

## INVESTIGAÇÕES SÔBRE A FEBRE Q EM SÃO PAULO <sup>o</sup>

### II — Estudos em tratadores de gado e em bovinos

LUIZ AUGUSTO RIBEIRO DO VALLE \*

HELVÉCIO BRANDÃO \*\*

DÁCIO DE ALMEIDA CHRISTOVÃO \*\*\*

MÁRIO D'APICE \*\*\*\*

Desde os trabalhos iniciais, feitos por Derrick <sup>4</sup>, em 1937, na Austrália, ficou evidenciada uma estreita correlação entre a infecção humana e o contacto com bovinos <sup>5</sup>. Os estudos epidemiológicos realizados por Derrick, Smith e Brown <sup>6</sup>, revelaram, entre outros fatos, a presença de anticorpos específicos nos soros daqueles animais.

- Nos Estados Unidos da América do Norte, as primeiras epidemias descritas de febre Q foram observadas em trabalhadores de um matadouro em Amarillo, no Texas, <sup>10, 17</sup> e entre operários de um frigorífico de Chicago, em Illinois <sup>15</sup>.

Investigações realizadas na Califórnia, onde esta infecção é endêmica, vieram esclarecer alguns aspectos da sua epidemiologia, mostrando, aí, também, uma relação entre a doença humana e a existência de bovinos infectados. Nestes animais, não só foi evidenciada a presença de anticorpos fixadores de complemento <sup>11, 16</sup> como deles foi possível isolar a *Coxiella burnetii* pela inoculação de leite <sup>9</sup> ou placenta <sup>13</sup> em animais sensíveis. Esta mesma rickettsia, foi em outra série de trabalhos, isolada de poeira de uma granja leiteira <sup>3</sup>.

Segundo Huebner e Bell <sup>7</sup>, no sul da Califórnia, ao contrário do que acontece na região Norte do Estado <sup>12</sup>, o principal fator de disseminação da febre Q é a associação do homem ao gado vacum vivo, sendo mais expos-

---

Recebido para publicação em 30-10-1955.

<sup>o</sup> Trabalho da Secção de Virulogia do Instituto Adolfo Lutz, da Secção de Rickettsias do Instituto Butantan, do Departamento de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Lucas de Assumpção) da Faculdade de Higiene e Saúde da Universidade de São Paulo e da Secção de Epizootias do Instituto Biológico. Apresentado ao Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina, em 4 de agosto de 1953.

A primeira parte deste trabalho foi publicado no vol. 7, n.º 1, 1953, destes Arquivos.

\* Chefe da Secção de Virulogia do Instituto Adolfo Lutz, ex-chefe da Secção de Rickettsias do Instituto Butantan.

\*\* \*\*\* Assistentes da Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Lucas de Assumpção) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

\*\*\*\* Chefe da Secção de Epizootias do Instituto Biológico.

tos à infecção, aquêles que, pela sua profissão, entram em contacto com o mesmo, os que vivem próximos às granjas leiteiras, ou, ainda, aquêles que se utilizam de leite crú. A êste propósito, é interessante mencionar que, Huebner, Jellinson e Wilcox<sup>8</sup>, inoculando, em cobaias, leite total ou creme, comercialmente pasteurizados, provocaram, nas mesmas, aparecimento de anticorpos específicos.

Em vários outros países, também, tem sido verificada a existência desta infecção em bovinos, algumas vêzes provocando o aparecimento da doença no homem, como assinalam Berge e Lennette<sup>1</sup>, em recente e minuciosa revisão do assunto.

Em nosso meio, em trabalho anterior, Brandão, Ribeiro do Valle e Christovão<sup>2</sup> encontraram anticorpos fixadores de complemento, específicos, em soros de trabalhadores de um frigorífico.

Êstes resultados preliminares sugeriam o prosseguimento de nossas investigações. Assim, achamos interessante verificar si era possível evidenciar, em nosso meio, a existência de febre Q em bovinos e seus tratadores, através de estudos sorológicos e tentativas de isolamento da rickettsia.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Estudos sorológicos*

*Soros* — Foram colhidas amostras de sangue de tratadores e de bovinos de diferentes locais, compreendendo o total de 14 granjas leiteiras, fazendas ou estabelecimentos, situados no Estado de São Paulo. De cinco dêstes locais foram obtidos, sòmente, soros de tratadores; de seis outros, só de bovinos e, dos três restantes, de ambos os grupos estudados.

