

## NOTAS SOBRE TERAPEUTICA DE LA BRUCELOSIS

A — Generalidades sobre mecanismos de acción de los antibióticos.

B — Aplicación del método a base de oxitetraciclina insoluble a la terapéutica de la brucelosis humana.

M. RUIZ CASTAÑEDA (°)

Y MA. DE LOS ANGELES CORVERA (°°)

El conocimiento de los mecanismos de patogénesis es de particular interés en el estudio de la terapéutica de la brucelosis, enfermedad en la que no parece compaginarse la notable acción de ciertos antibióticos "in vitro", con un escaso o nulo valor terapéutico, así como por otra parte, otros antibióticos de bajo poder antibrucelear "in vitro" actúan como los más eficientes recursos para combatir la infección.

Al parecer, la aparente resistencia de la *Brucella* "in vivo" a los antibióticos del primer grupo se debe a la situación especial que ocupa en los tejidos. Poco sabemos sobre mecanismo que favorecen la acción de las sustancias a que se hace referencia en el segundo término.

A pesar de que desde 1919 Teobaldo Smith había publicado notables microfotografías mostrando la extraordinaria proliferación de brucelas en celdillas no fagocíticas y de que Goodpasture y su escuela (1938) (1) hubieran confirmado en cultivos en huevo embrionario

---

(°) Director del Centro de Brucelosis de México. Invest. Médicas, Hospital General. Jefe del Laboratorio Clínica del Hospital Infantil de México.

(°°) Investigaciones Médicas — Hospital General.

la posición intracelular de este germen, poco o ningún interés se manifestó en los investigadores sobre la significación de tales características biológicas de la *Brucella* en relación con la patogénesis y la terapéutica de la infección humana y animal. Y es tanto más sorprendente que se hubiera pasado por alto la advertencia por esos autores, de que los macrófagos, fagocitando brucelas más que agentes de protección actuarían como difusores de la infección.

Es sin duda mérito de Karl F. Meyer (2) haber señalado por primera vez la trascendencia del concepto emitido por Goodpasture y su escuela confirmando, en material de riñón de un caso fatal de brucelosis, la presencia de elementos celulares portadores de verdaderas colonias del germen causal. Sin embargo, cabía la posibilidad de que más bien que intracelulares fuesen colonias superpuestas casualmente. No habiendo trabajos experimentales que orientaran el criterio en uno u otro sentido, no dejaron de ser oportunos los trabajos nuestros en 1946 (3) que revelaron un hecho de mucha importancia: El contraste entre la intensidad del desarrollo intracelular con la escasez o completa ausencia de microorganismos en los espacios intracelulares vecinos a las celdillas parasitadas. Además, se observó notable selectividad del parasitismo brucelar para determinados elementos entre los que ocupa lugar preferente los de origen retículo endotelial.

De estos trabajos concluimos que la *Brucella* tiene pocas probabilidades de prosperar sin el concurso de determinadas celdillas que les brindan protección contra las defensas naturales y material utilizable para su desarrollo. Por lo tanto, la brucelosis es infección de tipo intracelular semejante en su mecanismo a las infecciones por virus y rickettsias, con la particularidad de provocar reacciones celulares e inmunológicas de tipo semejante a las que se observan en ciertas infecciones crónicas, entre las que la tuberculosis es ejemplo característico.

Por su carácter selectivo la infección brucelar es poco destructiva simulando infecciones tales como el tifo y la tifoidea, pero capaz en condiciones especiales, de dar origen a vastas destrucciones tisulares principalmente en los huesos. En esta última circunstancia la infección pierde su carácter de parasitismo intracelular para constituir focos supurados en los que la *Brucella* se multiplica a expensas de material tisular destruido aprovechando para su sobrevivencia la dificultad de acción de las defensas naturales.

