



PIBIC/CNPq/UFCG-2009

INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLÓGICO, ISOLAMENTO E FATORES DE RISCO ASSOCIADO À INFECÇÃO POR BRUCELLA OVIS EM OVINOS DESLANADOS DO SEMI-ÁRIDO DA PARAÍBA.

Fabrine A. dos Santos¹, Clebert J. Alves², Sergio S. Azevedo², Jefferson F. Alcindo¹

RESUMO

Foi realizado um levantamento soro-epidemiológico da brucelose por *Brucella ovis* em matrizes ovinas na Paraíba com os objetivos de verificar a prevalência e distribuição da infecção. Foram investigadas 91 propriedades criadoras de ovinos, das quais foram colhidas 1001 amostras de soro sanguíneo de ovelhas em idade de reprodução no semi-árido Paraibano. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Brucella ovis*, foi utilizado a técnica de imunodifusão em gel de Agar (IDGA). De acordo com as análises, 9,89% das propriedades apresentaram evidência sorológica de infecção por *B. ovis*, com uma prevalência de 1,39% de ovelhas sororreagentes.

Palavras-chave: Brucelose, *Brucella ovis*, ovelhas, prevalência.

SEROEPIDEMIOLOGICAL SURVEY AND RISK FACTORS FOR BRUCELLA OVIS INFECTION IN OVINE OF THE SEMIARID REGION OF PARAÍBA NORTHEASTM BRAZIL

ABSTRACT

A seroepidemiological survey of brucellosis due to *Brucella ovis* was carried out in ewes from Paraíba State with the aims of evaluating the prevalence and distribution of the infection. Ninety-one sheep herds were investigated, of which 1,001 blood samples from ewes were collected in semi-arid of Paraíba State. For the serological diagnosis of the *Brucella ovis* infection, the agar gel immunodiffusion test was used. According to the analysis, 9.84% of the herds showed serological evidence of infection by *B. ovis*, with a prevalence of 1.39% of seropositive ewes.

Keywords: Brucellosis, *Brucella ovis*, ewes, prevalence

¹ Aluno de Curso de Medicina Veterinária, Depto. de Medicina Veterin, UFCG, Campina Grande, PB, E-mail: fabrinevet@yahoo.com.br

² Médico Veterinário, Prof. Doutor, Depto. de Medicina Veterinária, UFCG, Campina Grande, PB, E-mail: clebertja@uol.com.br

INTRODUÇÃO

O rebanho ovino brasileiro é de mais de 14 milhões de cabeças, das quais, 48,14% (6.617.980) estão na região Nordeste. Efetivo de ovinos nordestinos, 6,53% (438.430) são encontrados na Paraíba (IBGE, 1998). Grande parte das criações nordestinas de ovinos é apenas de subsistência, considerando-se numa atividade de fundamental importância social e econômica, onde a produção de ovinos representa uma alternativa alimentar e de renda para os pequenos produtores rurais, contribuindo de forma significativa para a fixação do homem no campo (LEITE, 2003).

As raças deslançadas como Santa Inês, Morada Nova e Somalis são as mais representativas no nordeste do país, devido a sua adaptação à região e seu desempenho produtivo satisfatório (BARROS et al., 2003). Deve-se ressaltar a existência de produtores, na Paraíba, que trabalham com seleção de animais da raça Santa Inês de alto padrão genético e valor econômico, chegando a serem vendidos reprodutores da região por mais de 180 mil reais (O BERRO, 2003).

A mortalidade perinatal de cordeiros é um dos fatores que limitam a eficiência biológica e econômica dos sistemas de produção ovina em todo o mundo, sendo suas causas inúmeras e variáveis de rebanho para rebanho (RADOSTITIS et al., 2002). Dentre os fatores responsáveis pela baixa produtividade no rebanho caprino e ovino, uma parcela de 10% tem sido atribuída ao abortamento, cujas principais causas são de origem sanitária e nutricional (SILVA et al., 1983). Na Paraíba, Clementino (2004 – comunicação pessoal) relatou que em média 39% dos criadores de ovinos relataram a ocorrência de abortamento, natimortalidade e mortalidade de cordeiros na primeira semana pós-parto.