*Provas de fixação de complemento* — Com os soros obtidos foram feitas reações de fixação de complemento, usando-se antígeno preparado com a estirpe americana "Nine Mile" de *Coxiella burnetii*. Na execução dessas provas, foram observadas, com pequenas modificações, as instruções fornecidas por Lederle Laboratories Division.

Em linhas gerais a técnica utilizada era a seguinte: o complemento era dosado e duas unidades exatas, contidas em 0,4 ml, eram acrescentadas a 0,4 ml de uma mistura, em partes iguais, de sôro e antígeno. Depois de incubação durante a noite, em geladeira, eram adicionadas hemácias sensibilizadas de carneiro a 2% no volume de 0,4 ml. Levadas ao "banho maria" a 37°C, os primeiros resultados eram observados após um intervalo de 15 minutos. A leitura final era feita, salvo em raras exceções, depois de ½ hora de incubação.

Só as reações em que havia no máximo hemólise de 25% eram consideradas positivas.

## TENTATIVAS DE ISOLAMENTO

Amostras de sangue, de placenta e de leite de bovinos, depois de tratamento adequado, eram inoculadas em cobaias que eram observadas diã-

riamente e sangradas em ocasião oportuna. Quando indicado, eram feitas novas passagens. Com os soros desses animais eram realizadas provas de fixação de complemento, conforme a técnica previamente descrita, utilizando-se, porém, antígeno preparado com a estirpe italiana "Henzerling".

## RESULTADOS

### *Estudos sorológicos*

*Soros humanos* — Os resultados das provas de fixação de complemento dos soros de 71 tratadores de bovinos, de oito locais diversos, estudados, 62 deles na diluição inicial de  $\frac{1}{4}$  e 9 na de  $\frac{1}{8}$ , estão condensados no quadro 1. Em caso de positividade eram eles examinados posteriormente em diluições superiores até serem obtidos os seus títulos finais.

São considerados negativos todos os soros que na diluição de  $\frac{1}{4}$  ou de  $\frac{1}{8}$  mostraram mais de 25% de hemólise.

QUADRO 1 — Resultados das provas de fixação de complemento, de soros de tratadores de bovinos

Locais	Número examinado	Impe- dientes	Negativos	Positivos	Títulos		
					1/8	1/16	1/32
1	1	0	1	0	0	0	0
2	5	0	5	0	0	0	0
4	15	0	14	1	0	1	0
10	8	0	8	0	0	0	0
11	6	0	6	0	0	0	0
12	31	1	29	1	0	1	0
13	4	0	2	2	1	1	0
14	1	0	0	1	1	0	0
Total	71	1	65	5	2	3	0

Com o intuito de verificar se teria havido, após algum tempo, variação dos títulos anteriores, uma segunda amostra de sangue foi conseguida de alguns tratadores dos locais 10 e 12. Os resultados das provas de fixação de complemento da 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> sangrias são transcritos nos quadros 2 e 3.

QUADRO 2 Resultados das provas de fixação de complemento, realizadas em duas amostras consecutivas de soros de tratadores, do local 10

Identificação	8/3/1952	9/12/1952
Rq 1466 .....	0 *	0
Rq 1470 .....	0 *	0
Número examinado .....	2	2

0 \* = negativo na diluição de  $\frac{1}{4}$ .

0 = negativo na diluição de  $\frac{1}{8}$ .

QUADRO 3 — Resultados das provas de fixação de complemento, realizadas em duas amostras consecutivas de soros de tratadores, do local 12

Identificação	26/1/52	12/3/52
Rq 874 .....	0	0
Rq 891 .....	0	0
Rq 893 .....	0	0
Rq 895 .....	0	0
Rq 896 .....	0	0
Rq 897 .....	0	0
Rq 900 .....	0	0
Rq 901 .....	0	0
Rq 902 .....	0	0
Rq 903 .....	0	0
Rq 904 .....	0	0
Rq 905 .....	0	0
Rq 908 .....	0	0
Rq 909 .....	1/4	1/8
Rq 913 .....	0	0
Rq 914 .....	1/16	1/8
Rq 915 .....	0	1/8
Rq 917 .....	0	0
Rq 918 .....	0	0
Rq 920 .....	0	0
Número examinado .....	20	20

0 = negativo na diluição de 1/4.

