



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA EPIDIDIMITE EM
PEQUENOS RUMINANTES DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

FABRINE ALEXANDRE DOS SANTOS

PATOS-PB

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA EPIDIDIMITE EM
PEQUENOS RUMINANTES DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

FABRINE ALEXANDRE DOS SANTOS

Prof. Dr. Clebert José Alves

Orientador

PATOS-PB

2012

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CSTR / UFCG - CAMPUS DE PATOS – PB de acordo com a AACR2
Biblioteca Setorial - CSTR/UFCG – Campos de Patos-PB

S237a
2012

Santos, Fabrine Alexandre.

Aspectos epidemiológicos da epididimite em pequenos ruminantes do semiárido brasileiro. / Fabrine Alexandre dos Santos – Patos – PB:

UFCG/PPGMV, 2012.

61p.: il. Color.

Inclui Bibliografia.

Orientador: Clebert José Alves

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 - Epidemiologia. 2- Doenças Reprodutivas. 3- Pequenos Ruminantes.
4- Epididimite. I – Título.

CDU: 616.9:619

FICHA DE AVALIAÇÃO

Nome: **SANTOS, Fabrine Alexandre**

Título: **Aspectos epidemiológicos da epididimite em pequenos ruminantes do semiárido brasileiro**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Campina
Grande – UFCG, como parte das
exigências para a obtenção do título
de Mestre em Medicina Veterinária.

DATA: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Clebert José Alves – UFCG/CSTR/UAMV

Orientador

Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos – USP/FMVZ/VPS

Primeiro Membro

Prof. Dr. Franklin Riet-Correa – UFCG/CSTR/UAMV

Segundo Membro

AGRADECIMENTOS

À Deus, ele que é o Grande Arquiteto e que vem sempre projetando e guiando os meus passos, me dando saúde e forças para vencer cada dia as batalhas travadas no dia-a-dia.

À minha Mãe, dona Fransquinha, pela ternura, atenção, carinho, afeto e AMOR que ao longo de minha vida não vem medindo esforços para demonstrar. Amo-te Mainha.

Ao Senhor Fransquinho, meu Paiinho, homem integro, de olhar firme, de palavras fortes e que sempre esteve ao meu lado, desde os primeiros minutos de minha vida dando toda educação e me ensinando a ser homem de verdade.

Aos meus irmãos, Frank (o mais velho), Fabiano (meu conselheiro e amigo) e Francecirly (minha protegida, minha única irmã e por isso tenho maior zelo), pelo carinho, atenção e presença em todos os momentos dessa caminhada.

À Kerlywainne Rousanne, por estar presente em grande parte (93,10%) dessa caminhada no qual quero agradecer pelas palavras de estímulo, pela atenção, compreensão e por ter me dado forças quando estive fraco em meus objetivos com palavras sinceras e de estímulo para encarar cada momento difícil onde sempre foram recorridos a ela. Você tem grande parcela nessa minha conquista profissional.

Ao meu orientador, Professor Clebert José Alves, por ter acreditado em mim e me dar cada vez mais a oportunidade de me mostrar cada vez melhor, por ter me orientado, mesmo que estando distante fisicamente conseguiu me orientar da mesmo forma que seria se estivesse desempenhando suas funções neste campus. Obrigado professor pelos ensinamentos, pelos puxões de orelha, pois sei que eram para o meu crescimento acadêmico.

Ao Professor Sérgio Santos Azevedo, que esteve sempre engajado nos nossos trabalhos dando a sua valiosa parcela para o enriquecimento dos mesmos.

Aos Professores Rinaldo Mota e Felício Garino Júnior, que gentilmente cederam os espaços de seus respectivos laboratórios para que fosse executada parte do experimento como também enriqueceram o trabalho com suas sugestões.

Aos colegas do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos da UFRPE, Nair Lira, Bruno Alves, Carlos Adriano (O Índio), Givanildo Silva, Orestes Luiz, Pedro Paulo, Sandra Santos, Professor Leonildo Galiza e, em especial, a Pomy Kim que foi meus braços, meus olhos... Enfim, me ajudou por de mais para que meu trabalho se realizasse com sucesso.

Aos colegas do Laboratório de Doenças Transmissíveis – CSTR/UFCG, pelos constantes auxílios nas atividades desenvolvidas no laboratório, em especial, Diego e Silvano que se fizeram presentes com o apoio importantíssimo em todas as fases do trabalho.

Aos Médicos Veterinários, Jefferson Filgueira, Geraldo Alcino, Inácio Clementino, pela valiosas contribuições, seja na colheita de sangue ou na disponibilização de materiais e informações para o nosso trabalho.

Aos meus colegas de morada, José Devede e Erico Luiz, por todo o apoio nessa caminhada.

À Jonas, que tive o prazer de conhecer ainda quando estávamos na graduação de Medicina Veterinária e que por motivos alheios tivemos caminhos diferentes e recentemente nos reencontramos onde eu entrando no Mestrado e ele na posição de secretário da Pós-graduação continuando assim nossos laços de amizade.

Aos colegas de mestrado, Cristiane, Fabrícia, Atticus, Diego, Milena, Iana, pelo apoio.

Aos funcionários da UFCG, em nome de Damião, Seu Cuité, Oliven, Finha, Seu Duda, Clidemar, Benício. Vocês foram muito importantes no meu crescimento profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela aprovação do projeto e concessão de bolsa do mestrado.

Aos proprietários que consentiram as colheitas de sangue e a seus animais, que contribuíram significativamente para a realização desta pesquisa, mesmo sem saber.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE QUADROS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	11
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO I - Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por <i>brucella ovis</i> em ovinos deslanados do semiárido brasileiro.....	13
Abstract.....	14
Resumo.....	15
1-Introdução.....	15
2-Material e métodos.....	17
3-Resultados e discussão.....	19
4-Conclusão.....	22
Agradecimentos.....	23
5-Referências.....	23
CAPÍTULO II - Primeiro isolamento de <i>Actinobacillus seminis</i> em caprino.....	32
Resumo	33
1. Introdução.....	34
2. Material e métodos.....	35
2.1. <i>Historia do caso</i>	35
2.2. <i>Sorologia para Brucella ovis e Brucella abortus</i>	34
2.3. <i>O exame bacteriológico</i>	35
2.4. <i>Extração de DNA, PCR 16S rRNA e sequenciamento</i>	36
3. Resultados.....	37
4. Discussão.....	38
Agradecimentos.....	39
5. Referências.....	39
CONCLUSÕES.....	45
ANEXOS.....	46

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Capítulo I	
Fig. 1: Estado da Paraíba demonstrando os municípios e respectivos números de propriedades rurais utilizadas, na mesorregião do Sertão paraibano...	30
Capítulo II	
Fig. 1: Localização espacial do município de Patos, Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil.	43
Fig. 2: Caprino Moxotó de quatro anos de idade apresentando sinais clínicos de orquite e epididimite unilateral.	43

LISTA DE QUADROS

	Pág.
Capítulo I	
Quadro 1: Prevalência de propriedades positivas (focos) e de animais soropositivos para a infecção por <i>Brucella ovis</i> em ovinos deslanados do semiárido nordestino segundo o município, no período de julho de 2010 a julho de 2011.	27
Quadro 2: Análise univariada dos possíveis fatores de risco associados á infecção por <i>Brucella ovis</i> em ovinos deslanados do semiárido nordestino, no período de julho de 2010 a julho de 2011.	28
Quadro 3: Fatores de risco associados á infecção por <i>Brucella</i> em ovinos deslanados do semiárido nordestino segundo o município, no período de julho de 2010 a julho de 2011, estimados por regressão logística múltipla.	30

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo determinar a prevalência de rebanhos ovinos positivos (focos) e de animais soropositivos para *Brucella ovis* na região semiárida do Nordeste do Brasil, e identificar fatores de risco associados à soropositividade, bem como é relatado o isolamento de *Actinobacillus seminis* em um caprino com epididimo-orquite. Foram colhidas amostras de sangue de 1.134 ovinos procedentes de 103 rebanhos em 17 municípios. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *B. ovis* foi utilizado o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA). Um rebanho foi considerado positivo quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. Das 103 propriedades utilizadas 21 (20,39%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo e dos 1.134 animais, 59 (5,20%) foram soropositivos. Realizar higiene nas instalações com periodicidade anual (*odds ratio* = 7,13; IC 95% = 1,56-32,47; $p = 0,011$) e aquisição de animais (*odds ratio* = 6,06; IC 95% = 1,39-26,48; $p = 0,017$) foram identificados como fatores de risco. Com base na análise de fatores de risco, recomenda-se a realização de diagnóstico da infecção por *B. ovis* previamente à aquisição de animais e realização periódica de higienização das instalações. Em um rebanho do município de Patos, Estado da Paraíba, região semiárida do Brasil, com 70 caprinos e 65 ovinos criados juntos, um reprodutor da espécie caprina da raça Moxotó, com quatro anos de idade, apresentou um quadro clínico de orquite e epididimite unilateral com consistência firme. O diagnóstico da infecção por *A. seminis* foi confirmado pela associação dos achados clínicos, isolamento bacteriano e PCR e sequenciamento do gene *16S* do *rRNA*. O resultado obtido sugere que *A. seminis* pode ser uma importante causa de infertilidade em caprinos, considerando a possibilidade dos ovinos serem fontes de infecção em função do sistema de criação consorciada em algumas propriedades permitindo o contato entre ovinos e caprinos na região semiárida do Brasil.

Palavras-chave: Brucelose, epidemiologia, epididimite, *Actinobacillus seminis*.

ABSTRACT

The aim of this investigation was to determine the seroprevalence of *Brucella ovis* in sheep flocks and individual sheep in the Sertão mesorregion, Paraíba state, Northeastern Brazil, and to identify risk factors associated with seropositivity, as well as the isolation of *Actinobacillus seminis* from a goat with epididymo-orchitis is related. Blood samples were collected from 1,134 sheep from 103 flocks in 17 counties. For the serological diagnosis of *B. ovis* infection the agar gel immunodiffusion test (AGID) was carried out. A flock was considered positive when there was at least one seropositive animal. Of the 103 flocks used, 21 (20.39%) presented at least one seropositive sheep, and of the 1,134 sheep examined 59 (5.20%) seropositive animals were diagnosed. Cleaning of facilities (odds ratio = 7.13; 95% CI = 1.56-32.47; p = 0.011) and purchase of animals (odds ratio = 6.06; 95% CI = 1.39-26.48; p = 0.017) were identified as risk factors. Based on the risk factor analysis, it is recommended the diagnosis of *B. ovis* infection prior to purchase of sheep and the periodic cleaning of the facilities on the farm. A four-year-old Moxotó breeding goat in a flock of 70 goats and 65 sheep reared together in the county of Patos, semiarid region of Northeastern Brazil, showed clinical signs of unilateral orchitis and epididymitis. Diagnosis of *A. seminis* infection was confirmed by association of clinical findings, bacterial isolation and 16S rRNA gene sequencing. This result suggests that *A. seminis* may be an additional cause of infertility in goats, and that sheep may be the source of infection because the mixed farming system allows the contact between sheep and goats in the semiarid region of Northeastern Brazil.

