

# CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y PERFIL DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE MUESTRAS DE *BURKHOLDERIA MALLEI* AISLADAS DE ÉQUIDOS DE LA REGIÓN NORDESTE DE BRASIL

**R.A. Mota<sup>1</sup>, L.B.G. da Silva<sup>1</sup>, K.P.C. da Silva<sup>2</sup>, J.B. da Silva Neto<sup>1</sup>,  
A.P. da Cunha<sup>1</sup>, E.S. do Nascimento Sobrinho<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/nº, CEP 52171-900, Recife, PB, Brasil. E-mail: canjani\_ch@hotmail.com

## RESUMEN

En este estudio fueron aisladas y caracterizadas bioquímicamente siete muestras de *Burkholderia mallei* de secreción de nódulos cutáneos cerrados de equinos y asininos naturalmente infectados por la *B. mallei* y procedentes del Estado de Pernambuco, Nordeste de Brasil. Las muestras de *B. mallei* fueron sometidas a pruebas bioquímicas para su clasificación y posteriormente a varias pruebas de sensibilidad *in vitro* a diferentes drogas antimicrobianas. Se observó variación en el bioquimismo entre las muestras bacterianas, principalmente referente a la fermentación de los carbohidratos. Se observó además, mayor sensibilidad *in vitro* al clorofenicol, doxaciiclina, enrofloxacina, florfenicol, gentamicina, netilmicina, nitrofurantoína, oxalinato, sulfa+trimetoprim y tetraciclina. A pesar de la sensibilidad observada para algunos antimicrobianos, no se indica el tratamiento de los animales enfermos con estos por la posibilidad de que se tornen portadores y mantenedores de la bacteria en el ambiente.

**PALABRAS CLAVE:** Muermo, *Burkholderia mallei*, équidos, antimicrobianos, sensibilidad.

## RESUMO

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE AMOSTRAS DE *BURKHOLDERIA MALLEI* ISOLADAS DA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL. Neste estudo foram isoladas e caracterizadas bioquimicamente sete amostras de *Burkholderia mallei* de secreção de nódulos cutâneos fechados de equinos e asininos naturalmente infectados pela *B. mallei* procedentes do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. As amostras de *B. mallei* foram submetidas a provas bioquímicas de classificação e posteriormente a vários testes de sensibilidade *in vitro* a diferentes drogas antimicrobianas. Foi observada variação no bioquimismo entre as amostras, principalmente no que se refere a fermentação dos carboidratos. Também se observou maior sensibilidade *in vitro* ao clorofenicol, doxaciiclina, enrofloxacina, florfenicol, gentamicina, netilmicina, nitrofurantoína, oxalinato, sulfa+trimetoprim e tetraciclina. Apesar da sensibilidade observada para alguns antimicrobianos, o tratamento dos animais contaminados não é indicado pela possibilidade de que estes se tornem portadores e mantenedores da bactéria no ambiente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Mormo, *Burkholderia mallei*, équinos, antimicrobianos, sensibilidade.

## INTRODUCCIÓN

La *Burkholderia mallei*, un bacilo Gram negativo, causa severa enfermedad infecto contagiosa en solípedos, pero la infección accidental puede ocurrir también en humanos, a través del suelo contaminado o el contacto directo con animales enfermos, por vía digestiva, respiratoria o a través de heridas en

la piel (DANCE, 1991). El primer relato de la enfermedad, fue realizado por Aristóteles y Hipócrates en los siglos 3 y 4 a.C. (WILKINSON, 1981; BLANCOU, 1994; ALIBASOGLU *et al.*, 1986; NEUBAUER *et al.*, 1997). La incidencia de esta enfermedad se encuentra en declive en todo el mundo debido a la disminución del uso de animales de tracción, que son los más susceptibles a la infección, aunque

<sup>3</sup>Centro de Ensino Superior de Maceió (CESMAC), Maceió, AL, Brasil.

todavía existen relatos de casos en África, Asia, América Central y del Sur (KENNY *et al.*, 1998).

