico de apresentação da brucelose nos doentes estudados foi bastante inespecífico, com manifestações semelhantes às descritas em estudos internacionais (19, 20, 66). A febre liderou como sintoma e sinal mais frequente (53%). As manifestações osteo-articulares prevaleceram como segunda manifestação mais comum (69%), com destaque para as poliartralgias (72,7%). As artralgias localizadas verificaram-se mais nas crianças do que nos adultos e as diferenças apresentaram significância estatística (FET = 0,011). Sinais de artrite (edema articular) estiveram

presentes em apenas 1,8% da amostra. Os sintomas gastrointestinais, designadamente vómitos, náuseas, dor abdominal e diarreia, evidenciaram-se em 16,3% da amostra, número menos representativo do que em outros estudos, presentes em 50% da amostra (7).

Estudos anteriores definem a sintomatologia de apresentação na idade pediátrica como menos grave do que no adulto e caracterizada pela tríade de febre, artralgia/artrite e hepatoesplenomegália (53). Os dados obtidos no CHCB-EPE apoiam este quadro de apresentação, na medida em que 94,4% das crianças recorreram ao hospital por febre e/ou artralgias.

Embora Pappas (19) tivesse concluído que o sistema respiratório seja afectado em 16% dos doentes, no CHCB-EPE nenhum doente foi diagnosticado considerando esse tipo de manifestações. A apresentação de um doente no S.U. com sintomas inespecíficos como síndrome gripal pode dificultar o diagnóstico. O subdiagnóstico conduz à resolução espontânea ou à cronicidade da infecção, prosseguindo com envolvimento de outro sistema.

Um estudo recente (7) refere que a neurobrucelose é uma complicação mais frequente em áreas endémicas, com níveis de incidência de 5% nos doentes infectados. Nos doentes estudados, esta complicação apenas foi detectada em 1,8% da amostra. Bingol (67) concluiu que a brucelose pode raramente manifestar-se através de Acidente Isquémico Transitório ou A.V.C. Isquémico. O caso de neurobrucelose do CHCB-EPE apoia este estudo, uma vez que a doente recorreu ao S.U. por quadro de A.V.C. Isquémico, com hemiparesia direita e afasia de compreensão.

O diagnóstico laboratorial pressupõe um alto índice de suspeição por parte do médico, assumindo extrema importância no diagnóstico. Para além das manifestações

da brucelose serem inespecíficas, encontram-se documentadas complicações atípicas da doença. Em crianças desenvolveram-se paralisia do nervo facial esquerdo, púrpura trombocitopénica (68) e coreia (69). Em adultos foram detectadas manifestações como hidrocelo, síndrome Stevens-Johnson e infecção do tracto urinário (70).

Embora a PCR se encontrasse elevada na grande maioria dos doentes (86%) e as transaminases em cerca de 40%, terão que ser considerados critérios inespecíficos para a orientação diagnóstica.

O teste de Wright consiste na prova laboratorial específica mais frequentemente usada para a confirmação do diagnóstico. O resultado revelou-se negativo em 9,6% da amostra, em consequência da não seroconversão ou de fenómenos pró-zona. De acordo com Pappas (19), num doente com sintomatologia compatível com brucelose, o diagnóstico é confirmado com teste de Wright de 1/320 em áreas endémicas. Considerando a Covilhã uma região endémica, no resultado do primeiro teste de Wright, 31% da amostra não cumpria os critérios para o diagnóstico. A manutenção da sintomatologia manteve elevada a suspeita clínica, que conduziu a novo teste de Wright. A subida dos títulos confirmou o diagnóstico na totalidade dos casos.

A farmacoterapia foi instituída em 49 doentes (89%), maioritariamente de acordo com as *guidelines* da OMS. No entanto, dois tipos de abordagem terapêutica merecem especial referência. A monoterapia apesar de estar contra-indicada foi usada em 4% dos doentes. Embora a prescrição de estreptomicina deva ser evitada a maiores de 55 anos foi eleita em 11% dos doentes deste grupo etário.