Apesar de não existirem, até o momento, estudos sobre as causas de abortamento e mortalidade perinatal em ovinos nos estados nordestinos, a brucelose ovina por *Brucella ovis* deve ser considerada uma das possíveis causas destes acontecimentos, uma vez que esta doença já foi relatada no Rio Grande do Norte (AZEVEDO et al., 1999; SILVA et al., 2003), Pernambuco (COLETO et al., 2003) e até na Paraíba (MEDEIROS, 2003; CLEMENTINO, 2005).

A brucelose ovina é uma doença infecciosa crônica dos ovinos causada pela *Brucella ovis* e caracterizada por vários graus de epididimite e orquite em carneiros; placentite e aborto em ovelhas e elevada mortalidade de cordeiros (NILO et al., 1986; HOMSE et al., 1995; BAIGÚN et al., 2000), tendo sido escrita em praticamente todos os países onde se explora a ovinocultura, sendo considerada uma das principais causas de perdas reprodutivas desta espécie animal, advindas da redução da fertilidade dos rebanhos (PINOCHET et al., 1987; HOMSE et al., 1995).

O gênero *Brucella* é composto por coco-bacilos, gram-negativos, aeróbios, não capsulados, imóveis e não formadores de esporos. Apesar de serem aeróbios, algumas espécies exigem uma atmosfera com 5 a 10% de CO₂, bem com meios especiais de crescimento. Apresentam 0,5-0,7 µm de diâmetro e 0,6-1,5 µm de comprimento. Seis espécies são bem definidas: *Brucella abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. neotomae*, *B. ovis* e *B. suis*, sendo divididas em biótipos (*B. melitensis* – 3 biótipos; *B. abortus* – 9 biótipos; *B. suis* – 4 biótipos) – (ALTON et al., 1988; OIE, 2004).

A *Brucella ovis* infecta de forma natural exclusivamente à espécie ovina (HOMSE et al., 1995), sendo o macho mais susceptível que a fêmea (TAMAYO et al., 1989), existindo ainda maior diferença de suscetibilidade entre raças importadas e nativas (FICAPAL et al., 1998). O sêmen constitui a mais importante via de eliminação deste agente (BURGESS et al., 1982; WORTHINGTON et al., 1985; PLANT et al., 1986; BULGIN, 1990b; PAOLICCHI et al., 1993), sendo que sua eliminação ocorre de forma intermitente (WORTHINGTON et al., 1985; PAOLICCHI et al., 1993) e por períodos prolongados, chegando a 80 semanas pós infecção (PAOLICCHI et al., 1993), sendo isolado, inclusive, do sêmen de carneiros soronegativos (BULGIN, 1990a).

Os ovinos são susceptíveis à *B. ovis*, que causa aborto no terceiro ou quarto mês de gestação (LYRA, 1984), artrites e epididimites, sendo esta última uma das principais causas de infertilidade em carneiros (KATOCH et al., 1996; MARINHO e MATHIAS, 1996; PINOCHET et al., 1987; SCHAFER et al., 1997), não sendo, no entanto, patogênica para o homem (COELHO et al., 1995).

As lesões produzidas pela *B. ovis* ocorrem no aparelho reprodutor como epidídimo aumentado de volume e endurecido, as túnicas escrotais engrossadas e os testículos geralmente atrofiados (SCHAFER et al., 1997). Em ovinos, a contaminação de pastos e instalações pode ser responsável pela infecção. A bactéria penetra nos animais susceptíveis através das mucosas digestiva, peniana, retal, vaginal, a conjuntiva e a pele lesada (OIE, 2004; LYRA, 1984), podendo permanecer nelas por um mês, devido a propriedade de resistir à destruição intrafagocitária, multiplicando-se lentamente. Após multiplicação nos gânglios regionais, as brucelas invadem os vasos linfáticos regionais e daí o ducto torácico e a corrente sanguínea. Disseminadas dessa maneira elas, eventualmente, vão se localizar em diferentes órgãos tais como úbere, útero, baço, fígado e órgãos genitais do macho. Nas fêmeas localizam-se particularmente no útero prenhe, causando aborto (REDWOOD e CORBEL, 1983).