En Brasil, se creía que la enfermedad se había erradicado aproximadamente a 40 años atrás, pero fue recientemente diagnosticada por MOTA *et al.* (2000) donde fue descrita la infección en la población de équidos de diferentes áreas de los Estados de Pernambuco y Alagoas. Debido a la disminución de los casos, en algunas regiones del mundo existen pocas referencias en la microbiología actual sobre la sensibilidad de *B. mallei* a antibióticos utilizados actualmente en la medicina (IPATENKO, 1972; AL-IZZI & AL-BASSAM, 1989; BATMANOV, 1993; BATMANOV, 1994; MANZENIUK, 1994). Otras especies de *Burkholderia* spp pueden causar melioidosis en el hombre como la *B. pseudomallei*, que es una de las mayores causas de morbilidad y mortandad humana en algunas regiones de los trópicos (HOWE *et al.*, 1971; DANCE, 1991) y la *B. cepacea*, siendo ambas especies, patógenos oportunistas (HOLMES *et al.*, 1996). El diagnóstico diferencial de *B. mallei* con otras especies y el perfil de sensibilidad microbiana, es esencial debido a la similitud de su antigenicidad, bioquimismo y patogenicidad, particularmente con respecto a su supervivencia intracelular (PRUKSACHARTVUTHI *et al.*, 1990).

La caracterización bioquímica de las muestras de *B. mallei* (AL-ANI *et al.*, 1998; EUZEBY, 1998) y la susceptibilidad antimicrobiana (AL-IZZI & AL-BASSAM, 1989; KENNY *et al.*, 1999; RUSSEL *et al.*, 2000; KENNY *et al.*, 2001) fueron realizadas en varios países, y a pesar del poco éxito en el tratamiento de los animales, la sensibilidad a las drogas pueden auxiliar en el tratamiento terapéutico humano, como también la utilización de pruebas serológicas modernos (VERMA *et al.*, 1990) y la biología molecular (BAUERNFEIND *et al.*, 1998; DESHAZER *et al.*, 2001) como instrumento de diagnóstico más específico y rápido o para un mejor conocimiento estructural de las variantes moleculares de *B. mallei*.

Investigaciones rusas demostraron que las cepas de *B. mallei* son resistentes a las fluoroquinolonas y tetraciclinas (MANZENIUK *et al.*, 1995). Algunos estudios recientes relataron la sensibilidad de la *B. mallei*, *B. pseudomallei* y *B. cepacea*, a la ciprofloxacina, ceftazidime (cefalosporina), doxaciolina, imipenem (*B*-lactámico) y piperacilin (penicilinasemi-sintética) (KENNY *et al.*, 1999).

Considerando la importancia económica que la enfermedad asume para los équidos de la región nordeste de Brasil y su aspecto reemergente, además de la completa ausencia de datos en la literatura nacional sobre este tema, dicho estudio tuvo como objetivo la clasificación bioquímica de muestras brasileñas de *B. mallei* y el establecimiento del perfil de sensibilidad a antimicrobianos utilizados en la clínica veterinaria y humana.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los aislados de *Burkholderia mallei* fueron obtenidos de équidos naturalmente infectados y serológicamente positivos para el muermo a la prueba de fijación del complemento y clínicamente enfermos, provenientes de la Región Metropolitana de Recife y de la Mata del estado de Pernambuco. Fueron colectadas siete muestras de secreción purulenta, a través de punción aspiratoria de nódulos cutáneos cerrados, utilizando agujas hipodérmicas 40/12 mm. Las muestras fueron enviadas en cajas isotérmicas al Laboratorio de Bacteriología de Animales Domésticos del Departamento de Medicina Veterinaria de la UFRPE, siendo cultivadas en ágar base enriquecido con sangre de carnero al 10% y ágar patata glicerinado e incubadas a 37° C por 72h.

Las colonias bacterianas aisladas, con características morfotintoriales semejantes a *B. mallei*, fueron sometidas a pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa, indol, producción de H<sub>2</sub>S, rojo de metilo, Voges Proskauer, motilidad, crecimiento a 42° C, producción de pigmento, lisina descarboxilasa, gas de D-glucosa, citrato, ureasa y fermentación de carbohidratos (glucosa, maltosa, galactosa, lactosa, fructosa, manosa, sacarosa y manitol) según AL-ANI *et al.* (1998). Después de la identificación bacteriana, las muestras de *B. mallei* fueron inoculadas en cobayos (*Cavia porcellus*) machos y adultos, por vía intraperitoneal (prueba de Strauss) según LANGENEGGER *et al.* (1960).