A única sequela registada – lesão lítica femoral – verificou-se numa criança de 1 ano de idade, com antecedentes familiares de brucelose no ano anterior. Apesar dos meios de transmissão considerados mais relevantes serem a ingestão de alimentos

contaminados e o contacto directo com animais, este caso sugere a transmissão através de leite materno. Almuneef (45) rastreou as famílias de doentes com brucelose através de TAS. Das 55 famílias estudadas, 42% apresentavam dois ou mais membros com alterações serológicas que evidenciavam infecção brucélica. Neste grupo, 26% dos infectados encontravam-se assintomáticos. De acordo com Celebi (71), os humanos podem apresentar-se completamente assintomáticos na presença de bacteriémia. Estes estudos corroboram claramente a necessidade de rastreio na família em coabitação, mesmo que assintomática. No caso específico da criança do CHCB-EPE, o rastreio poderia ter evitado o desenvolvimento de sequela.

A brucelose em Portugal, para além de constituir uma patologia de preocupação de Saúde Pública nacional, também representa um risco global. Elevados fluxos populacionais devido a fenómenos de imigração e turismo convertem a brucelose numa patologia possível, mesmo em países que já oficializaram a sua erradicação. O último estudo epidemiológico realizado na Alemanha, relativo ao período entre 1962 e 2005 (46), identificou um aumento da incidência de brucelose. A nacionalidade de 58% dos doentes não era alemã, dos quais 1,7% eram portugueses. A brucelose em Portugal, para além de constituir uma importante ameaça de morbilidade nacional, facilmente ultrapassa fronteiras. A negligência no diagnóstico de brucelose em países com baixa frequência da doença, é preocupante, uma vez que se traduzem em taxas de mortalidade mais elevadas.

5.2 Conclusão

A brucelose é uma doença não erradicada em Portugal, com especial incidência nas regiões do interior. É essencial que os médicos mantenham um elevado índice de suspeita perante doentes com febre de etiologia desconhecida. A anamnese pode ser determinante no esclarecimento do diagnóstico diferencial.

Novos grupos de risco emergem como possíveis alvos de infecção subdiagnosticados. É importante não negligenciar a exclusão de brucelose em alcoólicos, toxicodependentes e doentes com patologia psiquiátrica com síndrome febril indeterminado.

O quadro clínico da forma de apresentação da brucelose no CHCB-EPE na última década, não difere significativamente do demonstrado em estudos internacionais. Quanto à realidade nacional, a inexistência de estudos impossibilitou a comparação com os obtidos na presente dissertação.

O rastreio da família em regime de coabitação é ainda negligenciado no CHCB-EPE, contudo indispensável para a erradicação da brucelose nesta área geográfica.

O incumprimento da notificação obrigatória traduz-se no desconhecimento por parte das entidades próprias, quanto às reais taxas de incidência da brucelose. Sem este conhecimento, as medidas de saúde pública tornam-se insuficientes e desfasadas do cenário nacional.

Capítulo 6

Bibliografia

1. Alton GG, Forsyth J R. Medical Microbiology. 4rd ed. Baron S.
2. Fauci AS, Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson JL, et al, editors. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York: McGraw Hill, Health Professions Division, 2008.
3. Turatbek BK, Ajeilat S, Maes E, Favorov M. Risk Factors for Brucellosis - Leylek and Kadamjay districts, Batken Oblast, Kyrgyzstan. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006 Apr 28,55 Suppl 1:31-4.
4. Corbel, MJ. Brucellosis in humans and animals. Geneva: SS Elberg & O Cosivi, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2006.
5. Aleixo MJ, Ferreira ML, Antunes F. Brucelose: Revisão. Act Méd Port 1999 Dez 12,12(2).
6. Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human Brucellosis. Indian J Med Microbiol 2007 Jul,25(3):188-202.
7. Al-Nassir WD. Brucellosis [Online]. 2009 Feb 3. Available from:
URL:<http://emedicine.medscape.com/article/213430-overview>
8. Centers of Disease Control and Prevention - Department of Health and Human Services. Brucellosis (Brucella melitensis, abortus, suis, and canis) [Online]. 2007 Dec 7. Available from:
URL: <http://www.cdc.gov/>
9. Direcção-Geral de Saúde. Rede de Referenciação Hospitalar de Infecçologia. Lisboa: Direcção-Geral de Saúde, 2001.
10. Ministério da Saúde. Plano Nacional de Saúde: Orientações estratégicas para 2004-2010. Lisboa: Direcção-Geral de Saúde, 2004. (vol. 2).
11. Carvalho MS, Barroso MR, Pinhal F, Mota Tavares F. Brucelose, alguns aspectos epidemiológicos. Medicina Int 1995, 2 (4): 259-261.
12. Wise RI. Brucellosis in the United States. Past, present and future. JAMA 1980 Nov 21,244(20):2318-22.
13. Comité Mixto FAO/OMS DE Expertos en Brucelosis, Ginebra, 1970. Informe: 5º. Ginebra, 1971, (OMS – Ser. Inf. tecn., 464).
14. Rust R. Brucellosis [Online]. 2006 Jun 8. Available from:

URL: <http://emedicine.medscape.com/article/1164632-overview>

15. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 5th ed. Elsevier, 2005.
16. Tonna I, Tonna A. Brucellosis. N Engl J Med 2005 Sep 8,353(10):1071-2.
17. Vassallo DJ. The saga of brucellosis: controversy over credit for linking Malta fever with goats' milk. Lancet 1996 Sep 21,348(9030):804-8.
18. Ewalt DR, Payeur JB, Martin BM, Cummins DR, Miller WG. Characteristics of Brucella species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). J Vet Diagn Invest 1994 Oct,6(4):448-52.
19. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. N Engl J Med 2005 Jun 2,352(22):2325-36.
20. Maloney GE. CBRNE – Brucellosis [Online]. 2009 Apr 29. Available from:
URL: <http://emedicine.medscape.com/article/830118-overview>.
21. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis 2006 Feb,6(2):91-9.
22. Rodríguez OC, Salado J, Cuenca JCC, Pérez RC. Brucellosis. 1997.
23. Ferreira WF, Sousa JC. Microbiologia. LIDEL, 2000. (vol. 2).
24. Boffil P, Rivas A, Ramirez W, Montañez J, Martinez A, Quincoses T, et al. Manual de Enfermedades Infecciosas. 1989.
25. Wilson G, Miles A. Principles of bacteriology, virology and immunity. 5th ed. La Habana: Revolucionaria, 1975. (vol. 1).
26. Young E, Corbel MJ. Brucellosis: clinical and laboratory aspects. CRC press, 1989.
27. Sohn AH, Probert WS, Glaser CA, Gupta N, Bollen AW, Wong JD, Grace EM, McDonald WC. Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. Emerg Infect Dis 2003 Apr,9(4):485-8.
28. McDonald WL, Jamaludin R, Mackereth G, Hansen M, Humphrey S, Short P, Taylor T, Swingle J, Dawson CE, Whatmore AM, Stubberfield E, Perrett LL, Simmons G. Characterization of a *Brucella* sp. strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand. J Clin Microbiol 2006 Dec,44(12):4363-70.
29. Chain PS, Comerci DJ, Tolmasky ME, Larimer FW, Malfatti SA, Vergez LM, Agüero F, Land ML, Ugalde RA, Garcia E. Whole-Genome Analyses of Speciation Events in Pathogenic *Brucellae*. Infect Immun 2005 Dec,73(12):8353-61.
30. Moreno E, Cloeckert A, Moriyón I. *Brucella* evolution and taxonomy. Vet Microbiol 2002 Dec 20,90(1-4):209-27.