O diagnóstico da infecção por *B. ovis* tem sido feito, predominantemente, através de testes sorológicos, sendo que alguns autores recomendam que o histórico do rebanho e o quadro clínico também sejam levados em consideração ao se interpretar o resultado dos testes sorológicos (MARINHO e MATHIAS, 1996).

Dentre as várias provas utilizadas no diagnóstico de brucelose ovina, destacam-se a fixação de complemento, o teste de imunodifusão em ágar gel e o teste de ELISA indireto (HILBINK et al., 1993; KUMAR et al., 1997; WEST et al., 1993). Alguns trabalhos realizados indicam uma maior capacidade de detecção do teste de ELISA indireto em relação às provas de fixação de complemento e imunodifusão em ágar gel (WORTHINGTON et al., 1984; WORTHINGTON et al., 1985; KUMAR et al., 1997), no entanto, a reação de fixação de complemento é a que apresenta resultados mais regulares e mais constantes (BURGESS; NORRIS, 1982; MARINHO e MATHIAS, 1996).

Em nosso meio, a técnica mais frequentemente utilizada é a imunodifusão em ágar gel (MYES et al., 1972). Este teste apresenta sensibilidade e especificidade aceitáveis, sendo de fácil execução e interpretação, diferentemente das técnicas de ELISA indireto e fixação de complemento, que são extremamente laboriosas e exigem a disponibilidade constante de reagentes altamente lábeis (MARINHO e MATHIAS, 1996).

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, as sensibilidades de 96,3; 97,2 e 91,7% e as especificidades de 99,3; 98,6 e 100%, respectivamente.

Na maioria das vezes, para se confirmar um surto por *B. ovis*, é necessário isolar o agente para esclarecer a causa. Previamente ao isolamento, deve-se proceder à observação direta do agente, que pode ser feita através da técnica de Ziehl-Neelsen modificada (WEST et al., 1993). A bactéria pode ser isolada de sêmen, de secreções vaginais de ovelhas que abortaram, de placenta ou de fetos abortados. Neste último caso, o material de eleição para o isolamento é o conteúdo do abomaso. As brucelas são bactérias exigentes, embora não apresentem dificuldades para seu isolamento e cultivo. A *B. ovis* exige CO₂ para crescimento; assim, deve-se proceder ao isolamento em atmosfera contendo 10% de CO₂ (MOLNAR et al., 1997; WEST et al., 1993; PAOLICCHI e LUQUEZ, 1993; WORTHINGTON et al. 1985). O agente cresce bem em ágar-sangue e em outros meios enriquecidos, mas frequentemente é necessário usar meios seletivos, por exemplo, contendo antibióticos (polimixina, bacitracina). Pode-se recorrer também à inoculação experimental em cobaia, eventualmente coelho e camundongo (MOLNAR et al., 1997).

A epididimite dos carneiros produzida por *B. ovis* tem sido descrita praticamente em todos os países onde se explora esta espécie animal (PINOCHET et al., 1987).

Recentemente, na província de Buenos Aires, Argentina, foi identificada uma elevada percentagem de carneiros excretando *B. ovis* pelo sêmen, com evidências sorológicas e em muitos casos sem sinais clínicos genitais (PAOLICCHI e LUQUEZ, 1993).

Kumar et al. (1997), investigou 225 ovinos na região de Punjab na Índia, constatou uma prevalência de 7,26 e 18,33% através dos testes de fixação de complemento e ELISA indireto, respectivamente.