*Soros bovinos* — Examinaram-se 581 soros de bovinos, dos quais 62, desde o início, individualmente, a partir das diluições de  $1/8$  ou de  $1/16$ . Os outros foram primeiramente estudados em grupos, nas diluições de  $1/8$  ou de  $1/16$ . Todos os soros dos grupos apresentando reações negativas foram considerados negativos. Em alguns grupos, em que as reações mostraram forte fixação de complemento, os soros componentes foram examinados individualmente em diluições sucessivas até que fosse determinado o seu título final.

Os resultados obtidos podem ser vistos nos quadros 4, 5 e 6.

QUADRO 4 — Resultados das provas de fixação de complemento, realizadas em 33 grupos de soros estudados, na diluição de  $1/8$ , compreendendo o total de 242 bovinos

Total	Impedientes	Negativos	Positivos
33	2	8	23

QUADRO 5 — Resultados das provas de fixação de complemento, realizadas em 18 grupos de soros estudados, na diluição de 1/16, compreendendo o total de 277 bovinos

Total	Impedientes	Negativos	Positivos
18	5	0	13

QUADRO 6 — Resultados obtidos em 171 soros de bovinos, dos quais 62 foram estudados individualmente, desde o início, e 109, depois de examinados em grupos

Total	Impe- dientes	Nega- tivos	Posi- tivos	Títulos					
				1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
171	16	131	24	16	5	2	0	1	0

A fim de ser verificada a especificidade das reações, além dos controles habituais, os primeiros soros estudados foram examinados, também, em presença de antígeno preparado com vitelinas não inoculadas. Posteriormente, foi este controle repetido só esporadicamente.

Os resultados obtidos estão expostos no quadro 7.

QUADRO 7 — Resultados das provas de fixação de complemento, feitas em presença de antígeno específico e de antígeno preparado com vitelinas não inoculadas

Identificação	Antígeno normal		Antígeno específico		
	1/8		1/8	1/16	1/32
Rq 1	0		0	0	—
Rq 2	0		2	±	0
Rq 3	0		±	0	—
Rq 4	0		1	0	0
Rq 6	0		4	1	±
Rq 7	0		0	—	—
Rq 8	0		2	0	—
Rq 9	0		3	1	0
Rq 10	0		±	0	0
Rq 11	0		0	0	0
Rq 12	0		±	0	0
Rq 13	0		1	0	0
Rq 14	0		1	±	0
Rq 15	0		2	±	0
Rq 16	0		2	±	0
Rq 19	0		0	0	0
Rq 20	0		0	0	0
Rq 21	0		0	0	0
Rq 22	0		1	0	0
Rq 32	0		0	0	0
Rq 33	0		4	1	0
Rq 34	0		1	0	0

0 = 100% de hemólise.

± = > 75% de hemólise.

1 = 75% de hemólise.

2 = 50% de hemólise.

3 = 25% de hemólise.

4 = praticamente sem hemólise.

— = reação não realizada.

O quadro 8 mostra os resultados das provas de fixação de complemento obtidos em soros de duas novilhas examinados no Instituto Butantan e na Harvard School of Public Health <sup>2</sup>.

QUADRO 8 — Resultados das provas de fixação de complemento de soros de bovinos, examinados em presença de antígenos de febre Q, tifo murino, rickettsiose variceliforme e antígeno normal

Identificação	Data	Instituto Butantan		Harvard School of Public Health		
		AN	FQ	FQ	TM	RV
Rq 223 .....	19/12/51	0 *	0 *	0	0	0
Rq 225 .....	19/12/51	0 *	1/32	1/40	0	0

0 \* = negativo na diluição de 1/8.  
0 = negativo na diluição de 1/5.

AN: antígeno normal.  
FQ: antígeno de febre Q.

TM: antígeno de tifo murino.  
RV: antígeno de rickettsiose variceliforme.

O quadro 9 apresenta os resultados do exame sorológico de amostras de diferentes rebanhos de bovinos.