Key words: Brucellosis, epidemiology, epididymitis, *Actinobacillus seminis*.

INTRODUÇÃO

A caprinovinocultura é uma atividade explorada em todos os continentes, pois não tem preferência por clima, solo, topografia e vegetação. No entanto os resultados obtidos em alguns países podem ser de baixo nível por conta dos poucos conhecimentos tecnológicos e zootécnicos (BATISTA, 2012).

O Brasil ocupa o nono lugar entre os países que possui os maiores rebanhos caprino com mais de nove milhões de cabeças possuindo grande extensão territorial oferecendo ótimas condições para a criação dessa espécie (FAO, 2009). Os rebanhos caprino juntamente com o ovino representam mais de 25 milhões de cabeças (IBGE, 2009), equivalendo a 1,7% do efetivo mundial que é de aproximadamente 1,4 bilhão de animais (FAO, 2009).

No período 1999 a 2004, o crescimento do efetivo de caprinos e ovinos no Brasil foi de aproximadamente 16,5% e 4,6% respectivamente (IBGE, 2009).

O Nordeste atualmente detém grande parte do rebanho caprino e ovino brasileiro, com 90,6% (aproximadamente 8,3 milhões de cabeças) de caprinos e 56,9% (aproximadamente 9,5 milhões de cabeças) de ovinos (IBGE, 2009).

A Epididimite dos Carneiros compreende diversos processos patológicos, envolvendo o epidídimo dos carneiros, estando associado a inúmeros agentes microbianos. Os prejuízos econômicos são causados, principalmente por interferência na fertilidade de machos infectados, abortamentos de fêmeas e sobre a produtividade dos rebanhos ovinos servidos por esses machos.

A *Brucella ovis* e *Actinobacillus seminis* são os principais agentes infecciosos que provocam problemas reprodutivos em animais no qual podemos destacar a epididimite que ao se disseminar no rebanho causa prejuízos com impactos para a atividade econômica, necessitando ainda de maiores estudos particularmente na região Semiárida onde o efetivo ovino e caprino representa uma fonte de renda para os produtores. Em decorrência do diagnóstico clínico da epididimite, se faz necessário o estabelecimento de associação com métodos laboratoriais diretos e indiretos visando a identificação do agente infeccioso como forma de se estabelecer o diagnóstico laboratorial para outras causa de epididimites.

REFERÊNCIAS

BATISTA, C. S. A.. Avaliação epidemiológica de agentes infecciosos e parasitários da esfera reprodutiva em caprinos leiteiros do semiárido da Paraíba. 2012. 87 f. Tese (Doutorado em Ciências) – **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo**, 2012.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT – Live animals, 2009. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/573/default.aspx#ancor>. Acesso em: 19 jul. de 2012.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Pesquisa da Pecuária Municipal 2009. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=20> . Acesso em: 12 jul. de 2012.

CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *BRUCELLA OVIS* EM OVINOS DESLANADOS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Manuscrito submetido à revista
Pesquisa Veterinária Brasileira,
Seropédica – Rio de Janeiro -
ISSN 0100-763X.

Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à Infecção por *Brucella ovis* em ovinos deslanados do semiárido brasileiro¹

Fabrine A. Santos², Severino S.S. Higino², Sergio S. Azevedo², Diego F. Costa², Areano E.M. Farias², Francisco A.L. Alves², Lilia M. Paulin³, Clebert J. Alves^{2*}

ABSTRACT.- Santos F.A., Higino S.S.S., Azevedo S.S., Costa D.F., Farias A.E.M., Alves F.A.L., Paulin L.M. & Alves C.J. 2012 [Epidemiological characterization and risk factors associated to *Brucella ovis* infection in sheep in Brazilian semiarid] Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à Infecção por *Brucella ovis* em ovinos deslanados do semiárido brasileiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0);00-00. Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Av. Universitária, s/nº, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil. E-mail: clebertja@uol.com.br

The aim of this investigation was to determine the flock-level and animal-level seroprevalences of *Brucella ovis* in sheep from the semiarid region of Northeastern Brazil, as well as to identify risk factors. Blood samples were collected from 1,134 sheep from 103 flocks in 17 counties in the Sertão mesoregion, state of Paraíba. For the serological diagnosis of *Brucella ovis* infection the agar gel immunodiffusion test (AGID) was carried out. A flock was positive when presented at least one seropositive animal. Of the 103 flocks used 21 (20.39%) presented at least one seropositive animal, and of the 1,134 animals 59 (5.20%) were seropositive. To perform cleaning of premises annually (odds ratio = 7.13; 95% CI = 1.56-32.47; p = 0.011) and purchase animals (odds ratio = 6.06; 95% CI = 1.39-26.48; p = 0.017) were identified as risk factors. It was suggested the need

¹ Recebido em.....

Aceito em

² Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Av. Universitária, s/nº, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil. *Autor para correspondência: clebertja@uol.com.br

³ Centro de Desenvolvimento e Pesquisa de Sanidade Animal, Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

for works focusing on the isolation of the agent, characterization of its pathogenicity and its economic impact on sheep flocks, as well as it was recommended the diagnosis of *B. ovis* infection prior to purchase of animals and the periodic cleaning of the premises.

INDEXING TERMS: Brucellosis, sheep, epidemiology, Semiarid of Brazil

RESUMO.- Este trabalho teve como objetivo determinar a prevalência de rebanhos ovinos positivos (focos) e de animais soropositivos para *Brucella ovis* na região semiárida do Nordeste do Brasil, e identificar fatores de risco. Foram colhidas amostras de sangue de 1.134 animais procedentes de 103 rebanhos distribuídos em 17 municípios da mesorregião do Sertão, Estado da Paraíba. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Brucella ovis* foi utilizado o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA). Um rebanho foi considerado positivo quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. Das 103 propriedades utilizada, 21 (20,39%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo, e dos 1.134 animais 59 (5,20%) foram soropositivos. Realizar higiene nas instalações com periodicidade anual (*odds ratio* = 7,13; IC 95% = 1,56 - 32,47; $p = 0,011$) e aquisição de animais (*odds ratio* = 6,06; IC 95% = 1,39 - 26,48; $p = 0,017$) foram identificados como fatores de risco. Sugere-se a necessidade de estudos acerca do isolamento do agente, caracterização da sua patogenicidade e do seu impacto econômico nos rebanhos ovinos, bem como recomenda-se a realização de diagnóstico da infecção por *B. ovis* previamente à aquisição de animais e realização periódica de higienização das instalações.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Brucelose, ovinos, epidemiologia, semiárido do Brasil

1- INTRODUÇÃO

A ovinocultura brasileira destaca-se no cenário nacional por apresentar um grande potencial de crescimento, tendo-se observado, nos últimos anos, uma evolução significativa no rebanho nacional, contando hoje com um efetivo de ovinos que chega a mais de 16 milhões de cabeças (IBGE 2006). Este crescimento pode ser explicado pelas inúmeras vantagens que apresentam como a necessidade de uma menor área de criação, menor consumo de

alimentos, facilidade de manejo e grande diversidade de produção de carne e couro de boa qualidade, servindo como alternativa de renda. Contudo deficiências sanitárias envolvidas no processo evolutivo da ovinocultura brasileira necessitam de resolução, tais como os prejuízos provocados pelas perdas associadas a necessidade de reposição dos animais em decorrência de doenças infecciosas (FERNANDES, 2009).

Entre as doenças com impacto na esfera reprodutiva, a brucelose ovina por *Brucella ovis* deve ser considerada uma das possíveis causas de abortamentos, sendo uma das principais causas de perda econômica no rebanho. A infecção foi descrita inicialmente na Nova Zelândia (BUDDLE & BOYES, 1953) e na Austrália (Simmons & Hall 1953), e posteriormente evidenciada na grande maioria dos países onde a ovinocultura tem importância econômica (Estein 1999). No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez em 1996 no Rio Grande do Sul (Ramos et al. 1996), que detectaram epididimite clínica em 6,5% de 3.317 carneiros estudados. Em seguida, trabalhos de investigação sorológica foram publicados, mostrando que a infecção está difundida em vários estados do país, com prevalência variando de 5 a 35% (Boblel et al. 1972, Magalhães-Neto & Gil-Turnes 1996, Azevedo et al. 1999, Coletto et al. 2003, Medeiros 2003, Silva et al. 2003, Azevedo et al. 2004, Nozaki et al. 2004, Clementino et al. 2007). Além disso, existem no país relato comprovando o isolamento de *B. ovis* (Alves et al. 2010).

A brucelose ovina é caracterizada por um processo infeccioso clínico ou subclínico e de tendência à cronicidade, com lesões genitais de epididimite no macho e placentite nas fêmeas com alguns casos de abortamento, mortalidade de recém nascidos e elevada frequência de nascidos com baixo peso e baixa viabilidade condicionando à elevada mortalidade em cordeiros (Nilo et al. 1986, Homse et al. 1995, Baigun et al. 2000). As lesões produzidas pela *B. ovis* no aparelho reprodutor masculino incluem epidídimo aumentado de volume e endurecido, túnicas escrotais engrossadas e testículos geralmente atrofiados (Schafer et al. 1997).

O diagnóstico da infecção por *B. ovis* tem sido efetuado, predominantemente, pelo testes sorológicos, sendo que alguns autores ressaltam que o histórico do rebanho e o quadro clínico devem ser levados em consideração ao se interpretar o resultado dos testes sorológicos (Marinho & Mathias 1996). Dentre as várias provas utilizadas para o diagnóstico de brucelose ovina, as mais frequentes são fixação de complemento (FC), teste de imunodifusão em ágar gel (IDGA) e teste de ELISA indireto (Hilbink et al. 1993, West

et al. 1993, Kumar et al. 1997). Worthington et al. (1984), investigando ovinos na Nova Zelândia em condições experimentais, demonstraram, para as provas de fixação de complemento, ELISA indireto e imunodifusão em ágar gel, sensibilidades de 96,3%, 97,2% e 91,7%, e as especificidades de 99,3%, 98,6% e 100%, respectivamente.

Tendo em vista que a infecção por *B. ovis* já foi identificada em diversos estados brasileiros e que a infecção está contemplada no Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil 2004), e considerando a hipótese de que a infecção por *B. ovis* está presente nos estados nordestinos, inclusive na Paraíba, estruturou-se o presente trabalho com o objetivo de determinar a prevalência de propriedades positivas (focos) e de animais positivos, bem como identificar os possíveis fatores de risco em ovinos deslanados do semiárido da Paraíba.

2- MATERIAL E MÉTODOS

O Estado da Paraíba é dividido geograficamente em quatro mesorregiões (Sertão Paraibano, Borborema, Agreste Paraibano e Mata Paraibana) e 23 microrregiões. A mesorregião do Sertão Paraibano possui como principal atividade a pecuária extensiva, assumindo destaque a criação de ovinos. O rebanho ovino brasileiro é de mais de 16 milhões de cabeças, das quais 56,90% (9.566.968) estão na região Nordeste. Desse efetivo de ovinos nordestinos, 4,54% (434.225) são encontrados na Paraíba distribuídos em aproximadamente 19.744 estabelecimentos (IBGE 2006). No presente trabalho foram utilizados ovinos deslanados adultos provenientes da mesorregião do Sertão.