Hemos revisado las dos formas principales en que la *Brucella* ataca al organismo infectado. En ambas, el efecto patogénico depende directamente del desarrollo del agente en los tejidos. En estos casos la

infección tiende por lo general a limitarse siendo de esperarse que una vez alcanzado el equilibrio entre infección y defensa, la recuperación clínica sea completa como ocurre en diversas infecciones cíclicas, pero en la brucelosis un porcentaje relativamente elevado de enfermos sufre recrudencias de las manifestaciones clínicas anteriores o sintomatología nueva, que han dado origen al calificativo de "ondulante" a la infección. La explicación de las recaídas no podría explicarse sin el conocimiento de que se trata de una infección intracelular y de que si por algún motivo las defensas inmunológicas provocadas por la invasión primera se agotan o son insuficientes no podrán contrarrestar invasiones secundarias cuyo origen está en la liberación de brucelas de sus colonias protoplasmáticas. Además, hay otra fase del proceso inmunológico que complica mucho el cuadro general de la brucelosis y que resulta de la constante irritación por el antígeno liberado de las celdillas que mantienen la infección por tiempo indefinido. Es natural que después de una infección el organismo desarrolle cierto grado de sensibilidad a la entrada subsecuente del mismo antígeno, pero si el estímulo continúa indefinidamente como es el caso en la brucelosis, llega un momento en que la sensibilidad llega a un grado tal que puede provocar molestias al enfermo. Esta condición alérgica es denominada hipersensibilidad y suele ir acompañada de una variedad de manifestaciones clínicas más o menos persistentes y de difícil manejo terapéutico.

#### *Antibióticos en acción antibrucelar*

De las numerosas sustancias de propiedades antibióticas descubiertas hasta el presente, un buen número manifiestan actividad contra las brucelas pero de aquellas que han sido utilizadas en la terapéutica sólo algunas tienen efecto antibrucelar bien definido. Entre éstas podemos considerar en orden de su actividad "in vitro": las estreptomycinas, las tetraciclina, el cioramfenicol y la iloticina. Las sulfadrogas tienen actividad muy reducida pero, por observaciones que se citarán más adelante, deben considerarse en la presente lista. De las drogas citadas, es, sin duda, la estreptomycina la que manifiesta mayor actividad "in vitro" pues ésta se hace aparente a concentraciones inferiores a 0.5 microgramos por ml. Las drogas llamadas de "espectro amplio" son mucho menos activas pues requieren concentraciones a menudo superiores a 4 microgramos. Por último, la iloticina es de ac-

tividad muy inferior y no uniforme pues si las Br. melitenses y suis sufren el efecto de esta droga a concentraciones a veces inferiores a 3 microgramos, la Br. abortus resiste a concentraciones de 10 microgramos o más, propiedad que utilizamos en más de una ocasión para diferenciar cepas de Br. abortus y suis.

De las drogas mencionadas, las primeras en aplicarse a la terapia antibrucelear fueron las sulfas. En poco tiempo los informes a este respecto alcanzaron un volumen tal como pocas veces se había acumulado en la literatura médica. La mayoría de los trabajos, sin embargo, se refería a casuística muy baja y los resultados eran en buen número más bien discutibles. La tendencia a la remisión espontánea de la sintomatología parecía haber influido en la interpretación de los trabajos optimistas y sin duda buen número de casos en los que el tratamiento fue de efecto nulo no llegaron a reportarse. Un estudio estadístico de los artículos disponibles resultó en completo descrédito de este método de tratamiento.