No Brasil a doença foi descrita pela primeira vez em 1996 no Rio Grande do Sul (RAMOS et al., 1966), 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 e GIL-TURNES, 1996; AZEVEDO et al., 1999; COLETO et al., 2003; MEDEIROS, 2003; SILVA et al., 2003; NOZAKI et al., 2004; CLEMENTINO, 2005). Além disso, não existem, no país, relatos comprovando o isolamento da *Brucella ovis*.

Tendo em vista que a infecção por *B. ovis* já foi identificada por vários testes sorológicos em diversos estados brasileiros e que, a infecção por esta bactéria faz parte do Programa Nacional de Sanidade Caprina e Ovina (PNSCO) do Ministério da Agricultura 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 objetivos:

Objetivo Geral

Realizar um levantamento soro-epidemiológico da infecção por *B. ovis* em matrizes ovinas com ou sem história de abortamento no estado da Paraíba, uma vez que já há relatos sorológicos da sua presença no estado em reprodutores ovinos (CLEMENTINO, 2005)

Objetivos específicos

Determinar a ocorrência e freqüência das causas infecciosas de aborto

Estudar o potencial abortivo da *Brucella ovis* em ovinos deslanados.

Determinar ocorrência e freqüência das perdas neonatais

Avaliar o impacto econômico causado pela enfermidade

MATERIAL E MÉTODOS

1. Discriminação e caracterização da área de estudo.

O Estado da Paraíba é dividido geograficamente em quatro mesorregiões (Sertão Paraibano, Borborema, Agreste Paraibano e Mata Paraibana) e 23 microrregiões. As mesorregião do Sertão Paraibano têm como principal atividade a pecuária extensiva, assumindo destaque a criação de ovinos com 7.087 propriedades criadoras num total de 159.149 cabeças.

2. Amostragem.

Para definir o número de propriedades a serem amostradas, utilizou-se o programa Epiinfo versão 6.04, tomando-se os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada de 50% (valor adotado para maximizar a amostra); (b) nível de confiança de 95% e (c) erro absoluto de 10% (Thrusfield 1995). Para a mesorregião do Sertão Paraibano, com 7.087 propriedades, a amostragem calculada foi de 95 propriedades.