A amostragem foi delineada para a determinação da prevalência de propriedades positivas e de animais soropositivos, de maneira que foi conduzida em dois estágios. Inicialmente, as propriedades foram aleatoriamente selecionadas. O número de propriedades a serem amostradas foi calculado com o programa Epiinfo versão 6.04 (Dean 1994), com o emprego dos seguintes parâmetros: prevalência esperada de 50% (valor adotado para maximizar a amostra), nível de confiança de 95% e erro absoluto de 10% (Thrusfield 1995). Na mesorregião do Sertão o total de propriedades criadoras de ovinos é

de 7.087, resultando em uma amostra de 96 propriedades. Por motivo de segurança, foram visitadas 103 propriedades.

O número de ovinos a serem selecionados foi determinado individualmente por propriedade com o objetivo de detectar a presença da infecção, utilizando a seguinte fórmula (Thrusfield 1995):

$$n = \left[1 - (1 - p)^{\frac{1}{d}} \right] \times \left(N - \frac{d}{2} \right) + 1$$

onde:

n – tamanho da amostra

p – probabilidade de detectar pelo menos um animal soropositivo

N – tamanho do rebanho

d – número de animais soropositivos no rebanho

A probabilidade de detecção de pelo menos um animal soropositivo foi de 95% ($p = 0,95$), e o número de animais soropositivos por rebanho (d) foi calculado assumindo prevalência intra-rebanho de 5% (Clementino et al. 2007).

No total, foram utilizados 1.134 animais procedentes de 103 propriedades de 17 municípios da mesorregião do Sertão paraibano (Figura 1).

O trabalho de campo foi desenvolvido no período de julho de 2010 a julho de 2011. As atividades de campo incluíram a colheita de sangue e envio para o Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB. As amostras de sangue foram colhidas de ovinos deslançados adultos, em volumes de 8 ml, pela punção da veia jugular com agulha descartável e tubo a vácuo (sem anticoagulante) com capacidade de 8,5

mL. Após o dessoramento, o soro foi transferido para microtubos e congelados a -10°C até a realização da prova sorológica.

Foi aplicado um questionário epidemiológico para obtenção de informações sobre problemas reprodutivos, comercialização de animais, participação em exposições, sistema de criação e manejo dos animais, principal atividade da propriedade e contato com outros animais. Os dados obtidos com os questionários foram utilizados no estudo de fatores de risco.

A imunodifusão em gel de agar (IDGA) foi à técnica utilizada como prova diagnóstica e realizada no Laboratório de Doenças Transmissíveis/CSTR/UFCG. Foram utilizados *kits* produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), sendo a técnica realizada de acordo com as instruções do fabricante utilizando-se antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *B. ovis*, amostra Reo 198.

Para a análise de possíveis fatores de risco associados à condição de propriedade positiva para a infecção por *B. ovis* foram utilizados os dados colhidos nos questionários epidemiológicos. Uma propriedade foi considerada positiva quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. A análise de fatores de risco foi conduzida em duas etapas: análise univariada e análise multivariada. Na análise univariada, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente, e aquelas que apresentaram valor de $p \leq 0,20$ pelo teste de qui-quadrado (Zar 1999) foram selecionadas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão logística múltipla (Hosmer & Lemeshow 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos no presente trabalho, 20,39% (21/103) das propriedades investigadas (Quadro 1) apresentaram pelo menos um ovino soropositivo para *B. ovis* pelo teste de imunodifusão em gel de ágar. Este resultado quando comparado aos dados obtidos por Clementino et al. (2007), 8,59%, revela-se superior, entretanto devemos considerar a mesorregião trabalhada prioritariamente, ou seja, mesorregião do

Sertão e a natureza dos animais amostrados (fêmeas em idade de reprodução e machos). Em relação a outros estudos conduzidos em diferentes estados da federação, pode-se citar o trabalho de Ramos et al. (1966) que encontraram 18,3% das propriedades com animais positivos no Rio Grande do Sul, entretanto deve-se mencionar que a técnica utilizada foi apenas avaliação clínica dos reprodutores, técnica sujeita a grandes falhas, pois somente 50% dos reprodutores infectados por *B. ovis* apresentam epididimite clínica (Baigún et al. 2000). No Estado de Alagoas, Pinheiro Junior et al. (2009) verificaram um intervalo de frequência nas propriedades que apresentaram sorologia positiva para infecção por *B. ovis* variando de 3,2% a 11,8%, inferior ao observado na nossa pesquisa. Souza et al. (2011), no Estado da Bahia relatou um percentual de 8,62% (5/58) das propriedades com animais soropositivos, dados estes que também ficam abaixo dos resultados verificados neste trabalho. Dos dados acima mencionados para os diferentes estados da região Nordeste do Brasil, destacada por possuir um considerável efetivo de ovinos deslanados. Fica evidenciado o papel da existência de fatores favorecedores a disseminação da infecção.

Observa-se também que 5,20% (59/1.134) dos animais examinados (Quadro 1) pela mesma técnica reagiram positivamente. Na região Nordeste do Brasil, podemos destacar os trabalhos conduzidos por Clementino et al. (2007), encontraram prevalência de 5,67% (28/498) de animais sororeagentes em levantamento soro-epidemiológico da brucelose por *B. ovis* em reprodutores ovinos deslanados do semiárido da Paraíba, e Pinheiro Junior et al. (2009), investigando 579 amostras oriundas de 16 rebanhos distribuídos em 23 municípios do Estado de Alagoas utilizando a técnica de IDGA, encontraram prevalência de 3,1% de animais positivos distribuídos em dez propriedades (43,5%). Os valores percentuais observados para as diferentes prevalências, mesmo considerando as diferentes regiões, condições de manejo, fatores espaciais e temporais, bem como pelo tipo de amostragem, ficaram relativamente próximas, porém inferior ao observado por Azevedo et al. (2004), que encontraram prevalência de 11,3% para a ocorrência de anticorpos anti-*B. ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do Estado do Rio Grande do Norte, e Coletto et al. (2003), que verificaram 16,25% de animais soropositivos no Estado de Pernambuco. Souza et al. (2011) no Estado da Bahia, examinando 694 amostras de soros de ovinos, encontraram prevalência de 0,72% (5/694), bem inferior aos dados encontrados nesta pesquisa.

Quando se analisam outros trabalhos já realizados no Brasil, verificam-se resultados diferentes, onde se destaca a pesquisa de Marinho & Matias (1996) no Estado de São Paulo, que não encontraram animais reagentes na IDGA entre 850 examinados, e Schafer et al. (1997), no Estado de Santa Catarina, que analisaram 20 propriedades e também não encontraram animais soropositivos. Entretanto, outros relatos diferem dos achados mencionados anteriormente, tais como Magalhães Neto & Gil Turnes (1996), que observaram prevalência de 12,6% pela IDGA em carneiros no Rio Grande do Sul, e Marques (2006), em Minas Gerais, que verificaram soroprevalência de 5,3% em ovinos e 29,4% de propriedades com animais soropositivos, revelando assim a disseminação e a importância da enfermidade nas diferentes regiões do Brasil para o rebanho ovino e a necessidade de um melhor aprofundamento nas práticas sanitárias.

Analisando-se a situação da enfermidade em outros países (Argentina, México, Índia, Canadá e França), percebe-se que a prevalência de animais soropositivos encontrada no presente trabalho (5,20%) está dentro da variação observada, de 2,4 a 26% (Niilo et al. 1986, Tamayo et al. 1989, Chartier 1992, Robles et al. 1993, Sergeant 1994, Torres et al. 1997).

Dois situações chamam atenção no presente estudo quando são comparados os diferentes relatos. A primeira diz respeito à necessidade da realização periódica de exames clínicos e sorológicos nos machos dos rebanhos, visando à detecção e eliminação precoce dos animais positivos. Em relação às fêmeas a enfermidade pode se estabelecer de forma silenciosa na ausência de sinais clínicos perceptíveis. Entretanto deve-se ficar atento a quadros de vaginocervicite e endometrite com consequente infertilidade temporária (Homse et al. 1995) e nas fêmeas gestantes, a infecção ocasiona bacteremia a partir da segunda metade da gestação, determinando placentite e morte fetal ou nascimento de cordeiros com baixo peso e com pneumonia supurativa ou lesões renais e/ou hepáticas que impedem a sua sobrevivência (Bossery 1987).

No Quadro 2, com relação à análise de fatores de risco, as variáveis selecionadas para a análise múltipla ($p \leq 0,20$) foram aquisição de animais ($p = 0,139$), participar de feiras e/ou exposições ($p = 0,188$) e higiene das instalações ($p = 0,017$). Na análise múltipla as variáveis apontadas como fatores de risco foram a aquisição de animais (*odds ratio* = 6,06; IC 95% = 1,39 – 26,48) e a realização de higiene das instalações anualmente (*odds ratio* = 7,13; IC 95% = 1,56 – 32,47), apresentadas no Quadro 3.

Uma condição, relacionada ao manejo dos animais nas propriedades, que pode contribuir para a diminuição da ocorrência de doenças infecciosas e parasitárias é a higienização das instalações, uma vez que esta é uma medida básica recomendada para auxiliar no controle de uma série de doenças. No presente trabalho, verificou-se que propriedades que realizavam higiene nas instalações com periodicidade anual apresentaram 50% de positividade, com *odds ratio* de 7,13. Por outro lado, a frequência de positividade em propriedades que realizavam higiene diária e/ou mensal foi de 17,1%. A higienização e a limpeza das instalações são importantes na prevenção da disseminação da doença devido ao fato das ovelhas infectadas eliminarem a *B. ovis* junto com as secreções vaginais, a placenta e o feto abortado (Libal & Kirkbride 1983, Homse et al. 1995, Estein 1999, Grilló et al. 1999), e como as mucosas oral e nasal e a pele ferida são portas de entrada do agente (Plant et al. 1986, Alton et al. 1988, Bulgin et al. 1990). Esses materiais, permanecendo nas instalações, podem contribuir para a disseminação da infecção nos rebanhos (Clementino et al., 2007).

Para a brucelose bovina por *Brucella abortus* a compra de animais é considerada como o principal fator de risco para a introdução da infecção em rebanhos livres (Crawford et al. 1990), e a intensidade do risco pode variar de acordo com a fonte da compra. No presente trabalho, observou-se que a aquisição de animais também foi fator de risco para a brucelose ovina, e que propriedades que realizam tal prática apresentaram 27,6% de positividade contra 12,8% para aquelas que não realizam a compra, com *odds ratio* de 6,06. Isso reforça ainda mais a necessidade de controle do trânsito de animais destinados à reprodução, principalmente nos casos de participação em eventos que envolvam a aglomeração de animais, como exposições, feiras e leilões, bem como a aquisição apenas de animais soronegativos para a brucelose.