QUADRO 9 — Resultados das provas de fixação de complemento, realizadas em soros de bovinos, de diferentes rebanhos

Local	Número examinado	Impe- dientes	Nega- tivos	Posi- tivos	Títulos					
					1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
1	26	1	25	0	0	0	0	0	0	0
2	10	0	9	1	0	1	0	0	0	0
3	20	2	18	0	0	0	0	0	0	0
4	39	3	33	3	2	0	0	0	1	0
Total	95	6	85	4	2	1	0	0	1	0

De 16 rêses, de um dos rebanhos, foi conseguida uma segunda amostra de sôro, cêrca de 2 ou 5 meses mais tarde. Com êstes soros foram feitas provas de fixação de complemento e os resultados são transcritos no quadro 10.

QUADRO 10 — Resultados das provas de fixação de complemento, realizadas em duas amostras consecutivas de soros de 16 bovinos, do local 4

Identificação	23/10/51	19/12/51	26/3/52
Rq 223 .....	1/32	0 *	—
Rq 225 .....	1/64	1/32	—
Rq 174 .....	0	—	0
Rq 176 .....	0	—	0
Rq 177 .....	impediente	—	1/256
Rq 178 .....	0	—	0
Rq 180 .....	0	—	0
Rq 182 .....	0	—	0
Rq 185 .....	0	—	1/8
Rq 187 .....	0	—	0
Rq 194 .....	0	—	0
Rq 200 .....	0	—	0
Rq 204 .....	0	—	1/8
Rq 207 .....	0	—	0
Rq 257 .....	impediente	—	impediente
Rq 267 .....	0	—	0

0 \* = negativo a 1/8 e positivo a 1/4.

0 = negativo a 1/8.

— = reação não realizada.

Em épocas normais, rêses de raça apurada são continuamente importadas de países onde a pecuária atingiu grande desenvolvimento. Estes animais, assim que chegam a São Paulo, são levados para o parque da Água Branca, estabelecimento sob a dependência da Secretaria da Agricultura, onde são deixados em observação por algum tempo.

Os resultados dos exames de soros de alguns desses animais estudados, são apresentados no quadro 11.

QUADRO 11 — Resultados das provas de fixação de complemento, realizadas em soros de bovinos importados

Procedência	Data	Número examinado	Impe- dientes	Nega- tivos	Posi- tivos	Títulos		
						1/16	1/32	1/64
Holanda .....	7/1/52	20	1	16	3	2	1	0
Inglaterra .....	5/4/52	6	1	2	3	3	0	0
Total .....		26	2	18	6	5	1	0

## TENTATIVAS DE ISOLAMENTO

Tentativas de isolamento da rickettsia causadora da febre Q foram feitas inoculando amostras de placenta, leite e sangue de bovinos em cobaias.

As amostras de leite e placenta foram obtidas de duas vacas, apresentando soros negativos, pertencentes a um rebanho (local 1), em que de 26 soros examinados, 25 foram negativos e 1 impediante.

As duas amostras de sangue provinham de duas novilhas, Rq 223 e Rq 225, de um outro rebanho (local 4), em que ficara evidenciada a existência de soros positivos em títulos elevados. No entanto, apresentavam elas na ocasião um declínio dos mesmos, respectivamente de 1/32 para 1/4 e de 1/64 para 1/32.

O material convenientemente tratado, de acôrdo com a sua natureza, era inoculado em cobaias por via intraperitoneal. Êstes animais eram observados, as suas temperaturas anotadas diàriamente, sangrandos em época oportuna, conforme o caso, e sacrificados para observação final e pesquisa das rickettsias.

Em algumas ocasiões foram feitas passagens em novas cobaias, procedendo-se, então, da maneira anteriormente descrita.

Tôdas as tentativas de isolamento da *Coxiella burnetii* foram negativas, como pode ser depreendido da leitura do quadro 12, em que as principais ocorrências e observações estão esquematicamente representadas.

#### COMENTARIOS

Os resultados das reações sorológicas feitas em tratadores de gado e em bovinos vêm confirmar e ampliar os dados anteriormente publicados referentes aos primeiros estudos realizados em nosso meio <sup>2</sup>.

Com efeito, examinando o quadro 1, vamos verificar que, de 71 soros de tratadores, 65 foram negativos, 1 impediante e 5 positivos, em títulos considerados significativos. Sendo pequeno o número de soros humanos examinados de cada local, não é possível tirar nenhuma conclusão quanto a maior ou menor incidência de soros positivos com relação às respectivas procedências. No entanto, é interessante assinalar que três soros apresentavam anticorpos específicos, em título considerado significativo, de um total de cinco amostras obtidas de uma região próxima à cidade de São Paulo (locais 13 e 14), de onde proviera o primeiro caso clínico de febre Q comprovado, descrito entre nós <sup>14</sup>.