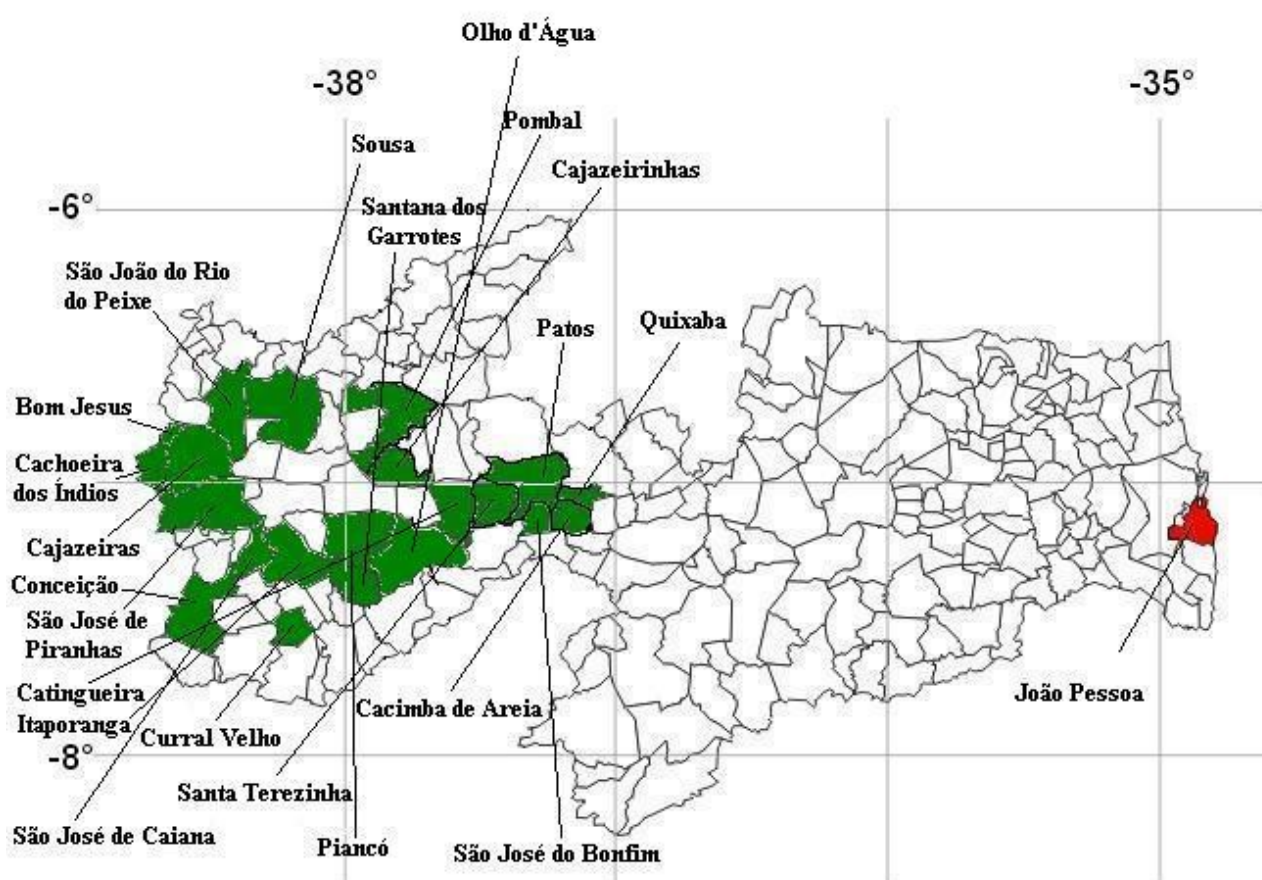


Figura 1: Mapa das regiões visitadas para colheita do material para exame pela técnica de IDGA no diagnóstico de *Brucella ovis*. Patos 2008.

3. Procedimentos de campo.

Nas propriedades selecionadas foram feitas colheitas de sangue de fêmeas em idade de reprodução com ou sem história de problemas de reprodução. O sangue foi colhido por venopunção da jugular utilizando-se tubos de preção a vácuo com gel separador. Após a colheita, os tubos foram devidamente identificados, colocados em caixas de isopor com gelo e enviados para o Laboratório de Doenças Transmissíveis/CSTR/UFCG, onde foi feito dessoramento e o armazenamento a -10°C até o momento do processamento.

4. Testes sorológicos.

Nas 91 propriedades foi realizada a prova do antígeno tamponado acidificado (ATA) com base na metodologia de MAC MILLAN (1990) para *B. abortus*.

A imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi utilizada como prova de triagem e realizada no Laboratório de Doenças Transmissíveis/CSTR/UFSC. 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*, com a amostra Reo 198 (Figura 2).



Figura 2: Kit para realização de IDGA para *B. ovis*. Patos 2008.

5. Isolamento e identificação da *Brucella ovis*.

No isolamento das amostras foram coletados de forma asséptica swab vaginal das ovelhas com histórico de abortamento ou corrimento no período do puerpério em 09 propriedades. Posteriormente semeou-se cada amostra no meio BHI e após 2 dias distribuídas no meio Ágar *Brucella* com sangue de ovino enriquecido com os antibióticos polimixina e bacitracina nas em câmara de microaerofilia, a qual propicia uma atmosfera de aproximadamente 10% de CO₂, por um período de 5 dias. Todas as placas foram incubadas a 37°C.