31. Moreno E, Moriyon I. The procaryotes: an evolving microbiological resource for the microbiological community. Springer, New York, 2001.
32. Corbel MJ. Brucellosis: an Overview. *Emerg Infect Dis* 1997 Apr-Jun,3(2):213-21.
33. World Health Organization. The Development of New/Improved Brucellosis Vaccines: Report of WHO Meeting. Geneva, Switzerland, 1997 Dec 11-12.
34. Manuila L, Manuila A, Lewalle P, Nicoulin M. Dicionário Médico. 3rd ed. Lisboa: Climepsi Editores, 2004.
35. Dokuzoğuz B, Ergönül O, Baykam N, Esener H, Kiliç S, Celikbaş A, Eren S, Esen B. Characteristics of *B. melitensis* versus *B. abortus* bacteraemias. *J Infect* 2005 Jan,50(1):41-5.
36. Pessegueiro P, Barata C, Correia J. Brucelose – uma revisão sistematizada. *Med Int* 2003 Apr-Jun,10:91 - 100.
37. Fosgate GT, Carpenter TE, Chomel BB, Case JT, DeBess EE, Reilly KF. Time-space clustering of human brucellosis, California, 1973-1992. *Emerg Infect Dis* 2002 Jul,8(7):672-8.
38. Mantur BG, Mangalgi SS, Mulimani M. *Brucella melitensis*-a sexually transmissible agent. *Lancet* 1996 Jun 22,347(9017):1763.
39. Ruben B, Band JD, Wong P, Colville J. Person-to-person transmission of *Brucella melitensis*. *Lancet* 1991 Jan 5,337(8732):14-5.
40. Barnett, B. Brucellosis: Congenital transmission in Galveston. *Disease Prevention News*. Texas Department of Health. 1996 Sept 30,56(20):1-2.
41. Dimitrov Ts, Panigrahi D, Emara M, Awni F, Passadilla R. Seroepidemiological and Microbiological Study of Brucellosis in Kuwait. *Med Princ Pract* 2004 Jul-Aug,13(4):215-9.
42. Godfroid J, Cloeckert A, Liautard JP, Kohler S, Fretin D, Walravens K, Garin-Bastuji B, Letesson JJ. From the discovery of the Malta fever's to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet Res* 2005 May-Jun,36(3):313-26.
43. Souza AP, Filho DC, Fávero M. Investigação da brucelose em bovinos e em consumidores humanos de leite. *Rev de Saúde Públ* 1977 Jun 2,11.
44. Martins MV. A *Brucella* e os Produtos Alimentares de Origem Animal. *Vet Técn* 1994,2:20-3.
45. Almuneef MA, Memish ZA, Balkhy HH, Alotaibi B, Algoda S, Abbas M, Alsubaie S. Importance of screening household members of acute brucellosis cases in endemic areas. *Epidemiol Infect* 2004 Jun,132(3):533-40.
46. Dahouk SA, Neubauer H, Hensel A, Schöneberg I, Nöckler K, Alpers K, Merzenich H, Stark K, Jansen A. Changing Epidemiology of Human Brucellosis, Germany, 1962-2005. *Emerg Infect Dis* 2007 Dec,13(12):1895-900.
47. Gracia, R C, Zarain, P L e Laguna, Y M. Mecanismos de Patogenicidad e Interacción: Parásito-Hospedero II. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla: BUAP, 2006.

48. Zhan Y, Kelso A, Cheers C. Differential Activation of Brucella-Reactive CD41 T Cells by Brucella. *Infect Immun* 1995 Mar,63(3):969-75.
49. Caron E, Peyrard T, Köhler S, Cabane S, Liautard JP, Dornand J. Live Brucella spp. Fail To Induce Tumor Necrosis Factor Alpha. *Infect Immun* 1994 Dec,62(12):5267-74.
50. Gracia RC, Zarain PL, Laguna YM. Mecanismos de patogenicidad e interacción parásito-hospedero. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla: BUAP, 2004.
51. Arenas GN, Staskevich AS, Aballay A, Mayorga LS. Intracellular trafficking of Brucella abortus in J774 macrophages. *Infect Immun* 2000 Jul,68(7):4255-63.
52. Pizarro-Cerdá J, Moreno E, Sanguedolce V, Mege JL, Gorvel JP. Virulent Brucella abortus prevents lysosome fusion and is distributed within autophagosome-compartments. *Infect Immun* 1998 May,66(5):2387-92.
53. Cunha M, Miguel N, Manso JA. Brucelose em Pediatria. *Rev Port Clin Geral* 2003,19:84-8.
54. DelVecchio VG, Kapatral V, Redkar RJ, Patra G, Mujer C, Los T. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen Brucella melitensis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Jan 8,99(1):443-8.
55. Khan MY, Mah MW, Memish ZA. Brucellosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 2001 Apr 15,32(8):1172-7.
56. Leandro J, Helena R, Antunes M. Brucella endocarditis of the aortic valve. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998 Jan,13(1):95-7.
57. Jacobs F, Abramowicz D, Vereerstraeten P, Le Clerc JL, Zech F, Thys JP. Brucella endocarditis: the role of combined medical and surgical treatment. *Rev Infect Dis* 1990 Sep-Oct,12(5):740-4.
58. Reguera JM, Alarcón A, Miralles F, Pachón J, Juárez C, Colmenero JD. Brucella endocarditis: clinical, diagnostic and therapeutic approach. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003 Nov,22(11):647-50.
59. Meliço-Silvestre A, Côrte-Real R, Cunha S, Pombo V, Coelho F, Oliveira J, et al. Doenças Infecciosas - O Desafio da Clínica. Coimbra: MinervaCoimbra, 2003.
60. Instituto Nacional de Estatística. Estatísticas da Saúde 1999. 2001 Aug 13.
61. Instituto Nacional de Estatística. Indicadores Sociais 2006. 2007.
62. Direcção-Geral da Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 2000-2004. 2005.
63. Direcção-Geral da Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 2003-2007. Lisboa, 2008.
64. Direcção-Geral da Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 1996-2000. 2001.
65. Moreno S, Ariza J, Espinosa FJ, Podzamczar D, Miró JM, Rivero A. Brucellosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998 May,17(5):319-26.