Para la realización del estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se utilizó la técnica de difusión en discos según BAUER *et al.* (1966), utilizando la oxicilina, nitrofurantoína, carbenicilina (100 mcg), florfenicol (30 mcg), enrofloxacina (25 mcg), clidamicina (2 mcg), cotrimazina+espiramicina (100 + 25 mcg), flumequina (30 mcg), polimixina, doxaciolina, ácido nalidíxico (3 mcg), rifampicina, cloranfenicol (30 mcg), ácido pipemídico (20 mcg), oxolinato, tetraciclina (30mcg), norfloxacina (10mcg), josamicina, furaltadona (300 mcg), cotrimazole, kanamicina, gentamicina (10 mcg), tobramicina (10 mcg), ampicacina, furazolidona, netilmicina (30 mcg), cefalotina (30 mcg), espectinomicina+lincomicina y sulfa+trimetropim (25 mcg). Las cepas de *B. mallei* fueron inoculadas en caldo infusión de cerebro y corazón (BHI), incubadas a 37° C, en estufa de rotación a 200 rpm por 24h o hasta el padrón 1UFC de la escala de MacFarland. Posteriormente fueron inoculadas en ágar Mueller-Hinton, utilizando "swabs"; los discos de antimicrobianos fueron colocados en placas, respetando el espacio necesario para la formación de los halos, siendo incubadas a 37°C por 24-48 horas. Para la interpretación de los halos de inhibición se siguió la recomendación del laboratorio fabricante de los antimicrobianos.

Tabla 1 - Caracterización bioquímica de las cepas de *B. mallei* aisladas de équidos naturalmente infectados. Pb-Brasil, 2004.

Bioquimismo	1	2	3	4	5	6	7
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-
V.M.	-	-	-	-	-	-	-
V.P.	-	-	-	-	-	-	-
Motilidad	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento 42° C	-	-	-	-	-	-	-
Producción de pigmento	-	-	-	-	-	-	-
Lisina	+	+	+	+	+	+	+
Gás de D-glucosa	-	-	-	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>	+ <sup>1</sup>
Citrato	-	-	-	-	-	-	-
Ureasa	-	-	-	-	-	-	-
Glucosa	+	+	+	+	+	+	+
Maltosa	-	-	-	-	-	-	-
Galactosa	+/-	+/-	+/-	+	+	+	+
Lactosa	-	-	- <sup>1</sup>	+	-	-	- <sup>1</sup>
Fructosa	-	-	-	- <sup>1</sup>	-	-	-
Manosa	-	-	-	-	-	-	-
Sacarosa	-	-	+	+	-	+	-
Manitol	-	-	-	-	-	-	-

V.M.:rojo de metilo, V.P.: Voges Proskauer, (+<sup>1</sup>) levemente positivo, (-<sup>1</sup>) levemente negativo, (+/-) más de 80% positivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales utilizados en este estudio, presentaron durante el examen clínico, descarga nasal muco-purulenta (uni o bilateral) a veces con sangre, úlceras en la mucosa de los septos nasales, cicatrices en forma de estrella en la mucosa nasal, hipertermia, disnea, estertores pulmonares, debilidad, inapetencia, cansancio al realizar esfuerzo físico, linfangitis, nódulos subcutáneos firmes o fluctuantes a lo largo del trayecto de los vasos linfáticos; algunos animales presentaron edema en los miembros posteriores y prepucio, además del adelgazamiento en los casos crónicos de la enfermedad. Fueron aislados siete bacilos Gram negativos, no esporulados, inmóviles, aerobios, clasificados bioquímicamente como *Burkholderia mallei* segundo AL-ANI *et al.* (1998). Todas las muestras inoculadas en los cobayos provocaron la prueba de Strauss, comprobada por el aumento el tamaño testicular 48-72h después de la inoculación. En la necropsia de los cobayos fueron observadas orquitis purulenta, hemorragia y adherencia entre las tunicas vaginal y albugínea, tunicas hiperémicas con necrosis de caseificación y microabscesos, bolsa escrotal cianótica y edematizada, piogranulomas, hígado con áreas de fibrosis y adherido al diafragma, microabscesos hepáticos y eventualmente congestión; pulmones enfisematosos, a veces congestionados con

microabscesos, absceso en el punto de inoculación, esplenomegalia, omento mayor con abscesos, riñones congestionados y aumentados, congestión del mesenterio, ganglios mesentéricos con abscesos y vejiga hiperémica; a partir de algunas lesiones fueron reaisladas las muestras de *B. mallei*.

El diagnóstico bioquímico diferencial de *B. mallei* con *B. pseudomallei* y *B. cepaceo* fue realizado, puesto que estas últimas dos especies no son patogénicas y no causan infección en los animales (KENNY *et al.*, 1999).