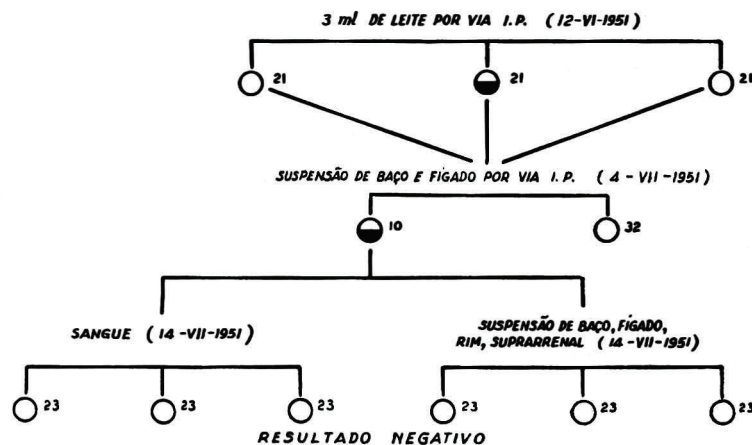
Fazendo reações de fixação de complemento em amostras de soros colhidos, de diversos tratadores, em duas ocasiões diferentes, não conseguimos surpreender uma alteração significativa do título de anticorpos, que pudesse indicar uma infecção, causada pelo agente responsável pela febre Q, durante o período de observação (quadros 2 e 3).

O exame de 171 soros de bovinos estudados, revelou que, 131 foram negativos, 16 impediantes e 24 positivos, alguns deles em títulos elevados (quadro 6).

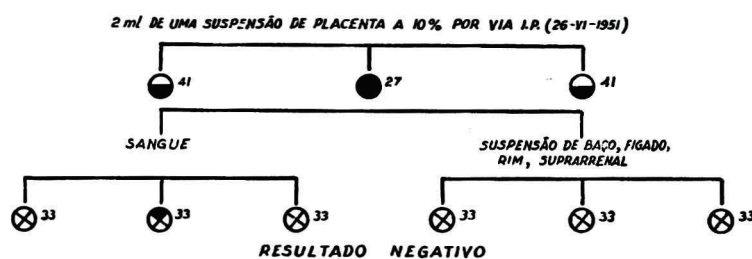


**QUADRO 12 — TENTATIVA DE ISOLAMENTO DE *COXIELLA BURNETII***

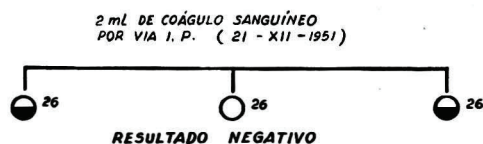
**CASO 1 - LEITE DE VACA (Rq 3)**



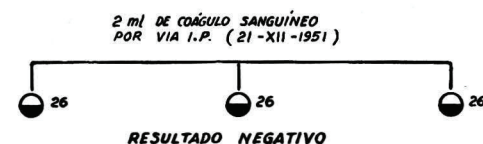
**CASO 2 - PLACENTA DE VACA (Rq 35)**



**CASO 3 - SANGUE DE NOVILHA (Rq 223-19-XII-1951. PROVA DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO: TÍTULO  $\frac{1}{2}$ )**



**CASO 4 - SANGUE DE NOVILHA (Rq 225-19-XII-1955. PROVA DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO: TÍTULO  $\frac{1}{32}$ )**



**SÍMBOLOS:** OS NÚMEROS AO LADO DOS CÍRCULOS INDICAM OS DIAS EM QUE AS COBAIAS PERMANECERAM EM OBSERVAÇÃO.

- ANIMAL SEM FEBRE, PROVA DE FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO NEGATIVA.
- ◐ ANIMAL APRESENTOU TEMPERATURA ACIMA DE 38,6°C; PROVA DE FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO NEGATIVA.
- ANIMAL APRESENTOU TEMPERATURA ACIMA DE 38,6°C; PROVA DE FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO ANTICOMPLEMENTAR.
- ⊗ ANIMAL SEM FEBRE, NÃO FOI FEITA PROVA DE FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO.
- ⊗ ANIMAL APRESENTOU TEMPERATURA DE 38,7°C, SÓ NUM DIA, EM TODO O PERÍODO DE OBSERVAÇÃO; NÃO FOI FEITA PROVA DE FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO.