4- CONCLUSÃO

Constatou-se que 20,39% das propriedades apresentaram pelo menos um ovino soropositivo e que 5,20% dos animais examinados foram soropositivos, sugerindo que o agente encontra-se disseminado na região e que há a necessidade de estudos acerca do seu isolamento do agente, caracterização da patogenicidade e do impacto econômico nos

rebanhos ovinos. Baseando-se na análise de fatores de risco, recomenda-se a realização de diagnóstico da infecção por *B. ovis* previamente à aquisição de animais e realização periódica de higienização das instalações.

Agradecimentos.- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa durante o curso de Pós-Graduação.

5- REFERÊNCIAS

ALTON G.G., JONES L.M., ANGUS R.D. & VERGER J.M. **Techniques for the brucellosis laboratory.** INRA, Paris. p.109, 1988.

ALVES C.J., FIGUEIREDO S.M., AZEVEDO S.S., CLEMENTINO I.J., KEID L.B., VASCONCELLOS S.A., BATISTA C.S.A., ROCHA V.C.M. & HIGINO S.S. Detection of *Brucella ovis* in ovine from Paraíba state, in the northeast region of Brazil. **Braz. J. Microbiol.** v.41, p.365 – 367, 2010.

AZEVEDO S.S., ALVES C.J., ALVES F.A.L., CLEMENTINO I.J., BATISTA C.S.A. & AZEVEDO A.S. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do Estado do Rio Grande do Norte, **Brasil. Agropec. Téc.** v.25, p.45-50, 2004.

AZEVEDO S.S., ALVES C.J., ANDRADE J.S.L. & SANTOS F.A. Prevalência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* na microrregião do Seridó do Rio Grande do Norte. **Anais do 4º Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, Recife, PE**, p.269-270, 1999.

BAIGÚN R., CONIGLIARO A.S. & LUNA F. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitis ovina. **Vet. Arg.** v.17, p.103-107, 2000.

BOBLEL H., FERNANDES J.C.T., MIES FILHO A., RAMOS A.A. & TREIN E.J. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. **Pesq. Agropec. Bras.** v.7, p.1-4, 1972.

- BOSSERAY N. Brucella infection and immunity in placenta. **Ann. Inst. Pasteur Microbiol.** v.138, p.110-113, 1987.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria** nº 102 (PLANO NACIONAL DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA EPIDIDIMITE OVINA (*Brucella ovis*), publicada no Diário Oficial da União de 17/12/2004, Seção 1, p.24, 2004.
- BUDDLE M.B. & BOYES B.W. A brucella mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. **Aust. Vet. J.** v.29, p.145-153, 1953.
- BULGIN M.S. *Brucella ovis* epizootic in virgin ram lambs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v.196, p.1120-1122, 1990.
- CHARTIER C. Ovine brucellosis in Ivory Coast: a serological survey. **Bull. Anim. Hlth Prod. Afr.** v.40, p.213-214, 1992.
- CLEMENTINO I.J., ALVES C.J., AZEVEDO S.S., PAULIN L.M. & MEDEIROS K.A. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.** v.27, p.137-143, 2007.
- COLETO Z.F., PINHEIRO JÚNIOR J.W., MOTA R.A., GUERRA M.M.P., SIMPLÍCIO K.M.M.G., CÂMARA D.R., SOARES R.P.T., PORTO W.J.N., CINTRA JÚNIOR J., FAUSTINO M.A.G., SOUZA A.F. & BERTO R.S. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.27, p.551-553, 2003.
- CRAWFORD R.P., HUBER J.D. & ADAMS B.S. **Epidemiology and surveillance.** In: Nielsen K. & Duncan J.R. (Eds), Animal Brucellosis. CRC Press, Boca Raton. p.131-151, 1990.
- DEAN A.G. Epiinfo version 6: a word-processing, database, and statistic program for public health on IBM-compatible microcomputers. Atlanta: **Center for Diseases Control and Prevention**, p.601, 1994.
- FERNANDES C.E. Papel do ovino na cadeia epidemiológica da leptospirose pela *Leptospira* spp. sorovar Hardjo: fatores de risco que envolvem a infecção e transmissão entre ovinos e bovinos. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal, Segurança Alimentar e o Ambiente, **Instituto Biológico de São Paulo, SP.** 101p., 2009.

- ESTEIN S.M. Aspectos imunológicos em el diagnóstico y control de la epididemitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Arch. Med. Vet.** v.31, p.5-17, 1999.
- GRILLÓ M.J., MARÍN C.M., BARBERÁN M. & BLASCO J.M. Experimental *Brucella ovis* infection in pregnant ewes. **Vet. Rec.** v.144, p.555-558, 1999.
- HILBINK F., WRIGHT M. & ROSS G. Use of the double immuno gel diffusion test and the enzyme-linked immunosorbent assay to distinguish false from true reactors in the complement fixation test for *Brucella ovis*. **NZ Vet. J.** v.41, p.111-115, 1993.
- Homse A.C., Casaro A.P. & Campero C.M.** Infertilidad em ovelhas por *B. ovis*. **Vet. Arg.** v.12, p.243-249, 1995.
- HOSMER D.W. & LEMESHOW S. **Applied logistic regression.** John Wiley & Sons, New York. 375p. 2000.
- IBGE 2006. Censo **Agropecuário de 2006, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Disponível em:
<http://www.ibge.com.br/estadosat/temas.php?sigla=pb&tema=censoagro>>. Acessado em 28 de setembro de 2012.
- KUMAR P., SINGH D.K. & BARBEDDHE S.B. Serological evidence of brucellosis in sheep and goats. **Ind. J. An. Sci.** v.67, p.180-182, 1997.
- Libal M.C. & Kirkbride C.A. *Brucella ovis*-induced abortion in ewes. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v.183(5), p.553-554, 1983.
- MAGALHÃES NETO A. & GIL-TURNES C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v.16, p.75-79, 1996.
- MARINHO M. & MATHIAS L.A. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do estado de São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.** v.16, p.45-48, 1996.
- MARQUES A.P.R. **Caracterização soropidemiológica da infecção por vírus Maedi-visna e *Brucella ovis* em ovinos do estado de Minas Gerais.** Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 79p. 2006.

MEDEIROS K.A. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella ovis* em reprodutores ovinos deslanados do semi-árido nordestino nos municípios de Patos e São Mamede-PB.

Monografia de Especialização em Saúde Pública Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 17p. 2003.

NIILO L., MACDONALD D.W., GODKIN G.F. & STONE M.W. Ovine brucellosis in Alberta. **Can. Vet. J.** v.27, p.245-249, 1986.

NOZAKI C.N., MEGID J., LIMA K.C., SILVA JÚNIOR F.F. & VELOSO C.S.

Comparação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar e ELISA no diagnóstico de brucelose ovina em cabanhas da região centro-oeste do estado de São Paulo. **Arq. Inst. Biol.** v.71, p.1-5, 2004.

PINHEIRO JUNIOR J.W., OLIVEIRA A.A.F., MOTA R.A., AGOTTANI J.V., JESUS E.M., ASSIS S.T. & OLIVEIRA C.Z. Ocorrência de ovinos sororeatores para *Brucella ovis* no Estado de Alagoas, Brasil. **Vet. Zootec.** v.16, p.500-508, 2009.

PLANT J.W., EAMENS G.J. & SEAMAN J.T. Serological, bacteriological and pathological changes in rams following different routes of exposure to *Brucella ovis*. **Aust. Vet. J.** v.63, p.409-412, 1986.

RAMOS A.A., MIES FILHO A., SCHENCK J.A.P., VASCONCELLOS L.D., PRADO O.T.G., FERNANDES J.C.T. & BLOBEL H. Epididimite ovina. Levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesq. Agropec. Bras.** v.1, p.211-213, 1966.

ROBLES C.A., LA TORRACA A., SANCHOLUZ M., UZAL F.A. & EVANS E. Brucelosis ovina en majadas merino de la provincia de Chubut, Argentina. **Vet. Arg.** v.10, p.458-461, 1993.

SCHÄFER I., VAZ A., RAMELLA J. & COUTINHO G. Prevalência de carneiros reagentes à prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no Município de Lages-SC. **Hora Vet.** v.17, p.60-61, 1997.

SERGEANT E.S.G. Seroprevalence of *Brucella ovis* infection in commercial ram flocks in the Tamworth area. **NZ Vet. J.** v.42, p.97-100, 1994.

SILVA J.B.A., FEIJÓ F.M.C., TEIXEIRA M.F.S. & SILVA J.S. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

Ciênc. Anim. v.13, p.51-54, 2003.

SIMMONS G.C. & HALL W.T.K. Epididymitis of Rams. **Aust. Vet. J.** v.29, p.33-40, 1953.

SOUZA T.S., COSTA J.N., MARTINEZ P.M., LIMA C.C.V., ARAÚJO B.R., NETO A.O.C, ANUNCIAÇÃO A.V.M., ALMEIDA M.G.A.R. & PINHEIRO R.R. Inquérito soro-epidemiológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos no semiárido baiano. **Vet. Zootec.** v.18, p.697, 2011.

TAMAYO R., VALENTIN H. & SCHOEBITZ R. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. **Arch. Med. Vet.** v.21, p.22-28, 1989.

THRUSFIELD M. **Veterinary Epidemiology**. 2nd ed. Blackwell Science, Cambridge. 479p. 1995.

TORRES E.D.N., APARICIO E.D., QUEZADA F.V., TAVERA F.T. & GÜEMES F.S. Presencia de anticuerpos contra diferentes especies de *Brucella* en sementales ovinos jóvenes. **Vet. Mex.** v.28, p.241-245, 1997.

WEST D.M., STAFFORD K.J., ALLEY M.R., BADCOE L.M., HILBINK E. & COMPTON C.W.R. Serological and necropsy findings for rams infected with *Brucella ovis* which were not identified by the complement fixation test. **NZ Vet. J.** v.41, p.82-86, 1993.

WORTHINGTON R.W., WEDDELL W. & PENROSE M.E. A comparison of three serological tests for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **NZ Vet. J.** v.32, p.58-60, 1984.

ZAR J.H. **Biostatistical analysis**. 4th ed. Prentice-Hall, New Jersey. p.663, 1999.

Legenda da Figura

Fig. 1. Estado da Paraíba demonstrando os municípios e respectivos números de propriedades rurais utilizadas, na mesorregião do Sertão paraibano.