Con relación al patrón bioquímico, se observó que las cepas de *B. mallei* presentaron algunas variaciones referentes a la fermentación de los carbohidratos fructosa, manosa y lactosa, semejantes a aquellas relatadas por REDEFERN *et al.* (1966), AL-ANI *et al.* (1998) y EUZEBY (1998). Se observó, también, variaciones en la fermentación de la sacarosa y ninguna cepa fermentó la maltosa, situación diferente con relación a las muestras estudiadas por AL-ANI *et al.* (1998) (Tabla 1).

La susceptibilidad *in vitro* de *B. mallei* frente a los antimicrobianos utilizados en este estudio, demostró que el derivado del aminoácido *B*-lactámico cefalotina, la lincosamina clindamicina, kanamicina, rifampicina, tobramicina y la furaltadona fueron los menos efectivos, entre tanto, resultado distinto fue encontrado por AL-IZZI & AL-BASSAM (1989), que

relataron efectividad para todas las muestras a la rifampicina, kanamicina y tobramicina. El propanodiol cloranfenicol, los aminoglicosídeos gentamicina y netilmicina, el derivado de acetato y propionato tetraciclina, fueron efectivos para todas las muestras estudiadas. *In vitro* las drogas que actúan en la síntesis de proteínas (gentamicina, cloranfenicol y tetraciclina); los quimioterápicos (ácido nalidíxico y ácido pipemídico) y las drogas antimetabólicas (sulfa+trimetoprim) demostraron mayor efectividad, concordando con los hallados de NAGY *et al.* (1966), IPATENKO (1972) & AL-IZZI & AL-BASSAM (1989), que relataron la sensibilidad de muestras de *B. mallei* a estas drogas (Tabla 2).

Tabla 2 - Susceptibilidad *in vitro* de las diferentes cepas de *Burkholderia mallei* a los antimicrobianos. PB-Brasil, 2004.

Antibiótico	Sensibilidad	
	F.A.	F.R. %
Ácido nalidíxico	6	85,71
Ácido pipemídico	6	85,71
Amicacina	5	71,43
Carbenicilina	2	28,57
Cefalotina	0	0,00
Clidamicina	0	0,00
Cloranfenicol	7	100,00
Cotrimazina+Espir.	4	57,14
Doxaciclina	7	100,00
Enrofloxacina	7	100,00
Espect.+Lincomic.	5	71,43
Florfenicol	7	100,00
Flumequina	6	85,71
Furaltadona	0	0,00
Furazolidona	4	57,14
Gentamicina	7	100,00
Josamicina	6	85,71
Kanamicina	6	85,71
Netilmicina	7	100,00
Nitrofurantoína	0	0,00
Norfloxa	5	71,43
Oxacilina	5	71,43
Oxalinato	7	100,00
Polimixina	3	42,86
Rifampicina	2	28,57
Sulfa+trimetoprim	7	100,00
Tetraciclina	7	100,00
Tobramicina	5	71,43

F.A.: frecuencia absoluta, F.R. %: frecuencia relativa

Todas las cepas de *B. mallei* fueron sensibles a la doxaciclina y gentamicina, coincidiendo con los hallados de HOWE *et al.* (1971) y KENNY *et al.* (1999) que sugirieron la utilización de estos antimicrobianos en el tratamiento del muermo y en la melioidosis humana,

ya que casos clínicos de muermo fueron descritos en propietarios (MACGILVRAY, 1944) y en técnicos de laboratorio (ALIBASOGLU *et al.*, 1986) que manosearon la bacteria. La doxaciclina puede ser utilizada en el tratamiento, debido a la comprobada sensibilidad *in vitro* de *B. mallei* frente a esta droga, asociada a otros antimicrobianos sistémicos para el tratamiento de las melioidosis (KENNY *et al.*, 1999) así como a la ciprofloxacina (LUMBIGANOM *et al.*, 1989 y CHAOWAGUL *et al.*, 1997). A pesar de la eficiencia *in vitro* de la gentamicina, la droga no actúa en el medio intracelular, pudiendo tornar inaccesible también la utilización de otros antibióticos (RUSSEL *et al.*, 2000).

En los tejidos, el bacilo del muermo es encontrado en el interior de nódulos firmes que caracterizan una reacción inflamatoria crónica, por este motivo ocurre una baja penetración de los antibióticos en estos sitios, dificultando la destrucción del agente. En estos casos, la efectividad del antibiótico *in vitro* no es la misma que en las condiciones *in vivo*, pudiendo justificar la reaparición de la enfermedad una vez cesado el tratamiento con antibióticos (MUHAMMAD *et al.*, 1998).