Con el advenimiento de la penicilina renació la esperanza de tratar con éxito la brucelosis y fue rápida la decepción, pero con la estreptomycinina ocurrió algo inusitado. El efecto antibrucelear "in vitro" fue manifiesto, pero desde los primeros ensayos su aplicación a la terapéutica fue un fracaso completo. Esta contradicción inesperada no tenía explicación razonable y menos lo que ocurrió poco más tarde cuando Pulaski y Amspacher (4) publicaron sus informes sobre el éxito en el tratamiento de algunos enfermos brucelosos en los que asociando la sulfadiazina a la estreptomycinina se obtenía un efecto combinado que fue espectacularmente confirmado por Eisele y Mc Cullough (5) en un caso tratado con más de un centenar de gramos de estreptomycinina sin resultado favorable ni clínico ni bacteriológicamente y en quien la asociación de sulfadiazina a nueva serie de dosis de estreptomycinina cambió favorablemente el curso de la infección. Spink y su grupo (6) confirmaron las ventajas que aportaba la asociación de las drogas indicadas pero el primer informe francamente desalentador fue el que resultó del estudio de un grupo de más de 60 enfermos en el Hospital General (7) y en el que además de observar notable porcentaje de recaídas después de tratamientos más o menos persistentes tuvimos la pena de observar varios casos de ataque al octavo par, con las molestias consiguientes, en enfermos que además de esta complicación siguieron sufriendo su infección brucelear. Sin embargo, fue la combinación estreptomycinina-sulfadiazina el primer recurso terapéutico que, aunque no muy suficiente, fue demostrativo de su efecto antibrucelear.

Si para explicarnos la ineffectividad "in vivo" de la estreptomycinina podemos aducir la situación intracelular de las colonias brucelares ya que éstas quedan protegidas del efecto del antibiótico gracias a la barrera que le opone la membrana celular, lo que no es simple suposición que Spink y sus colaboradores (8) lo demostraron "in vitro", no tenemos idea qué fenómenos ocurren bajo la influencia de la asociación a esa droga de la sulfadiazina a menos que supongamos que esta substancia provoque alguna alteración, sea en la composición química de la estreptomycinina o en la superficie de la celdilla infectada.

Contrastando con el efecto terapéutico nulo de la estreptomycinina, de alto poder antibrucelear "in vitro" y la moderada acción de la combinación a que hemos aludido, fue espectacular el resultado de la aplicación de aureomicina hecha por primera vez en nuestro servicio del Hospital General, (7) (9) droga que suprimió las manifestaciones clínicas de la infección aguda o subaguda, así como la bacteremia en un término rara vez mayor de 96 horas. Otras tetraciclinas (10 y 11) y también el cloramfenicol (12 y 13) mostraron efecto supresivo similar a la aureomicina y de las drogas recientemente puestas en uso la eritromicina se ha considerado por algunos (14) como recurso valioso en el tratamiento de la brucelosis, opinión con la que no compartimos en vista de resultados no convincentes observados en el Centro de Brucelosis de la C. de México en un grupo de más de 40 enfermos.

Por lo que se refiere a las tetraciclinas conviene insistir sobre lo habíamos señalado a propósito del contraste entre la actividad antibrucelear de estas drogas y la estreptomycinina. Si esta última es prácticamente inactiva "in vivo". A pesar de administrarse a dosis que producen concentración en la sangre seguramente efectiva "in vitro", en cambio en las tetraciclinas actúan violentamente como supresores de la infección a dosis inferiores a las requeridas para manifestar efecto antibrucelear "in vitro". Para explicarnos esta contradicción tendríamos que aceptar que si la estreptomycinina no es tolerada por la celdilla infectada, las tetraciclinas pueden encontrar acceso al protoplasma para ponerse en contacto con el germen infectante. De que tal cosa pudiera ocurrir sólo disponemos de datos experimentales tal vez poco demostrativos pero que parecen confirmarse con los resultados terapéuticos en el hombre.

Es propiedad característica de las tetraciclinas su escasa solubilidad en medio neutro, de manera que si una solución ácida o alcalina de oxitetraciclina se trata con sosa o ácido clorhídrico respectivamente se nota que al acercarse a la neutralidad la substancia se precipi-