A fim de controlar a especificidade das reações, além dos controles habituais, as provas de fixação de complemento dos soros de bovinos estudados, no início, eram feitas, sempre em presença de antígeno preparado com vitelinas normais não inoculadas (quadro 7). Em vista dos resultados obtidos, evidenciando a alta especificidade da reação, posteriormente, no decorrer deste trabalho, este controle só foi realizado esporadicamente.

A esse propósito, é interessante assinalar que dois soros examinados na Harvard School of Public Health não só foram negativos em presença de antígenos de tifo murino e rickettsiose variceliforme, como também, os resultados obtidos com antígeno de febre Q corresponderam perfeitamente aos obtidos, aqui, por nós (quadro 8).

Os resultados das provas de fixação de complemento realizadas em amostras obtidas de 4 rebanhos vêm mostrar uma variação na incidência de soros positivos conforme a sua procedência (quadro 9).

Ao lado dos estudos sorológicos, foram feitas 4 tentativas de isolamento de *Coxiella burnetii* a partir de material diverso: leite, placenta e sangue de bovinos. Todas as tentativas foram negativas (quadro 12).

Estes resultados podem ter explicação, em parte, no fato de que as amostras obtidas não eram favoráveis. Com efeito, o leite e a placenta foram obtidos de duas vacas apresentando soros negativos, pertencentes a um rebanho (local 1) em que, dos 26 soros examinados, 25 foram negativos e um impediante. As duas amostras de sangue, por outro lado, embora proviessem de um rebanho (local 4) em que foram encontradas rêses com títulos elevados, tinham sido colhidas de duas novilhas (Rq 223 e Rq 225) que mostravam uma diminuição do teor de anticorpos.

Não foram feitas outras tentativas de isolamento do agente causador da febre Q, porque, só pudemos dispor de instalações adequadas, para este fim, no início deste trabalho.

Além da positividade de certas reações sorológicas, algumas em títulos elevados, outros dados obtidos durante o decorrer deste trabalho merecem ser ressaltados.

De uma granja leiteira (local 4), em que foi possível examinar, não só os soros dos bovinos como os de seus respectivos tratadores, foram encontrados resultados positivos em ambos os grupos estudados (quadros 1 e 9).

O rebanho, deste mesmo local, foi observado mais detidamente, e os resultados das provas de fixação de complemento realizadas, em duas amostras de soros obtidas com um intervalo de cerca de 2 ou 5 meses, mostraram, que de um total de 16 rêses examinadas, uma apresentava diminuição considerada significativa do título de anticorpos (quadro 10). Este resultado

indicaria que o animal sofrera uma infecção que se encontrava em regressão, no momento dos exames efetuados.

As duas tentativas de isolamento do agente causal da febre Q, feitas, com amostras de sangue obtidas dêsse rebanho, foram, no entanto, negativas, fato êste, porém, que encontra sua explicação em motivos já anteriormente mencionados.

Além dos exames realizados em bovinos de fazendas, granjas e estabelecimentos locais, achamos interessante, como ilustração do presente trabalho, examinar os soros de animais recentemente importados de outros países. Foram feitas, por esta razão, reações de fixação de complemento com soros de bovinos provenientes da Holanda e da Inglaterra. Em ambos os grupos, obtiveram-se resultados positivos.

Como são importados continuamente animais de países em que é conhecida a existência da febre Q, desde há algum tempo, e em presença dos resultados dêste trabalho e dos dados anteriormente, por nós, obtidos<sup>2</sup>, fica em aberto a questão: existiria esta infecção entre os nossos bovinos há muito tempo ou foi ela, só recentemente, introduzida em nosso meio?

Em conclusão, os dados aqui apresentados vêm confirmar e ampliar os resultados das investigações epidemiológicas realizadas anteriormente<sup>2</sup>, trazendo nova contribuição ao conhecimento dessa infecção em nosso meio, pela evidenciação de soros apresentando anticorpos específicos para febre Q em tratadores de gado e em bovinos.