A pesar de que las cepas de *Burkholderia mallei* utilizadas en este estudio presentaron sensibilidad *in vitro* para algunas drogas, principalmente al clorfenicol, doxaciclina, enrofloxacina, florfenicol, gentamicina, netilmicina, nitrofurantoína, oxalinato, sulfa+trimetoprim y tetraciclina, no se recomienda la utilización de esos principios en el tratamiento de los équidos enfermos debido al hecho de que estos animales constituyen un serio riesgo para los animales sanos y para la salud pública y por este motivo el tratamiento del muermo es prohibido en muchos países (WINTZEZ, 1986 & MUHAMMAD *et al.*, 1998). Así mismo, estudios de esta naturaleza con el objetivo de caracterizar el perfil de sensibilidad de las muestras brasileñas a los antimicrobianos, se justifican, una vez que la enfermedad es reemergente en el país y casi nada se sabe sobre este aspecto como también para facilitar el tratamiento de posibles casos de la enfermedad en humanos.

## CONCLUSIÓN

Con base en el estudio bioquímico de las muestras de *B. mallei* aisladas de équidos de los Estados de Pernambuco y Alagoas-Brasil, se verificó poca variación entre las bacterias estudiadas. Este hallado podría ser confirmado con el estudio molecular de las mismas muestras en otros estudios. Hasta el momento todavía no fueron notificados casos de la enfermedad en humanos en las regiones estudiadas, pero el perfil de susceptibilidad *in vitro* a diferentes antimicrobianos demostró el potencial de utilización de algunos antibióticos como el Cloranfenicol, Doxaciclina,