ta. Lo mismo se observa mezclando una solución acuosa de clorhidrato de oxitetraciclina con suero sanguíneo o sangre citratada que por su carácter de solución amortiguadora mantienen la reacción cercana a la neutralidad. Cuando una solución de oxitetraciclina se hace precipitar y el precipitado se libera de material soluble y se inyecta por vía intraperitoneal a cuyes o ratas, se observa, siguiendo a intervalos convenientes el resultado de este tratamiento, que los cristales van gradualmente disminuyendo en cantidad hasta desaparecer en más o menos 96 horas. El examen microscópico revela que en el sitio donde se encuentra el antibiótico hay fagocitosis de esta droga por monocitos y polimorfonucleares, particularmente activa cuando la droga se prepara en partículas suficientemente pequeñas. El proceso fagocitario no es el único encargado de eliminar la droga puesto que durante el tiempo que dura el experimento se nota acción antibiótica en el suero sanguíneo, en el que la droga va redisuelta, hacia los excretorios que la eliminan del organismo. Lo que ocurre con el material fagocitado parece ser que éste se mantiene dentro del citoplasma de los leucocitos en forma de partículas por más de 24 horas. Mientras tanto estos elementos emigran hacia zonas diversas para detenerse eventualmente en el bazo, linfáticos y centros donde el sistema retículo endotelial se encarga de desintegrarlos. Como es precisamente en elementos retículo-endoteliales donde se encuentran mayor número de celdillas infectadas puede suponerse que la concentración del antibiótico en su vecindad y la posibilidad de que la droga penetre a tales celdillas sea una circunstancia favorable para combatir la infección intracelular o al menos mantener una concentración suficiente en los espacios intercelulares que interfieren con el proceso de difusión de brucelas al romperse la celdilla parasitaria.

Sea que la droga sea absorbida por vía digestiva o administrada en forma soluble por vía parenteral y que el mecanismo indicado pudiera ponerse a disposición de los fagocitos y que en esta forma la infección humana sea tan francamente influenciada, el hecho es que ni una ni otra forma de introducción del antibiótico tiene efecto permanente, pues al cabo de algún tiempo de suspendido el tratamiento, la reinfección reaparece en porcentajes que pueden llegar al 70%. Es evidente que si tal ocurre se debe a que no se consigue mantener la concentración suficiente de antibióticos en los sitios donde tiene lugar la proliferación de la *Brucella* con lo que una vez suspendida la administración de dosis de refuerzo, vuelven los gérmenes a encontrar vía libre en los espacios intercelulares y en el torrente circulatorio. Por

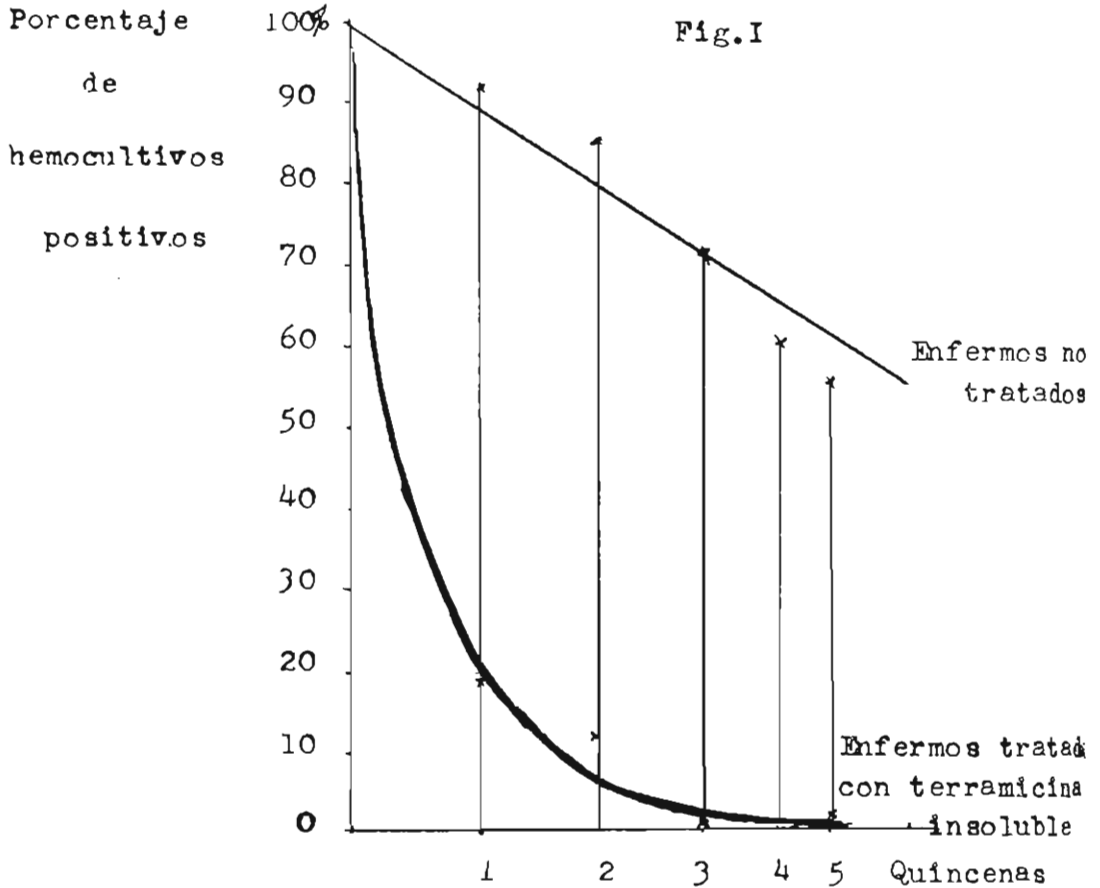
lo dicho a propósito de la terramicina insoluble cabe esperar que administrada en cantidad suficiente por vía parenteral, su acúmulo en órganos ricos en elementos retículo endoteliales se verifique sin gran desperdicio de material difundido en órganos que no lo requieren suponiéndose con justificación que a dosis iguales la terramicina insoluble sería más efectiva que la soluble.