#### RESUMO

1) Reações de fixação de complemento para febre Q foram feitas em soros de tratadores de bovinos de um total de 8 granjas leiteiras, fazendas ou estabelecimentos situados no Estado de São Paulo. De 71 soros examinados, 65 eram negativos, 1 impediante e 5 positivos, sendo 2 no título de 1/8 e 3 no de 1/16.

2) De 20 tratadores de um rebanho (local 12), foi possível obter uma segunda amostra de sôro, 45 dias mais tarde. Os resultados obtidos em ambas as amostras colhidas dos mesmos indivíduos não mostraram diferença significativa de título. O mesmo fato foi observado no exame de soros de dois tratadores de um outro rebanho (local 10), em amostras colhidas com um intervalo de cêrca de 9 meses.

3) Foram estudados, também, os soros de 581 bovinos pertencentes a 9 rebanhos de granjas leiteiras, fazendas ou estabelecimentos especializados localizados no Estado de São Paulo. As provas sorológicas realizadas mostraram que, de 171 soros de bovinos estudados individualmente no título de 1/16, 131 eram negativos, 16 impediantes e 24 positivos, sendo 16 no título de 1/16, 5 no de 1/32, 2 no de 1/64 e 1 no de 1/256.

4) Os soros de duas novilhas de um rebanho (local 4) apresentaram os títulos finais de 1/32 e 1/64 numa primeira sangria. Os resultados obtidos, pelo exame de uma segunda amostra de sangue, colhida cerca de dois meses mais tarde, mostraram uma queda significativa no título do primeiro animal para 1/4 e no do outro, um declínio para 1/32. Os resultados das provas de fixação de complemento realizadas nos soros de 12 outros bovinos deste mesmo rebanho, negativos no título de 1/8, não mostraram variação significativa, quando estudados em uma segunda sangria realizada cerca de 5 meses depois.

5) As tentativas de isolamento da *Coxiella burnetii*, pela inoculação em cobaias, de duas amostras de sangue, uma de leite e outra de placenta de bovinos, provenientes de dois rebanhos estudados, foram negativas.

6) Foram feitas provas de fixação de complemento em 26 soros de bovinos recentemente importados da Holanda e da Inglaterra, dos quais 18 foram negativos, 2 impeditivos e 6 positivos, sendo 5 no título de 1/16 e 1 no de 1/32.

#### SUMMARY

The results of investigations concerning Q fever in cattle ranchers, dairy workers and cattle of the state of São Paulo are here reported. The serologic data here presented confirm and amplify those previously reported.

1) By using the specific complement fixation test, sera of 71 cattle ranchers or dairy workers, belonging to 8 different establishments, were studied. Of these 71 serums, 65 were negative, 1 anticomplementary and 5 positive: two at a titer of 1 in 8 and three at a titer of 1 in 16.

2) Tests of a second serum from 20 dairy workers showed no significant difference from the first examination when performed forty five days later. A similar result was obtained in the study of the sera of two ranchmen, when examined a second time after an interval of about nine months.

3) Sera from 581 animals belonging to 9 different herds were studied. Of 171 bovine sera studied, 131 were negative, 16 anticomplementary and 24 positive, 16 at a titer of 1 in 16, 5 at 1 in 32, 2 at 1 in 64 and 1 at 1 in 256.

4) Two heifers from one of the herds had sera positive at 1 in 32 and 1 in 64; they showed a drop in titer, about two months later, to 1 in 4 and 1 in 32, respectively. The results of the tests performed with sera from 12 other animals of the same herd, negative in the first bleeding at a titer of 1 in 8, did not show significantly different results about five months later.

5) Attempts to isolate *Coxiella burnetii* from two samples of blood, one of milk and one of placenta from bovines belonging to two of the 9 herds, failed.

6) Of 26 sera of recently imported bovines from other countries (Netherlands and Great Britain), 18 were negative, 2 anticomplementary and 6 positive, 5 at a titer of 1 in 16 and 1 at a titer of 1 in 32.

#### AGRADECIMENTOS

Deixamos consignados, aqui, os nossos agradecimentos, aos Profs. Dóris Fonseca Ribeiro, ex-Diretor do Instituto Butantan, John C. Snyder e Edward S. Murray da Harvard School of Public Health, ao Dr. Ernesto Rinali, da Secretaria da Agricultura e ao Dr. José Alberto Candeias pela colaboração prestada.

Agradecemos às senhoritas Odette Oliveira e Clarice de Souza a cooperação técnica dispensada.