66. Al-Shamahy HA, Wright SG. A study of 235 cases of human brucellosis in Sana'a, Republic of Yemen. *East Mediterr Health J* 2001 Jan-Mar,7(1-2):238-46.
67. Bingol A, Togay-Isikay C. Neurobrucellosis as an exceptional cause of transient ischemic attacks. *Eur J Neurol* 2006 May,13(5):544-8.
68. Tsolia M, Drakonaki S, Messaritaki A, Farmakakis T, Kostaki M, Tsapra H, Karpathios T. Clinical features, complications and treatment outcome of childhood brucellosis in central Greece. *J Infect* 2002 May,44(4):257-62.
69. Mantur BG, Akki AS, Mangalgi SS, Patil SV, Gobbur RH, Peerapur BV. Childhood brucellosis - a microbiological, epidemiological and clinical study. *J Trop Pediatr* 2004 Jun,50(3):153-7.
70. Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, Mulimani MS, Veerappa, Kariholu P, et al. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults. *J Med Microbiol* 2006 Jul,55(Pt 7):897-903.
71. Celebi G, Külah C, Kiliç S, Ustündağ G. Asymptomatic *Brucella* bacteraemia and isolation of *Brucella melitensis* biovar 3 from human breast milk. *Scand J Infect Dis* 2007,39(3):205-8.
72. Betsy T, Keogh J. *Microbiology Demystified*. McGraw-Hill Publishing, 2005.
73. Barclay R. ESKIA endotoxin-core antibody (EndoCab) Home Page[Online]. Available from:
URL:<http://freespace.virgin.net/r.barclay/edtxsch1.html>.
74. World Health Organization. Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. Geneva, 1986.
75. Chomel BB, DeBess EE, Mangiamale DM, Reilly KF, Farver TB, Sun RK, Barrett LR. Changing trends in the epidemiology of human brucellosis in California from 1973 to 1992: a shift toward foodborne transmission. *J Infect Dis* 1994 Nov,170(5):1216-23.
76. Kozukeev TB, Ajeilat S, Maes E, Favorov M, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Risk factors for brucellosis--Leylek and Kadamjay districts, Batken Oblast, Kyrgyzstan, January-November, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006 Apr 28,55 Suppl 1:31-4.
77. Pike RM. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3921 cases. *Health Lab Sci* 1976 Apr,13(2):105-14.
78. Pedro-Botet J, Coll J, Auguet T, Rubiés-Prat J. Brucellosis and HIV infection: A casual association? *AIDS* 1992 Sep,6(9):1039-40.
79. Direcção-Geral da Saúde. *Doenças de Declaração Obrigatória 1996-2000*. Lisboa, 2001.

Capítulo 7

Anexos

15 JAN 2009
Verónica



Centro
Hospitalar
Cova da Beira, E.P.E.

Núcleo de Investigações
21 JAN. 2009
[Handwritten initials]

Parecer:	Despacho: <i>OK</i> <i>autorizado</i> <i>[Handwritten signatures]</i> 21.01.2009
ASSUNTO: Projecto de Investigação nº 101/2008 - "Brucelose no Hospital Pêro da Covilhã, a última década"	
PARA: Exmo. Sr. Presidente do Conselho de Administração DE: Núcleo de Investigação	N.º 14/NI Data 12/01/2009
<p>Em relação ao assunto em epígrafe, junto envio o pedido de autorização de Tânia Maria Pinheiro de Almeida, aluna do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, para a realização de um estudo subordinado ao tema "Brucelose no Hospital Pêro da Covilhã, a última década", a realizar nos Serviços de Pediatria e Medicina deste Centro Hospitalar.</p> <p>Envio ainda em anexo, o parecer favorável nº. 11/2009 emitido pela Comissão de Ética.</p> <p>Informo que se encontram reunidos todos os requisitos necessários de acordo com o Regulamento e Normas do Núcleo de Investigação.</p> <p>Com os melhores cumprimentos, <i>parciais</i></p> <p>P'lo Núcleo de Investigação</p> <p><i>[Handwritten signature]</i></p> <p>(Dr.ª Rosa Saraiva)</p>	