Hemos estado bordando en terreno hipotético sin otra base que algunas observaciones sobre caracteres físico-químico de las tetraciclinas, así como de observaciones en animales de laboratorio que pueden interpretarse de diversa manera. Quedaría por demostrar si realmente la terramicina anfotérica actúa como sugiere la hipótesis. Por desgracia, la terapéutica experimental no es fácil en vista de la toxicidad de estas drogas para los animales pequeños, en los que dosis terapéuticas suelen causar más daño que beneficio. Hubo pues necesidad de investigar el efecto terapéutico de esta forma de tetraciclina directamente en enfermos con bacteremia brucelar. Se observó dificultad en administrar la droga por vía parenteral particularmente en dosis altas y frecuentes por lo que se decidió inyectar un máximo de 160 miligramos por semana por vía subcutánea profunda. Desde las primeras observaciones se tomó la decisión de no sobrepasar el término de 6 semanas como duración del tratamiento en el que el total de material inyectado fue de poco menos de 1 gr. A pesar de que la cantidad de antibiótico empleado fue muy reducida comparándola con las dosis usuales de 30 a 50 grs. por vía oral o de varios gramos de clorhidrato de tetraciclina por vía intramuscular o intravenosa, los resultados terapéuticos fueron demostrativos como puede observarse del examen de la gráfica (Fig. 1) formada con datos obtenidos del tratamiento de 44 casos de brucelosis bacterémica comparadas con un número igual de controles (15 y 16).

Para fines prácticos se han hecho algunas modificaciones en la forma del tratamiento por terramicina anfotérica principalmente dirigidos a prevenir las recaídas. Esto se ha logrado recomendando series de inyecciones administradas 4 a 6 meses después del primer tratamiento o más efectivamente mediante una combinación de estreptomina sulfadiazina asociadas al tratamiento anfotérico.

Finalmente, es conveniente señalar un hecho interesante en la forma de actuar de las tetraciclinas. El empleo de aureomicina, acromicina, o de la tetraciclina base, no ha dado resultados semejantes a los observados con la oxitetraciclina. Lo único que parece explicar esta diferencia es que la oxitetraciclina es rápidamente fagocitada y

de absorción muy lenta, en tanto que las otras drogas además de ser disueltas con mayor rapidez actúan como repelentes de los fagocitos, tal vez por la alta concentración de material soluble en la zona donde se deposita la droga.