Os Quadros

Quadro 1. Prevalência de propriedades positivas (focos) e de animais soropositivos para a infecção por *Brucella ovis* em ovinos deslançados do semiárido nordestino segundo o município, no período de julho de 2010 a julho de 2011

Município	Prevalência por propriedades		Prevalência por animais	
	Nº. total de propriedades	Nº. de propriedades positivas (%)	Nº. total de animais	Nº. de animais soropositivos (%)
Boa Ventura	1	1 (100)	11	3 (27,3)
Bom Jesus	1	0 (0)	11	0 (0)
Cacimba de Areia	1	0 (0)	11	0 (0)
Cajazeiras	12	1 (8,3)	132	2 (1,5)
Cajazeirinhas	1	0 (0)	13	0 (0)
Condado	1	0 (0)	11	0 (0)
Curral Velho	7	1 (14,3)	88	0 (0)
Diamante	14	5 (35,7)	143	12 (8,4)
Patos	8	1 (12,5)	101	2 (2,0)
Paulista	8	4 (50)	88	21 (23,9)

Pombal	8	0 (0)	88	0 (0)
Quixaba	1	1(100)	11	2 (18,2)
Santa Terezinha	9	0 (0)	110	0 (0)
São João do Rio do Peixe	14	4 (28,6)	132	9 (6,8)
São José de Espinharas	1	1 (100)	10	2 (20)
São José do Bonfim	9	0 (0)	99	3 (3,0)
Sousa	7	2 (28,6)	75	3 (4,0)
Total	103	21 (20,39)	1.134	59 (5,20)

Quadro 2. Análise univariada dos possíveis fatores de risco associados á infecção por *Brucella ovis* em ovinos deslanados do semiárido nordestino, no período de julho de 2010 a julho de 2011

Variáveis	Nº. total de propriedades	Nº. de propriedades positivas (%)	Valor de p
Tipo de Exploração			
Intensiva	1	0 (0)	
Semi-intensiva	26	4 (15,4)	
Extensiva	71	17 (23,9)	0,576
Tipo de Criação			
Cria	30	4 (13,3)	
Recria/engorda	43	11 (25,6)	
Reprodução	9	2 (22,2)	
Subsistência	16	4 (25,0)	0,630
Finalidade da exploração			
Corte	97	21 (21,6)	
Mista	1	0 (0)	1,000
Tamanho do rebanho			
Até 19 animais	52	12 (23,1)	
20 ou mais animais	51	11 (21,6)	1,000
Criação do tipo tecnificada			
Não	81	17 (21,0)	
Sim	15	4 (26,7)	0,734
Principal atividade da propriedade			
Não	79	16 (20,3)	
Sim	18	5 (27,8)	0,530
Contatos com outros animais			
Não	44	12 (27,3)	
Sim	52	9 (17,3)	0,353
Pastagem nativa			
Não	2	0 (0)	
Sim	96	21 (21,9)	1,000
Suplementação			
Não	44	12 (27,3)	
Sim	46	7 (15,2)	0,253
Aquisição de animais			
Não	39	5 (12,8)	
Sim	58	16 (27,6)	0,139*
Participar de feiras e/ou exposições			
Não	88	17 (19,3)	
Sim	4	2 (50,0)	0,188*
Práticas vacinais			
Não	71	15 (21,1)	
Sim	26	6 (23,1)	1,000
Vermifuga os animais			

Não	11	2 (18,2)	
Sim	87	19 (21,8)	1,000
Presença de abortos			
Não	60	11 (18,3)	
Sim	32	9 (28,1)	0,413
Nascimento de crias mortas			
Não	68	13 (19,1)	
Sim	25	7 (28,0)	0,522
Morte de cordeiros nas primeiras 24 horas			
Não	70	16 (22,9)	
Sim	23	4 (17,4)	0,772
Morte ao desmame			
Não	78	16 (20,5)	
Sim	15	4 (26,7)	0,732
Comportamento homossexual			
Não	42	7 (16,7)	
Sim	50	14 (28,0)	0,298
Presença de plantas tóxicas			
Não	32	10 (31,3)	
Sim	62	11 (17,7)	0,219
Higienização das instalações			
Diariamente	35	6 (17,1)	
Mensalmente	41	7 (17,1)	
Anualmente	16	8 (50,0)	0,017*
Nascimentos no último ano			
Até 10 nascimentos	38	7 (18,4)	
Acima de 10 nascimentos	33	9 (27,3)	0,545

* Variáveis selecionadas para a análise múltipla ($p \leq 0,20$)

Quadro 3. Fatores de risco associados à infecção por *Brucella* em ovinos deslançados do semiárido nordestino segundo o município, no período de julho de 2010 a julho de 2011, estimados por regressão logística múltipla

Fatores de risco	Odds ratio	IC 95%	Valor de p
Aquisição de animais	6,06	1,39 – 26,48	0,017
Realizar higiene das instalações anualmente	7,13	1,56 – 32,47	0,011

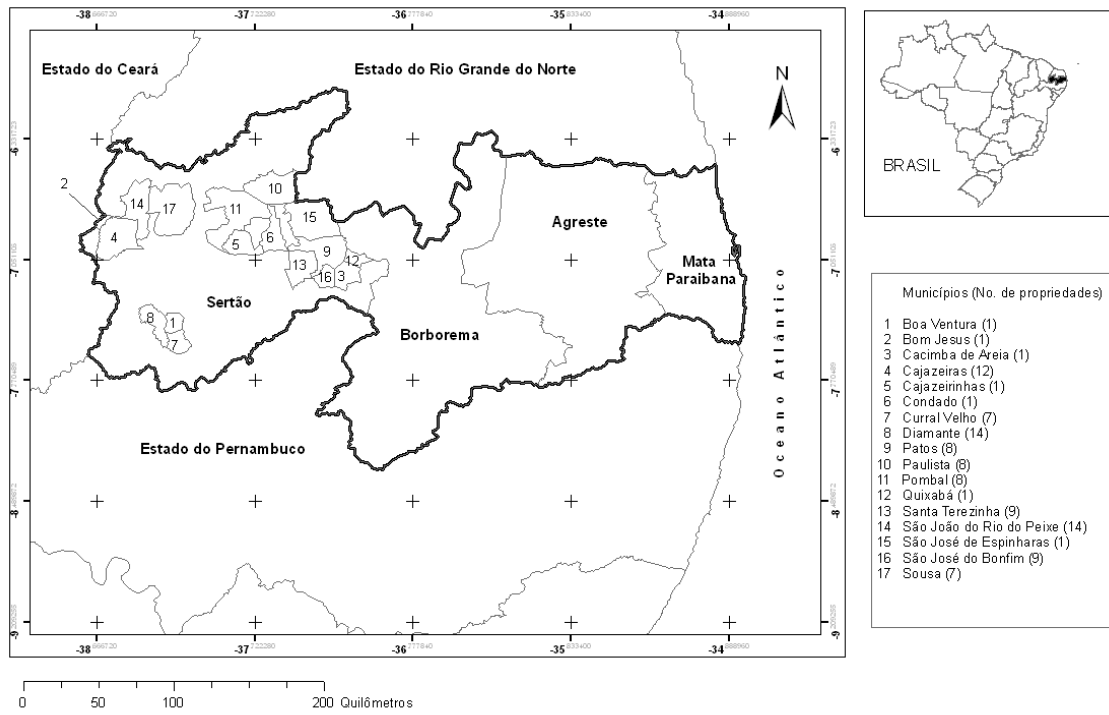


Figura 1

CAPÍTULO II

Isolamento de *Actinobacillus seminis* em caprino

Manuscrito submetido à revista
Small Ruminant Research -
ISSN 0921 – 4488.

Isolamento de *Actinobacillus seminis* em caprino

F.A. Santos ^a, E.O. Azevedo ^a, S.S. Azevedo ^a, F. Garino Júnior ^a, R.A. Mota ^b, P.C.P. Kim ^b, A.L.V. Gomes ^b, C.J. Alves^{a,*}

^a*Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, 58700-970, Patos, PB, Brasil.*

^b*Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil.*

RESUMO

No presente trabalho é relatado o primeiro isolamento de *Actinobacillus seminis* em um caprino. Em um rebanho do município de Patos, Estado da Paraíba, região semiárida do Brasil, com 70 caprinos e 65 ovinos criados juntos, um reprodutor da espécie caprina da raça Moxotó, com quatro anos de idade, apresentou um quadro clínico de orquite e epididimite unilateral com consistência firme. O diagnóstico da infecção por *A. seminis* foi confirmado pela associação dos achados clínicos, isolamento bacteriano e PCR e sequenciamento do gene *16S* do *rRNA*. O resultado obtido sugere que *A. seminis* pode ser uma importante causa de infertilidade em caprinos, considerando a possibilidade dos ovinos serem fontes de infecção em função do sistema de criação consorciada em algumas propriedades permitindo o contato entre ovinos e caprinos na região semiárida do Brasil.

Palavras-chave: Epididimite, caprinos, *Actinobacillus seminis*, isolamento

*Corresponding author. Tel.: +55 8335113000; fax: +55 8335113048.

E-mail address: clebertja@uol.com.br (C.J. Alves).

1. Introdução

A caprinocultura se caracteriza pela sua grande importância econômica para muitos países, incluindo o Brasil, que detém um efetivo de 7.107.608 cabeças, constituindo assim uma excelente fonte de carne e leite para os seres humanos. A atividade é de particular importância na região Nordeste, onde estão concentrados cerca de 93,7% dos caprinos (BRASIL, 2012). Vários são os fatores que influenciam negativamente no crescimento da caprinocultura no Brasil, destacando-se os problemas nutricionais e sanitários. Nesse contexto, as doenças infectocontagiosas assumem importância, pois são responsáveis por elevadas perdas econômicas nos rebanhos.

A epididimite ovina tem sido relatada como uma das principais causas de prejuízos econômicos, pois interfere na fertilidade dos machos infectados, que não são percebidos facilmente em criações extensivas devido a falta de informação dos produtores sobre essa doença (Gomes et al. 1991). Um dos principais agentes causais é *Actinobacillus seminis*, uma bactéria Gram-negativa da família Pasteurellaceae. Esta infecção se estabelece quando os machos ainda jovens alcançam a maturidade sexual, também sendo diagnosticada em animais adultos. Sua patogenia é incerta, mas sugere-se que *A. seminis* seja um microorganismo oportunista presente na cavidade prepucial, capaz de colonizar as partes profundas do trato genital, ocasionando assim os sinais clínicos (Dibarrat et al., 2006). Um dos possíveis fatores predisponentes pode estar associado ao estresse induzido por mudanças hormonais durante a maturação sexual ou por deficiências nutricionais, ocasionando o desenvolvimento de orquite e epididimite, principalmente em carneiros jovens (Hajtós et al., 1987).

O primeiro isolamento de *Actinobacillus seminis* foi relatado por Baynes and Simmons (1960), na Austrália, no sêmen de ovinos com epididimite. A partir daí, a bactéria foi isolada em diversas ocasiões em vários países: USA (Livingston and Hardy, 1964), África do Sul (Worthington and Bosman, 1968), Nova Zelândia (Gumbrell and Smith, 1974), Hungria (Hajtós et al., 1987), Argentina (Robles et al., 1990), Reino Unido (Heath et al., 1991) e na Espanha (Puente-Redondo et al., 2000). No Brasil, existem apenas quatro relatos sobre o isolamento de *Actinobacillus seminis* em ovinos (Schreiner et al., 1992; Gomes et al., 2001; Gregory et al., 2009; Bezerra et al., 2012). Até o momento, não há relatos de isolamento de *A. seminis* em casos de epididimite e orquite em caprinos, seja

no Brasil ou em outros países. Este trabalho relata o primeiro isolamento de *A. seminis* em um caprino.