Enrofloxacin, Florfenicol, Gentamicina, Netilmicina, Nitrofurantoina, Oxalinato, Sulfa+trimetoprim y Tetraciclina si la enfermedad viene a tornarse un problema de salud pública en este país.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AL-ANI, F.K.; AL-RAWASHDEH, O.F.; ALI, A.H.; HASSAN, F.K. Glanders in horses: clinical, biochemical and serological studies in Iraq. *Vet. Archiv*, v.68, p.155-162, 1998.
- AL-IZZI, S.A. & AL-BASSAM, L.S. In vitro susceptibility of *Pseudomonas mallei* to antimicrobials agents. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, v.12, p.5-8, 1989.
- BATMANOV V.P. Treatment of experimental glanders with combinations of sulfazine or sulfamonomethoxine with trimethoprim. *Antibiot. Khimioter*, v.38, p.18-22, 1994.
- BATMANOV, V.P. Sensitivity of *Pseudomonas mallei* to tetracyclines and their effectiveness in experimental glanders. *Antibiot. Khimioter*, v. 39, p. 33-37, 1994.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERIS, J.C.; TRUCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.45, p.493-496, 1996.
- BAUERNEFEIND, A.; SCHNEIDER, I.; JUNGWIRTH, R.; CARSTEN, R. Discrimination of *Burkholderia gladioli* from other *Burkholderia* species detectable in cystic fibrosis patients by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, v.36, p.2748-2751, 1998.
- BLANCOU, J. Les anciennes methodes de surveillance et de controle de la morve. *Bull. Soc. Vét. Prat.*, v.78, n.1, p.35-54, 1994.
- CHAWAGUL, W.; SUPUTTAMONGKUL, Y.; SMITH, M.D.; WHITE, M.J. Oral fluoroquinolones for maintenance treatment of melioidosis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, v.91, p.599-601, 1997.
- DANCE, D.A.B. Melioidosis: the tip of the iceberg? *Clin. Microbiol. Rev.*, v.4, p.52-60, 1991.
- DESHAZER, D.; WAAG, D.M.; FRITZ, D.L.; WOODS, D.E. Identification of a *Burkholderia mallei* polysaccharide gene cluster by subtractive hybridization and demonstration that the encoded capsule is an essential virulence determinant. *Microbial Pathogenesis*, v.30, p.253-269, 2001.
- EUZÉBY J.P. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Disponible em: <<http://www-sv.cict.fr/bacterio/bacdico/bb/mallei.html>>. Acesso em: 17 fev. 1998.
- EVERETT, E.D. & NELSON, R.A. Pulmonary melioidosis: observations in thirty-nine cases. *Am. Rev. Respir. Dis.*, v.112, p.331-340, 1975.
- GERDING, D.N.; HUGHES, C.E.; BAMBERGER, D.M.; FOXWORTH, J.; LARSON, T.A. Extravascular antimicrobial distribution and respective blood concentrations in humans. In: LORIAN, V. (Ed.). *Antibiotics in laboratory medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1966. p.835-899.
- HEINE, S.H.; ENGLAND, M.J.; WAAG, D.M.; BYRNE, W.R. In vitro antibiotic susceptibilities of *Burkholderia mallei* (causative agent of glanders) determined by broth microdilution and e-test. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, p.2119-2121, 2001.
- HOLMES, A.; JIANG, R.-Z.; SUN, L.; STEINBACH, R.; NOLAN, R.; RILEY, M.; GOLDSTEIN, R. Emergence of epidemic strains of *Burkholderia cepacia* involving both CF and non-CF populations. In: INTERSCIENCE CONFERENCE ON ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 36., Washington. Resumo. Washington: 1996. v.32, p.224.
- HOWE, C.; SAMPATH, A.; SPOTNITZ, M. The pseudomallei group: a review. *J. infect. Dis.*, v.124, p.598-606, 1971.
- IPATENKO, N.G. Study of the bacteriostatic and bactericidal properties of certain antibiotics. *Tr. Mosk. Vet. Akad.*, v.124, p.142-148, 1972.
- KENNY, D.J.; RUSSEL, P.; ROGERS, D.; ELEY, S.M.; TITBALL, R.W. In vitro susceptibilities of *Burkholderia mallei* in comparison to those of others pathogens *Burkholderia* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.43, p.2773-2775, 1999.
- LANGENEGGER, J.; DÖBEREINER, J.; LIMA, A.C. Foco de mormo (*Malleus*) na região de Campos, estado do Rio de Janeiro. *Arq. Ins. Biol. Anim.*, v.3, p.91-108, 1960.
- LUMBIGANON, P. & SOOKPRANEE, T. Ciprofloxacin therapy for localized melioidosis. *Pediatric Infect. Dis.*, v.11, p.418-419, 1992.
- MACGILVRAY G.D. The transmission of glanders from horse to man. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.104, p.255-261, 1944.
- MANZENIUK, I.N. The efficacy of antibacterial preparations against *Pseudomonas mallei* in in-vitro and in-vivo experiments. *Antibiot. Khimioter*, v.39, p.26-30, 1994.
- MOTA, R.A.; BRITO, M.F.; CASTRO, F.J.C.; MASSA, M. Mormo em equídeos nos estados de Pernambuco e Alagoas. *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, p.155-159, 2000.
- NAGY, G. & ZALAY, L. Sensitivity to antibiotics and biological properties of *Bact. (actionbacillus) mallei* strains used in the production of diagnostic preparations. *Magy. Altatv. Lap.*, v.21, p.500-501, 1966.
- NEUBAUER, H.; MEYER, H.; FINKE, E.J. Human glanders. *Rev. Int. Services Sante Forces Armees*, v.70, p.258-265, 1997.
- PRUKSACHARTVUTHI, S.; ASWAPOKEE, K.; THAKEMGPOL, K. Survival of *Pseudomonas pseudomallei* in human phagocytes. *J. Med. Microbiol.*, v.31, p.109-114, 1990.
- REDEFERN, M.S.; PALLERONI, N.J.; STANIER, R.Y. A comparative study of *Ps. Pseudomallei* and *Bacillus mallei*. *J. Gen. Microbiol.*, v.43, p.293-313, 1996.
- RUSSEL, P.; ELEY, S.M.; ELLIS, J.; GREEN, M.; BELL, D.L.; KENNY, D.J.; TITBALL, R.W. Comparison of efficacy of ciprofloxacin and doxycycline against experimental melioidosis and glanders. *J. Antimicrobial Chemother.*, v.45, p.813-818, 2000.
- VERMA, R.D.; SHARMA, J.K.; VENKATESWARAN, K.S.; BATRA, H.V. Development of an avidin-biotin dot enzyme-linked immunosorbent assay and its comparison with other serological tests for diagnosis of glanders in equine. *Vet. Microbiol.*, v.25, p.7-85, 1990.
- WILKINSON, L. Glanders: medicine and veterinary medicine in common pursuit of a contagious disease. *Med. Hist.*, v.25, p.363-384, 1981.

Recibido en 11/3/05  
Acepto en 31/3/05