Manifestamos o nosso reconhecimento a Barroso-Walter S. A., Indústria e Comércio, representantes de Lederle Laboratories Division, pelos antígenos de febre Q e a E. R. Squibb Sons do Brasil pelo antígeno normal a nós fornecidos.

*Nota* — Após ter sido apresentado este trabalho ao Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina, em 4 de agosto de 1953, Travassos, J., Ubatuba, A., Silva, N. e Mello, M. T.<sup>18</sup> comunicaram à VI Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Ribeirão Preto, em 12 de novembro de 1954, terem encontrado anticorpos específicos para febre Q em bovinos do Estado do Rio de Janeiro.

#### REFERÊNCIAS

1. Berge, T. O. & Lennette, E. H.: World distribution of Q fever: Human, animal and arthropod infection. *Am. J. Hyg.* **57**:125-143, 1953.
2. Brandão, H.; Ribeiro do Valle, L. A. & Christovão, D. de A.: Investigações sobre a febre Q em São Paulo. I. Estudo sorológico em operários de um frigorífico. *Arq. Fac. Hig. Saúde Pú. Univ. São Paulo*, **7**:127-134, 1953.
3. De Lay, P. D.; Lennette, E. H. & De Ome, K. B.: Q fever in California. II. Recovery of *Coxiella burnetii* from naturally-infected airborne dust. *J. Immunol.* **65**:211-220, 1950.
4. Derrick, E. H.: Q fever, a new fever entity: clinical features and laboratory investigation. *Med. J. Australia*, **2**:281-289, 1937.
5. —: The epidemiology of Q fever. *J. Hyg.* **43**:357-361, 1944.

6. Derrick, E. H.; Smith, D. J. W. & Brown, H. E.: Studies in the epidemiology of Q fever. IX. The role of the cow in the transmission of human infection. *Australian J. Exper. Biol. & M. Sc.* **20**:105-110, 1942.
7. Huebner, R. J. & Bell, J. A.: Q fever studies in Southern California. Summary of current results and a discussion of possible control measures. *J. A. M. A.* **145**:301-305, 1951.
8. —; Jellison, W. L. & Wilcox, F. P.: Q fever studies in Southern California. III. Effects of pasteurization in naturally infected milk. *Pub. Health Rep.* **69**:499-511, 1949.
9. — et al.: Q fever studies in Southern California. I. Recovery of *Rickettsia burneti* from raw milk. *Pub. Health Rep.* **63**:1611-1618, 1948.
10. Irons, J. V.; Murphy, J. N. (Jr) & Wolfe, D. M.: Q fever in the United States. III. Serologic observations in an outbreak among stock handlers and slaughterhouse workers. *J. A. M. A.* **133**:819-820, 1947.
11. Jellison, W. L. et al.: Q fever studies in Southern California. V. Natural infection in a dairy cow. *Pub. Health Rep.* **63**:1611-1618, 1948.
12. Lennette, E. H. & Clark, W. H.: Observations on the epidemiology of Q fever in Northern California. *J. A. M. A.* **145**:306-309, 1951.
13. Luoto, L. & Huebner, R. J.: Q fever studies in Southern California. IX. Isolation of Q fever organisms from parturient placentas of naturally infected dairy cows. *Pub. Health Rep.*, **65**:541-544, 1950.
14. Ribeiro do Valle, L. A.; Castro, R. M.; Bassoi, O. N. & Ferreira, J. M.: Febre Q em São Paulo: primeiro caso clínico comprovado por estudos sorológicos. *Rev. Paulista Med.* **46**:447-456, 1955.
15. Shepard, C. C.: An outbreak of Q fever in a Chicago packing house. *Am. J. Hyg.* **46**:185-192, 1947.
16. — & Huebner, R. J.: Q fever in Los Angeles Country: description of some of its epidemiological features. *Am. J. Pub. Health*, **38**:781-788, 1948.
17. Topping, N. H.; Shepard, C. C. & Irons, J. V.: Q fever in the United States. I. Epidemiologic studies of an outbreak among stock handlers and slaughterhouse workers. *J. A. M. A.* **133**:813-815, 1947.
18. Travassos, J.; Ubatuba, A.; Silva, N. & Mello, M. T.: Febre Q no Rio de Janeiro. Comunicação à VI Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Ribeirão Preto, em 12 de novembro de 1954.