2. Material e métodos

2.1. História do caso

Durante uma visita a uma propriedade no município de Patos (Fig. 1), Estado da Paraíba, região semiárida do Brasil, para exames rotineiros direcionados à esfera reprodutiva a fim de verificar problemas diretamente envolvidos com a diminuição dos indicadores reprodutivos desse rebanho, observou-se um reprodutor da espécie caprina da raça Moxotó, com quatro anos de idade, apresentando um quadro clínico de orquite e epididimite unilateral com consistência firme (Fig.2). Nessa propriedade existiam 135 animais, sendo 70 caprinos e 65 ovinos criados juntos.

2.2. Sorologia para *Brucella ovis* e *Brucella abortus*

Foi feita uma colheita de sangue em todos os animais, por punção da veia jugular, para diagnóstico sorológico das infecções por *B. ovis* e *B. abortus*. Para *B. ovis*, foi utilizada a técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) com kits comerciais produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), Brasil, sendo a técnica realizada de acordo com as instruções do fabricante, utilizando-se antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *B. ovis*, amostra Reo 198. Para *B. abortus* foi utilizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), cujo antígeno consistiu em uma suspensão de *B. abortus* amostra 1119/3 inativada, produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), Brasil, na concentração celular de 4% e corado pelo Rosa de Bengala (OIE, 2008).

2.3. O exame bacteriológico

Do caprino com diagnóstico clínico de epididimite foram realizadas colheitas semanais de sêmen por eletro-ejaculação, durante três semanas. Também foram efetuadas punções por aspiração com seringas e agulhas descartáveis do testículo e da cauda do

epidídimo. As amostras foram semeadas em meios de cultura ágar sangue e ágar *Brucella* enriquecidos com sangue desfibrinado de carneiro na concentração de 5% do volume total. Todas as amostras foram incubadas em uma atmosfera contendo 10% de CO₂, bem como em aerobiose, por um período de cinco dias. As bactérias isoladas foram submetidas às provas bioquímicas conforme Krieg & Holt (1984).

2.4. Extração de DNA, PCR 16S rRNA e sequenciamento

As amostras de sêmen, punção e cultivo foram submetidas à extração de DNA utilizando-se Kit comercial “Qiagen DNA EasyBloodandTissues Kit” (Qiagen®), seguindo o protocolo do fabricante.

Para a *Brucella sp.* o PCR foi realizado utilizando-se os iniciadores dirigidos para a região 16S-interespaço 23SrRNA de *Brucella spp.* (ITS66: ACATAGATCGCAGGCCAGTCA e ITS279: AGATACCGACGCAAACGCTAC) (Keid et al, 2007.). ITS66 e ITS279 primers são específicos para *Brucella spp.* e o tamanho esperado do produto de amplificação a partir de *Brucella* é 214 pb. A mistura de reação de amplificação foi preparada em um volume de 50 mL contendo 200 µM de cada tryphosphate desoxinucleósido, KCl 50 mM, 10 mM de Tris-HCl (pH 9,0), MgCl₂ 1,5 mM, 0,5 mM de cada iniciador, 1,5 U de polimerase de DNA Taq (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e 5 µL de ADN molde. A reação foi realizada em um termociclador de DNA (MJ Research DNA PTC motor 200, Watertown, MA, EUA), sem óleo mineral. A água ultrapura foi utilizada como controle negativo e a estirpe *B. ovis* 63/290 como controle positivo. Após uma desnaturação inicial a 95 ° C durante 2 min, o perfil de PCR foi definida como se segue: 30 s de desnaturação modelo a 95 ° C, 30 s de primer anelamento a 62 ° C e 30 s de extensão do primer a 72 ° C, para um total de 40 ciclos, com uma extensão final a 72 ° C por 5 min.

Para *A. seminis*, os primers utilizados foram SRJAS1 (CTTATCTTTCTTAAGCCCTGAC) e SRJAS2 (AAGAAAAAGACGAAGAGACATT) segundo Appuhamy et al. (1998b), amplificando a região 16S do rRNA com 436pb. As reações de amplificação foram realizadas em um volume final de 12,5 µL contendo 2,5µL de DNA genômico; 0,5 µL de cada primer a 30µM; 2,5 µL de Água Mili-Q ultrapura e 6,25 µL de Top Taq Master Mix (Quiagen®), de acordo com o protocolo do fornecedor. O perfil térmico das etapas de reações foi feito em um termociclador XP Thermal Cycler

(Bioer Technology CO LTDA), consistindo de uma desnaturação do DNA inicial a 94°C (1min) e seguida de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos para a desnaturação, 55°C por 30 segundos para o anelamento, 72°C por 6 minutos para a extensão e extensão final de 1 minuto a 72°C, de acordo com Appuhamy et al. (1998a).

Amplified products were analyzed by electrophoresis in a 2% agarose gel and then stained with ethidium bromide (0.5 mg/mL). The DNA bands were visualized under UV light.

As reações de sequenciamento foram realizadas com o kit “The Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing” (Applied Biosystems) e as condições de polimerização foram realizadas em placas de 96 poços de acordo com as instruções do fabricante. As amostras foram sequenciadas pelo método dideoxy terminator em sequenciador automático ABI PRISM 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystem), com posterior análise de identidade utilizando o software Jalview (<http://www.jalview.org/>).

3. Resultados

Com relação a sorologia para *B. abortus*, todos os animais foram negativos no AAT. Para *B. ovis*, cinco ovinos (7,7%) e nove caprinos (12,9%), incluindo o caprino com sinais clínicos de orquite e epididimite unilateral, foram soropositivos na IDGA.

A partir do material de punção e de sêmen, foram isoladas colônias pequenas (1 a 2 mm), lisas, brilhantes e sem pigmento. Na coloração de Gram, foram verificadas bactérias com morfologia de cocobacilos e Gram negativas. As amostras foram catalase, oxidase, nitrato e esculina positivas e motilidade negativa, produção de ácido em maltose e xilose, sem produção de ácido em galactose, lactose, maltose e trealose. As características morfotintoriais e bioquímicas permitiram identificá-la como sendo *A. seminis*.

A PCR foi negativa para *B. ovis*, no entanto, foi amplificado DNA de *A. seminis* a partir das amostras de sêmen (isolate SAAS01) colhidas semanalmente. Os produtos amplificados das amostras de sêmen que revelaram fragmento do tamanho indicado ao descrito para os primers utilizados para *A. seminis* (Fig. 3), quando sequenciados revelaram similaridade de 99% com a região 16S do rRNA de *A. seminis*.

4. Discussão

O isolamento de *A. seminis* em caprino, com posterior resultado positivo no sequenciamento, trata-se do primeiro relato na espécie no Brasil e provavelmente no mundo. Um fato que merece destaque diz respeito à criação conjunta de caprinos e ovinos na propriedade em questão, situação comum em relação ao sistema de criação no semiárido do Brasil, onde frequentemente pode-se encontrar propriedades que adotam a criação consorciada de pequenos ruminantes ou bovinos, principalmente quando se trata de animais com aptidão para o tipo corte (produção de carne). A possível participação de ovinos como fonte de infecção de *A. seminis* para caprinos não pode ser descartada, visto que o sistema de manejo proporciona o contato entre as espécies.

Clinicamente, a infecção por *A. seminis* caracteriza-se por alterações inflamatórias crônicas que envolvem o epidídimo e o testículo (Bezerra et al., 2012). Estas alterações foram devidamente comprovadas quando da avaliação clínica do reprodutor da espécie caprina da raça Moxotó, com quatro anos de idade, que apresentava um quadro clínico com orquite e epididimite unilateral com consistência firme. Deve ser destacado que as alterações clínicas estão associadas à baixa concentração, baixa motilidade e a não viabilidade espermática, além da presença de neutrófilos no sêmen, que comprometem a taxa de fertilidade dos reprodutores, e nas regiões onde a doença não foi diagnosticada anteriormente, os prejuízos econômicos podem ser ainda maiores.

Analisando-se os indicadores de produção, há relatos que revelam deficiências sanitárias em relação à criação de pequenos ruminantes na região semiárida do Nordeste do Brasil (Pinheiro, 2000), demonstrando assim a necessidade de minimização dos prejuízos provocados pelas perdas reprodutivas. Neste particular, destacam-se as características da infecção por *A. seminis*, cujos efeitos não são perceptíveis nem mensuráveis (Gomes et al., 1991), especialmente em criações extensivas ou por produtores não alertados para a importância econômica da doença (Bezerra et al., 2012).

O isolamento de *A. seminis* na espécie caprina se reveste de importância, em função do que representa a atividade da caprinoovicultura no contexto da cadeia produtiva e seus impactos econômicos para a região semiárida do Nordeste do Brasil, visto que a infecção causa infertilidade dos machos infectados e, conseqüentemente, redução da fertilidade dos rebanhos. Diante desta situação, o *A. seminis* deve ser considerado como um diagnóstico

diferencial em casos de epididimite em reprodutores caprinos, especialmente na região Nordeste do Brasil, onde a criação consorciada de pequenos ruminantes é uma prática amplamente adotada e o agente já foi isolado em ovinos (Bezerra et al., 2012).

Embora o *A. seminis* predisponha o desenvolvimento de orquite e epididimite principalmente em carneiros jovens (Hajtos et al., 1987), no presente trabalho a infecção foi confirmada em um reprodutor adulto da espécie caprina, o que permite supor que a infecção também está disseminada entre os reprodutores adultos, o que dificulta o controle principalmente na ocorrência de empréstimos de reprodutores entre os produtores e a comercialização sem os devidos cuidados sanitários na região.

O diagnóstico diferencial visando identificar o agente nos casos de orquite e epididimite deve ser fundamentado no diagnóstico clínico, anatomopatológico, e principalmente no isolamento do agente causal (Sponenberg et al., 1983). Exames sorológicos não tem demonstrado resultados satisfatórios, e um fato que chamou atenção no presente trabalho foi o resultado positivo do caprino na prova de IDGA, utilizando antígeno de *B. ovis*, prova utilizada para o diagnóstico da brucelose ovina, o que levanta a possibilidade de ocorrência de caprinos soropositivos para *B. ovis* quando infectados por *A. seminis*. No entanto, Gomes et al. (2001) e Gregory et al. (2009) isolaram *A. seminis* de ovinos, e os animais foram negativos na pesquisa de anticorpos anti-*B. ovis* na IDGA.

Agradecimentos. - A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa durante o curso de Pós-Graduação.

5. Referências

APPUHAMY S.; COOTE J.G. & LOW J.C. PCR methods for rapid identification and characterization of *Actinobacillus seminis* strains. **J. Clin. Microbiol.** v.36, p.814-817, 1998.

APPUHAMY, S., J.C. LOW, R. PARTON AND J.G. COOTE, Specific PCR primers from the *Actinobacillus seminis*. **J. Applied Microbiol.**, v.185, p.941-948, 1998.

BAYNES I.D. & SIMMONS G.C. Ovine epididymitis caused by *Actinobacillus seminis* N. sp. **Australian Veterinary Journal**. v.36, p.454-459, 1960.