Evolución de la bacteremia en 44 enfermos de brucelosis tratados con suspensión de terramicina insoluble en cantidades de 80 miligramos, que fueron administrados en 0 y 160 mgs. a intervalos de una semana hasta completar 6 inyecciones con un total de 880 mgs. Nótese que el efecto del tratamiento se hizo aparente desde el primer hemocultivo practicado 8 días después de la segunda inyección.

La línea recta inclinada indica la evolución de la bacteremia en 44 enfermos no tratados.



APLICACION DEL METODO A BASE DE TERRAMICINA INSOLUBLE  
A LA TERAPEUTICA DE LA BRUCELOSIS

TABLA I

Grupo	Nº de Casos	Estudiados por	Confirmados por Hemocul.	Confirmados por Aglutinac.	Tratamiento	Recidas Bact. Clín. y Bact.
I	137	Centro Br. México	Sí	Sí	Triple	6% 5%
II	116	Centro Br. México	No	Sí	Triple	0 0
III	64	Centro Br. México	Sí	Sí	Terramicina insolub.	15% 6%
IV	55	Foz. y Gómez España	Sí	Sí	Terramicina insolub.	Reportado Satisfactorio
V	68 — 440	Miscelánea	?	Sí	Triple	Reportado Satisfactorio

En estos grupos no se incluyen casos en los que el tratamiento fue incompleto, así como casos crónicos no bacterémicos. Los grupos I, II, III fueron sometidos a pruebas serológicas y hemocultivos durante el tiempo que duró la observación a intervalos de una o dos semanas. En el grupo IV los pruebas se practicaron con más frecuencia pero en los casos del grupo V el diagnóstico fue en la mayoría basado en pruebas de aglutinación.

Los resultados terapéuticos en estos dos últimos grupos fueron satisfactorios en el sentido de haberse obtenido alto porcentaje de recuperación clínica. El grupo III ha sido discutido en otra ocasión y con 44 de estos casos controlados con un número igual de enfermos no tratados se formó la gráfica I que reproducimos de una nota del Dr. Dufrenoy en la que se refiere a esos enfermos. El grupo fue tratado solamente con 6 inyecciones a intervalos de una semana con terramicina insoluble notándose efecto indudable sobre el curso de la bacteremia a pesar de que hubo alta incidencia de casos en quienes el hemocultivo volvió a ser positivo dentro de los 6 meses que siguieron al tratamiento. El grupo II no tiene valor decisivo puesto que se trata de casos en los que el hemocultivo fue negativo desde el principio del tratamiento. Todos habían recibido tratamiento más o menos intenso con los diversos antibióticos conocidos habiendo acudido al Centro de Brucelosis en vista de la persistencia del cuadro sintomático que consistía usualmente en episodios en los que se presentaban elevaciones térmicas vespertinas y nocturnas con o sin calofríos y sudores, debilidad, pérdida de peso y otras molestias de carácter principalmente subjetivo como depresión moral, nerviosidad, irritabilidad e insomnio. El diagnóstico se estableció por pruebas serológicas de título significativo. En períodos de observación que se prolongaron en ocasiones hasta por más de 6 meses no hubo bacteremia demostrable por hemocultivo ni se apreciaron localizaciones de la infección. Los enfermos mejoraron con relativa rapidez sin que hubiesen sido registradas recrudescencias de la sintomatología principal a pesar de que las manifestaciones subjetivas continuaron por más tiempo.

Queda por analizar el grupo I formado por 137 casos tratados con una combinación estreptomycin-sulfadiazina por períodos de 5 días con dos días de descanso y a dosis no mayores de 1 gr. diario de la mezcla estrepto-dihidroestreptomycin y 3 gr. diarios de sulfadiazina. Este tratamiento se continuó por 3 semanas. En el primer y tercer día de cada serie se agregó una inyección subcutánea profunda de 89 miligramos de terramicina neutro-insoluble.

En ocasiones se continuó el tratamiento triple por más de 3 semanas pero lo usual fue suspender la administración de estreptomycin-sulfadiazina a partir de la cuarta semana pero continuado las inyecciones de terramicina hasta la sexta semana.