BEZERRA M. J. G., SANTOS A. S., CRUZ J. A. L. O., KUNG E. S., SÁ S. G., JABOUR F. F., BRITO M. F., MOTA R. A. Epididimite ovina por *Actinobacillus seminis* no Estado de Pernambuco. **Pesq. Vet. Bras**. v.32(5), p.369-373, 2012.

Brasil, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de Recuperação Automática, SIDRA**, 2012. Disponível em: <

www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1>. Acesso em 21 jun. 2012;

DIBARRAT JA, APARICIO ED, REYNOSO BA, APARICIO BD, GUTIÉRREZ VRT, PÉREZ, JT. Inducción experimental de epididimitis en ovinos por inoculación intrauretral com *Actinobacillus seminis*: estudio bacteriológico, serológico e histopatológico. **Rev. Téc. Pec. México**, v.44, p.257-267, 2006.

GOMES M.J.P. **Isolamento e identificação de *Chlamydia psittacide* reprodutores bovinos com adenite vesicular, no Estado do Rio Grande do Sul**. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. RJ. 95p. 1991.

GREGORY L., RIZZO H.H., MEIRA JUNIOR E.B.S., LINS G.J.V., LINS G.P.V. & PINHEIRO E.S. Relato do primeiro caso de orquite e epididimite unilateral ovina causada por *Actinobacillus seminis* no estado de São Paulo, Brasil. **Revta Bras. Reprod. Anim**. v.33(2), p.105-107. 2009

GOMES M.J.P., DRIEMEIER D., BONETTI A.L., EIDT M. & AZAMBUJA D.R. Epididimite ovina: isolamento de *Actinobacillus seminis*, no Rio Grande do Sul, Brasil. **Arq. Fac. Vet. UFRGS** 29:55-58, 2001.

GUMBRELL R.C. & SMITH J.M.B. Deoxyribonucleic acid base composition of ovine actinobacilli. **Journal General Microbiology**. v.84, p.399-402, 1974.

HAJTÓS I., FODOR L., GLÁVITS R. & VARGA J. Isolation and characterization of *Actinobacillus seminis* strains from ovine semen samples and epididymitis. **Journal of Veterinary Medicine, B.** v.34, p.138-147, 1987.

HEATH P.J., DAVIES I.H., MORGAN J.H. & AITKEN I.A. Isolation of *Actinobacillus seminis* from rams in United Kingdom. **Veterinary Record.** v.129, p.304-307, 1991.

KEID, L.B.; SOARES, R.M.; VIEIRA, N.R.; MEGID, J.; SALGADO, V.R.; VASCONCELLOS, S.A.; COSTA, M.; GREGORI, F.; RICHTZENHAIN, L.J. Diagnosis of canine brucellosis: comparison between serological and microbiological tests and a PCR based on primers to 16S-23S rDNA interspacer. **Vet. Res. Commun.** v.31 p. 951-965, 2007.

KRIEG, N.R. & HOLT, J.G. **Bergey's manual of systematic bacteriology.** Williams & Wilkins, Baltimore and London, 1984-1989.

LIVINGSTON C.W. & HARDY W.T. Isolation of *Actinobacillus seminis* from ovine epididymitis. **American of Journal Veterinary Research.** v.25, p.660-663, 1964.

OIE (World Organization for Animal Health). Caprine and ovine brucellosis (excluding *Brucella ovis*). **Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.** 6th ed. 2008. Disponível em: <<http://www.oie.int/eng/normes/mmanual>>. Acesso em 30 de março de 2010.

PINHEIRO R.R., GOUVEIA A.M.G., ALVES F.S.F. & HADDAD J.P.A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.52(5), p.534-543, 2000.

PUENTE-REDONDO DA, GARCÍA DEL BLANCO N, PÉREZ-MARTÍNEZ C, GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ MC, RODRÍGUEZ-FERRI EF, GUTIÉRREZ-MARTÍN CB. Isolation of *Actinobacillus seminis* from the Genital Tract of Rams in Spain. **J Comp. Pathol.** v.122, p.217-222, 2000.

ROBLES C.A., URCULLU J.A., UZAL F.A. & MERIO R. Primer diagnostico em Patagonia de orchideoepididimitis em carneros por bacilos pleomorficos Gram negativos. **Vet. Argent.** v.7, p.453-455, 1990.

SCHREINER E., GOMES M.J.P., CARDOSO M.I., FERNANDES J.C.T., HOPE L.P., LAITANO J.L.L. & FERNANDES R.E. Epididimite ovina: **Isolamento de Actinobacillus seminis em Central de Inseminação Artificial no Rio Grande do Sul.** XI Congresso Estadual de Medicina Veterinária, Gramado, RS, p.96. (Resumo) 1992.

SPONENBERG D.P., CARTER M.E., CARTER G.R., CORDES D.O., STEVENS S.E. & VEIT H.P. Suppurative epididymitis in a ram infected with *Actinobacillus seminis*. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v.182, p.990-991, 1983.

WORTHINGTON R.W. & BOSMAN P.P. Isolation of *Actinobacillus seminis* in South Africa. **Journal of South African Veterinary Medical Association.** v.39, p.81-85, 1968.

Legendas das figuras:

Fig. 1. Localização espacial do município de Patos, Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil.

Fig. 2. Caprino Moxotó de quatro anos de idade apresentando sinais clínicos de orquite e epididimite unilateral.

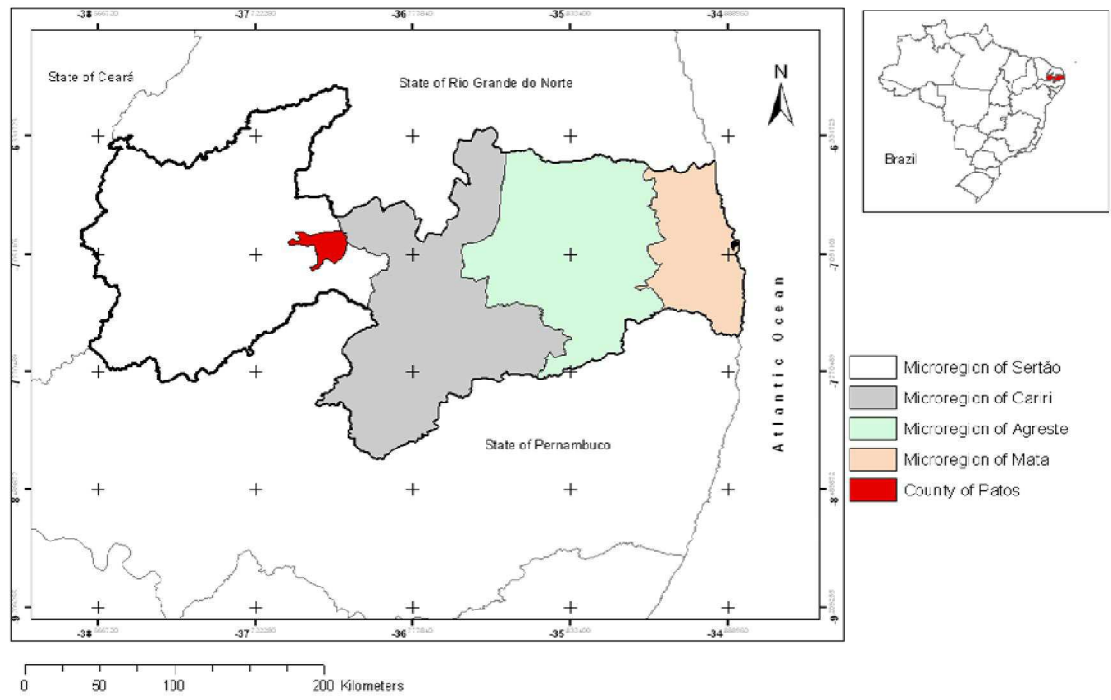


Fig. 1



Fig. 2

CONCLUSÕES

- Constatou-se que 20,39% das propriedades apresentaram pelo menos um ovino soropositivo e que 5,20% dos animais examinados foram soropositivos para *Brucella ovis*, sugerindo que o agente encontra-se disseminado na região e que há a necessidade de estudos acerca do seu isolamento do agente, caracterização da patogenicidade e do impacto econômico nos rebanhos ovinos.
- Baseando-se na análise de fatores de risco, recomenda-se a realização de diagnóstico da infecção por *B. ovis* previamente à aquisição de animais e realização periódica de higienização das instalações.
- Em relação ao isolamento de *A. seminis* em caprino, com posterior resultado positivo no sequenciamento, trata-se do primeiro relato na espécie no Brasil e provavelmente no mundo. A possível participação de ovinos como fonte de infecção de *A. seminis* para caprinos não pode ser descartada, visto que o sistema de manejo proporciona o contato entre as espécies.
- O isolamento de *A. seminis* na espécie caprina se reveste de importância, em função do que representa a atividade da caprinoovicultura no contexto da cadeia produtiva e seus impactos econômicos para a região semiárida do Nordeste do Brasil.

ANEXOS



**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL CAMPUS DE PATOS
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA VETERINÁRIA**

NORMA Nº 01/2011

Altera a NORMA Nº 01/09 de 04 de fevereiro de 2009 e acrescenta novos critérios para a elaboração e defesa da dissertação e tese do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da UFCG.

O Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, no uso de suas atribuições, de conformidade com a legislação em vigor, e nos termos da Resolução Nº 13/02 do CONSEPE e do seu Regulamento.

RESOLVE:

Art. 1º Decide modificar a redação do § 1º do art. 2º da norma 01/2009 e estabelece que o aluno deva apresentar, antes da defesa, o comprovante de submissão dos trabalhos da dissertação e tese às revistas Qualis A1, A2, B1 e B2 da CAPES.

§ 1º - O corpo da dissertação será constituído por capítulos, pelo menos dois, e poderão ser da seguinte forma:

I - uma revisão da literatura e um trabalho já enviado a uma revista científica Qualis citadas no Caput do artigo;

II - dois trabalhos enviados à revista Qualis citadas no Caput do artigo.

§ 2º - O corpo da tese poderá ser constituído por:

I - três trabalhos submetidos a revistas científicas Qualis citadas no Caput do artigo;

II - dois trabalhos submetidos a revistas científicas Qualis citadas no Caput do artigo e uma revisão da literatura.

§ 3º Os demais itens relacionados com a elaboração da dissertação deverão seguir as normas no Anexo.

Art. 2º A qualificação do doutorado deverá ser feita em um prazo de 30 (trinta) meses após o ingresso do doutorando no Programa.

Art. 3º A presente Norma entra em vigor a partir da data de sua publicação.

Patos, 03 de junho de 2011.

Prof. Dr. Franklin Riet Correa
Coordenador do PPGMV

Anexo

NORMAS PARA ELABORAÇÃO DA DISSERTAÇÃO
O corpo da dissertação será constituído por capítulos, pelo menos dois: 1- Revisão da literatura e 2- um trabalho nas normas da revista científica Qualis A ou B da CAPES o qual será enviado, obedecendo ao prazo máximo de 30 dias após a defesa.
Ao invés da revisão de literatura, o aluno poderá apresentar outro artigo científico, na mesma linha de pesquisa. A dissertação constará, dessa forma, de dois artigos científicos, um título que abranja os dois artigos, uma introdução e conclusões relacionadas aos dois artigos.
O trabalho será redigido seguindo as normas da revista para a qual será enviado.
A revisão da literatura, se não tiver sido enviada para outra revista, deve seguir as mesmas normas que o trabalho a ser enviado, deverá ser incluída versão em inglês e português.
Se a dissertação constar de mais de um trabalho original, estes deverão seguir as normas das respectivas revistas para as quais serão enviados.
Em todos os casos, no final da dissertação devem ser incluídas, como anexo, as normas da (s) revista (s) para as quais os trabalhos serão enviados. Para a formação da dissertação, será utilizada a folha A4. O estilo da fonte deve ser Times New Roman, tamanho 12 e espaçamento 1,5 entre as linhas.
Na capa será incluído o nome da instituição, abaixo o título, ao lado direito à descrição da dissertação sem constar à área, abaixo o nome do mestrando e por último o nome da cidade, Estado e data.
A contracapa será constituída da mesma forma da capa, acrescentando-lhe apenas o nome do orientador e no verso, a ficha catalográfica.
No caso do aluno optar pela apresentação deverá ser incluída uma introdução com uma explicação dos dois trabalhos.
No final, após o último capítulo deverão ir as conclusões do (s) trabalho (s).
Tanto na apresentação quanto nos diferentes capítulos e conclusões, nos exemplares para a defesa da dissertação deve ser incluído, à direita da folha, a numeração das linhas, exceto na versão final.
O sumário será antes da introdução.
As Figuras, Tabelas ou Quadros devem ser incluídos dentro dos resultados, em folhas separadas, com não mais de 4 Figuras, Quadros ou Tabelas por folha.
Um volume deverá ser entregue à coordenação 45 dias antes da defesa para ser encaminhado a um revisor para avaliação se o mesmo está apto à defesa.
Cinco exemplares da dissertação devem ser entregues à coordenação, no mínimo 30 dias antes da defesa.
Após a defesa o mestrando deverá entregar na coordenação do programa 5 (cinco) exemplares da dissertação, com pelo menos 2 (duas) em capa dura, no prazo previsto no regimento (30 dias após a defesa).
Na versão final da dissertação não deve constar o anexo da cópia do trabalho em inglês a ser publicado na revista, mas somente a cópia do trabalho em português. No anexo deverá constar uma folha mencionando o site da revista em que o artigo será publicado. Deverá ser entregue na Coordenação em separado uma cópia do artigo escrito em inglês, com as devidas correções da banca, a ser enviado para publicação.
Agradecimentos e dedicatórias serão optativos.

Patos, 03 de junho de 2011.

Prof. Dr. Franklin Riet Correa
Coordenador do PPGMV

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jarjes.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pela correio, com uma via impressa, ao Dr. Jarjes Dobereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-008. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). **Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.**

Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter parâmetros suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. **Trabalhos sobre Anestesiologia e Clínica serão aceitos para submissão somente se da área de Animais Selvagens.**

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review).

NOTE: Em cumprimento aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 120,00 por página editada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos). Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) Os Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riel-Correa Amaral escreve Franklin Riel-Correa ou Riel-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva pode usar Silvana M.M.S. Silva, Inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, Inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e Inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativas para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMINOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se um nome de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte Helvética, corpo 11, entrelinha simples; a página deve ser ao formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Insert" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas menções serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos conjuntamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails de outros autores;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es) devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e ano.)"; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista nas Referências dados adicionais, como a insonação de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Hayes 1974, Lemos et al. 2004, Kramerov-Froetcher et al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta de uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão ".jpg"), os arquivos deverão ser enviados como objetos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor, havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, reordenando, se possível, com "a" em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.



SMALL RUMINANT RESEARCH

Official Journal of the [International Goat Association](#)

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.1
• Impact Factor	p.1
• Abstracting and Indexing	p.1
• Editorial Board	p.1
• Guide for Authors	p.4



ISSN: 0921-4488

DESCRIPTION

Small Ruminant Research publishes original, basic and applied research articles, technical notes, and review articles on research relating to goats, sheep, deer, the New World camelids llama, alpaca, vicuna and guanaco, and the Old World camels.

Topics covered include nutrition, physiology, anatomy, genetics, microbiology, ethology, product technology, socio-economics, management, sustainability and environment, veterinary medicine and husbandry engineering.

AUDIENCE

Research Scientists working on sheep, goats, deer and other small ruminants.

IMPACT FACTOR

2011: 1.295 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2012

ABSTRACTING AND INDEXING

Animal Breeding Abstracts
 Biological Abstracts
 Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences
 Index Veterinarius
 Nutrition Abstracts and Reviews Series B
 Scopus
 Veterinary Bulletin

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief:

J.P.C. Greyling, Bloemfontein, South Africa

Honorary Editors-in-Chief

G.F.W. Haenlein, Newark, NJ, USA

J. Boyazoglu, Thessaloniki, Greece

Reviews and Special Issue Editor

G.C. Pthenakis, Karditsa, Greece

Associate Editors:**Genetics and Breeding**

E.S.E. Galal, Cairo, Egypt

Health and Welfare

H.S.A. Kumar, North Grafton, MA, USA

Lactation and Dairy Technology (products and quality)

N. Silanikove, Bet-Dagan, Israel

Nutrition and Feeding Systems

S.Y. Landau, Bet Dagan, Israel

P. Morand-Fehr, Paris, France

Physiology of Nutrition

A.L. Goetsch, Langston, OK, USA

Products (meat, wool and hair)

B.A. McGregor, Geelong, VIC, Australia

A.L. Goetsch, Langston, OK, USA

Production Systems

J.N.B. Shrestha, Sherbrooke, QC, Canada

Reproductive Physiology

G.R. Newton, Prairie View, TX, USA

Editorial Advisory Board

B.A. Blacklaws, Melbourne, VIC, Australia

J.M. Burke, Booneville, AR, USA

G. Campanile, Naples, Italy

J. Capote, Tenerife, Canary Islands, Spain

R.A. Cardellino, Punta del Este, Uruguay

I. Cervantes, Madrid, Spain

C. Devendra, Kuala Lumpur, Malaysia

A. Donohue-Rolfe, North Grafton, MA, USA

L. Ekateriniadou, Thessaloniki, Greece

J.A. Erasmus, Glen, South Africa

M.H. Fahmy, Ottawa, ON, Canada

N.M. Fogarty, Orange, NSW, Australia

S.P. Ford, Laramie, WY, USA

G. Freyer, Dummerstorf, Germany

H. Galina, Colima, Mexico

C. Genchi, Milan, Italy

E.G. Grünwaldt, Mendoza, Argentina

J.P. Gutiérrez, Madrid, Spain

T. Kott, Prague, Czech Republic

K.C. Lesheema, Pretoria, South Africa

C. Li, Edmonton, AB, Canada

C. Ligda, Thessaloniki, Greece

P.-G. Marnet, Rennes, France

C. McSweeney, St Lucia, QLD, Australia

G. Moatsou, Athens, Greece

H.H. Montaldo, Mexico, D.F., Mexico

J.P. Muir, Stephenville, TX, USA

J. Mukherjee, North Grafton, MA, USA

C. Papachristoforu, Lemesos, Cyprus

T. Papachristou, Thessaloniki, Greece

Y.W. Park, Fort Valley, GA, USA

W.E. Pomroy, Palmerston North, New Zealand

D.P. Rasali, Regina, SK, Canada
A. Rodolakis, Nouzilly, France
A.A.K. Salama, Barcelona, Spain
E.G. Solaiman, Tuskegee, AL, USA
K-H. Südekum, Bonn, Germany
F. Torres-Acosta, Mérida, Yucatán, Mexico
A.-J. Trujillo, Barcelona, Spain
H.M.J. Udo, Wageningen, The Netherlands
E.C. Webb, Pretoria, South Africa
S. Yuan, Shanghai, PR China
M. Zarkawi, Damascus, Syria

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Types of article

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communication
4. Position Papers
5. Technical Notes
6. Letters to the Editor
7. Book Reviews

Original Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review Articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. Reviews will often be invited, but submitted reviews will also be considered for publication. All reviews will be subject to the same peer review process as applies for original papers.

A *Short Communication* is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications may be submitted to the journal as such, or may result from a request to condense a regular paper, during the peer review process. They should not occupy more than 8 journal pages including figures, tables and references.

Position Papers are informative and thought-provoking articles on key issues, often dealing with matters of public concern. These will usually be invited, but a submitted paper may also be considered for publication. They should not occupy more than 10 Journal pages.

A *Technical Note* is a report on a new method, technique or procedure falling within the scope of *Small Ruminant Research*. It may involve a new algorithm, computer program (e.g. for statistical analysis or for simulation), or testing method for example. The Technical Note should be used for information that cannot adequately be incorporated into an Original Research Article, but that is of sufficient value to be brought to the attention of the readers of *Small Ruminant Research*. The note should describe the nature of the new method, technique or procedure and clarify how it differs from those currently in use if cannot be incorporated. They should not occupy more than 4 Journal pages.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal, within 4 months preceding the most current issue, are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editor-in-Chief. The Editor-in-Chief also reserves the right to edit or shorten submitted letters that are accepted for publication. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers. Please follow the information below to submit your letter.

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old. Book reviews will be solicited. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Editor-in-Chief.

Papers on polymorphism studies will only be accepted if they contain significant new information for the readers and have direct relevance to those small ruminant species described in the aims and scope of this journal. Submissions on studies involving single-nucleotide polymorphism (SNP) only, without linking them strongly and experimentally to production traits, are not encouraged.

Contact details for submission

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can determine the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Page charges

This journal has no page charges.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

Policy and ethics

The work described in your article must have been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (*Declaration of Helsinki*) for experiments involving humans <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; EU Directive 2010/63/EU for animal experiments http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals <http://www.icmje.org>. This must be stated at an appropriate point in the article.

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Small Ruminant Research*.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Language and language services

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://webshop.elsevier.com/languageservices> or our customer support site at <http://support.elsevier.com> for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/rumrv/>

PREPARATION

Article structure

Manuscripts should have numbered lines, with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

Manuscripts in general should be organized in the following order:

- Abstract
- Keywords (indexing terms), normally 3-6 items
- Introduction
- Material studied, area descriptions, methods, techniques
- Results
- Discussion
- Conclusion
- Acknowledgment and any additional information concerning research grants, etc.
- References

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents: <http://www.chem.qmw.ac.uk/submb/> for further information.

Authors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.

All botanica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.

Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$.

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca^{2+} , not as Ca^{++} .

Isotope numbers should precede the symbols, e.g. ^{18}O .

The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P_2O_5).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numerals. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.

- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'.

Please do not:

- Supply files that are optimised for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51-59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281-304.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)

- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately – please let us have all your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs (<http://www.elsevier.com/authorFAQ>) and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.