Como se indica en la tabla I todos estos casos fueron confirmados por hemocultivo: 132 antes del tratamiento y 5 durante el mismo o después de éste. Para mayor facilidad en la interpretación de los resul-

datos obtenidos en este grupo hicimos una división de los casos según los antecedentes en lo que se refiere a tratamientos previos procurando presentar por separado los casos que no recibieron tratamiento antibiótico antes de someterse al presente estudio. La tabla II muestra a grandes rasgos los resultados obtenidos en el grupo total y en la III se concretan los datos del subgrupo a que nos referimos.

De los 137 casos, 33 correspondiente al subgrupo que no había recibido tratamiento previo con antibióticos y 104 fueron enfermos que habían recibido tratamiento más o menos intensos con los antibióticos usuales.

TABLA II

EVOLUCION DE CULTIVOS EN 137 CASOS TRATADOS CON EL  
METODO TRIPLE A BASE DE TERRAMICINA INSOLUBLE  
( 959 hemocultivos )

Semanas	Cultivos positiv.	Cultivos negativ.	Recaídas
0	132	5 (*)	Bacteriológica
1ª	42	95	Sin sintomatología ..... 6
2ª	21	116	Recaídas clínicas
3ª	6	131	Con bacteremia ..... 5
4ª	3	134	
5ª	2	135	
6ª	2	135	
	208	751	

(\*) De éstos, 4 fueron positivos después del tratamiento o en el curso del tratamiento.

TABLA III  
EVOLUCION DE LA BACTEREMIA EN 33 CASOS NO TRATADOS  
ANTES DE SOMETERSE AL TRATAMIENTO TRIPLE

Tiempo de enfermedad antes del tratamiento	Nº de casos	Cultivos hechos semanalmente (las cifras indican los positivos)						
		0	1	2	3	4	5	6 (semanas)
1 mes	19	19	3	2	-	-	-	-
2 meses	7	7	3	-	-	-	-	-
3 meses	2	2	-	-	-	-	-	-
4 a 9 meses	5	5	3	2	1	-	-	-
Totales	33	33	9	4	1	1	0	0

De estos casos hubo 2 recaídas clínicas con bacteremia y 4 más en los que sólo hubo hemocultivo positivo transitorio sin manifestaciones clínicas después de terminado el tratamiento.

Si con los datos anotados en las tablas II y III se forma una gráfica semejante a la N° 1, se notará semejanza en las curvas de rápido descenso a partir de la primera semana después de iniciado el tratamiento.

#### *Resúmenes y conclusiones*

Se ha hecho un intento de interpretación de los resultados obtenidos en el tratamiento de enfermos brucelosos con diversos antibióticos, señalando el posible mecanismo de acción de las tetraciclinas y en particular de la oxitetraciclina que precipitada neutralizando soluciones de esta droga se presenta en forma cristalina de muy escasa solubilidad y que triturada en polvo fino es fácilmente fagocitada por leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y monocitos. Se tiene la creencia de que en esta forma es posible llegar a los sitios de mayor proliferación brucelar y de que sea que el agente infeccioso se exponga a ma-

por concentración del antibiótico al destruirse los fagocitos o bien en forma de partículas, pueda penetrar al interior de celdillas del retículo endotelio donde interferiría con la proliferación intracelular. Sea correcta o no esta interpretación, el hecho es que la administración de esta forma de oxitetraciclina, en dosis muy reducidas tiene acción franca sobre el curso de la bacteremia como se demuestra en la gráfica. En la práctica la aplicación de esta forma de oxitetraciclina inyectada por vía subcutánea y asociada a la administración de dosis moderadas de estreptomycina y sulfadiazina ha dado por resultado mejor control de la bacteremia y menor frecuencia de recaídas clínicas que empleando tratamientos a base de tetraciclinas por vía oral. Cerca de 500 casos han sido tratados en el Centro de Brucelosis de la C. de México, España y en diversas clínicas privadas y hospitales de la República Mexicana. Consideramos los grupos I, III y IV de la tabla I y que suman 256 como significativo, puesto que fueron casos en que la evolución de la bacteremia fue el criterio para juzgar los resultados. El resto de los casos observados carece de valor informativo en vista de que solamente pudieron valorizarse por la observación clínica.

Consideramos muy difícil volver a disponer de grupos control como los empleados en la formación de la gráfica I, ya que la popularidad alcanzada por los antibióticos de amplio espectro haría muy difícil encontrar suficiente número de casos adecuados para estudios terapéuticos controlados.

## REFERENCIAS

- 1.—GOODPASTURE, E. W. y ANDERSON, K.: The problem of infection as presented by bacterial invasion in the chorio-allantoic membrane of chick embryos.— *Am. J. Path.* 13: 149, 1937.
- 2.—MEYER, K. F.: Observation on the pathogenesis of Undulant Fever. Essays in biology in honor of Herbert M. Evans.— California Press, pp. 439 University of California, Berkeley, Cal., 1943.
- 3.—CASTAÑEDA, M. Ruiz.: Patogénesis de la brucelosis.— I. Congreso Interamericano de la Brucelosis, pp. 659 1946. Edit. Hospital General, México, D. F., 1948.
- 4.—PULASKI, E. K. y AMSPACHER, W. H.: Streptomycin therapy in Brucellosis. *Bul, U. S. Army Med. Depart.*, 7: 221, 1947.
- 5.—EISELE, C. W. y MCCULLOUGH, N. B.: Combined streptomycin and sulfadiazine treatment in brucelosis. *J. A. M. A.*, 135: 1053, 1947.
- 6.—SPINK, W. W., HALL, V. H., SCHAFFER, J. M., y DRAUDE, A. L.: Human Brucellosis Its Specific treatment with a combination of streptomycin and sulfadiazine, *J. A. M. A.* 136: 386, 1948.

- 7.—CASTAÑEDA, M. RUIZ: Estudios sobre terapéutica de la Brucelosis. II. Congreso Interamericano de la Brucelosis, Buenos Aires, Arg. 1948. *Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop., México*, 10: 53, 1949.
- 8.—MAGOFFIN, R. L. y SPINK, W. W.: Protection of intracelular Brucella against streptomycin alone and combination with other antibiotics. *J. Lab. and Clin. Med.* 37: 924, 1951.
- 9.—SPINK, W. W. BRAUDE, A. L. CASTAÑEDA, M. RUIZ, y SILVA GOYTIA, R.: Aureomycin therapy in human Brucellosis. *J. A. M. A.* 138: 1145, 1948.
- 10.—VILLA, F. J.: Informe sobre el primer ensayo terapéutico del antibiótico "terramicina" en la brucelosis.— *Mem. de la I Reunión sobre terramicina de la Soc. Médica Peruana*, Mayo, 1950.
- 11.—RUIZ-SANCHEZ, F. RUIZ-SANCHEZ, A. RIEBELING, R., QUEZADA, M. y PAREDES, M.: El tratamiento de la Brucelosis con terramicina. *Prensa Médica, México*, 15: 125, 1950.
- 12.—WOODWARD, T. E. SMADEL, J. E. HOLBROOK, W. A. y RABY, W. T.: The beneficial effect of chloramphenicol in Brucellosis. *J. Clin. Inv.* 28: 968, 1949.
- 13.—LEON, A. P. CANO, C. y BERNAL, E.: La cloromicetina en el tratamiento de la Brucelosis humana. *Re. Inst. Sal. y Enf. Trop.* 10: 155, 1959.
- 14.—LEON, A. P. y CANO, C.: Acción de la iloticina sobre la Brucella y su empleo con la estreptomycin en el tratamiento de la brucelosis humana. *Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop. México*, 14: 5, 1954.
- 15.—CASTAÑEDA, M. RUIZ y CARRILLO CARDENAS, C.: A new approach to the treatment of Brucellosis. *Am. J. Med. Sc.* 226: 504, 1953.
- 16.—CASTAÑEDA, M. RUIZ.: Contribución del Centro de Brucelosis de México al estudio de esta enfermedad. *Gaceta Méd. México*, 84: 395, 1954.