As placas foram observadas diariamente para verificação de crescimento bacteriano, as quais passaram por triagem através da confecção de esfregaços e a coloração através das técnicas de Gram e Zil Nilsen.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos no presente trabalho, 9,89% (9/91) das propriedades investigadas, foi possível identificar nove propriedades com pelo menos uma ovelha soropositivo para *Brucella ovis* pelo teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA). Quando se analisa outros trabalhos realizados no Brasil, verificam-se situações diferenciadas, onde pode se destaca a pesquisa de Schafer et al. (1997), que analisando 20 propriedades não encontraram animais soropositivos, a técnica usada foi IDGA. Da mesma forma Marinho & Matias (1996), examinado 850 amostras não encontraram animais positivos. Entretanto, AZEVEDO et al. (2004), observaram uma prevalência de 11,3% para a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Recentemente, CLEMENTINO et al. (2005), encontraram 8,59% de propriedades positivas de 283 utilizadas em um levantamento soro-epidemiológico da brucelose por *Brucella ovis* em reprodutores ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba.

Em relação à prevalência da infecção se constatou que das 1001 amostras de soro submetidos ao teste de IDGA para detecção de anticorpos contra *B. ovis* foi encontrado 14 animais reagentes que representa um valor de 1,39%. Os dados observados neste inquérito sorológico permitiram concluir que a infecção por *B. ovis* se faz presente nos rebanhos comerciais de ovinos do estado da Paraíba, particularmente na mesoregião do sertão paraibano, inserida no semi-árido nordestino.

A evidência de nove propriedades positivas localizada em diferentes municípios do estado da Paraíba com 14 animais reagindo positivamente ao teste de IDGA, demonstra a importância epidemiologia desta enfermidade, considerando as causas de perdas reprodutivas desta espécie animal advindas da redução da fertilidade dos rebanhos, com elevada mortalidade de cordeiros. Outro aspecto importante que deve ser considerado neste estudo diz respeito à comprovação de que existe diferença de suscetibilidade entre raças importadas e nativas levantadas por FICAPAL et al., (1998).

Os resultados obtidos a partir das amostras de soro de ovinos submetidas à Prova de Triagem usando o Antígeno Acidificado Tamponado, apresentou 100% de negatividade para *Brucella abortus*.

A tabela 1 apresenta todas as amostras colhidas, bem como os municípios e quantidade de propriedades, das 95 propriedades estatisticamente planejadas, se observa que 91 propriedades foram visitadas e um total de 1001 amostras colhidas.

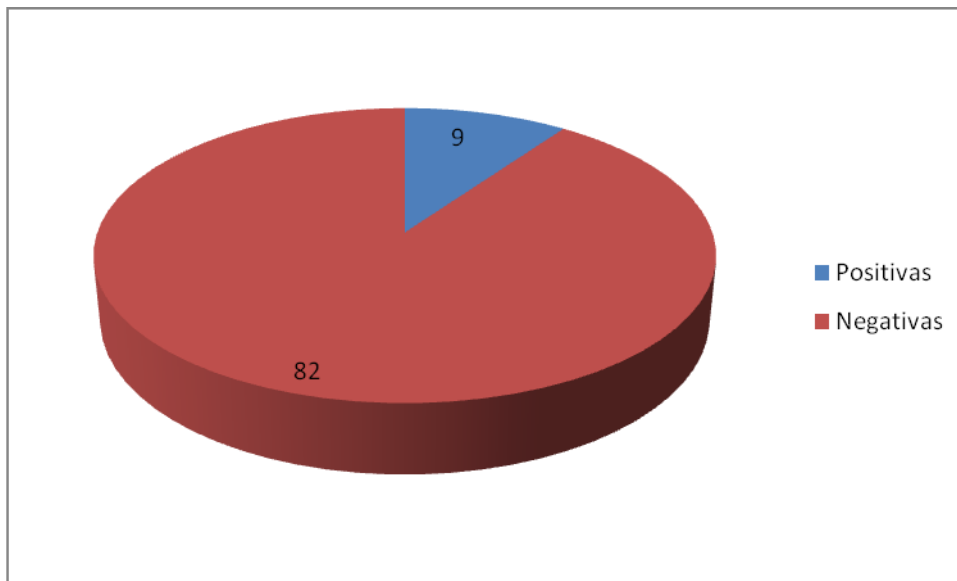


Gráfico 1: Resultado das propriedades examinadas pela técnica de IDGA no diagnóstico de *B. ovis*. Patos 2008.

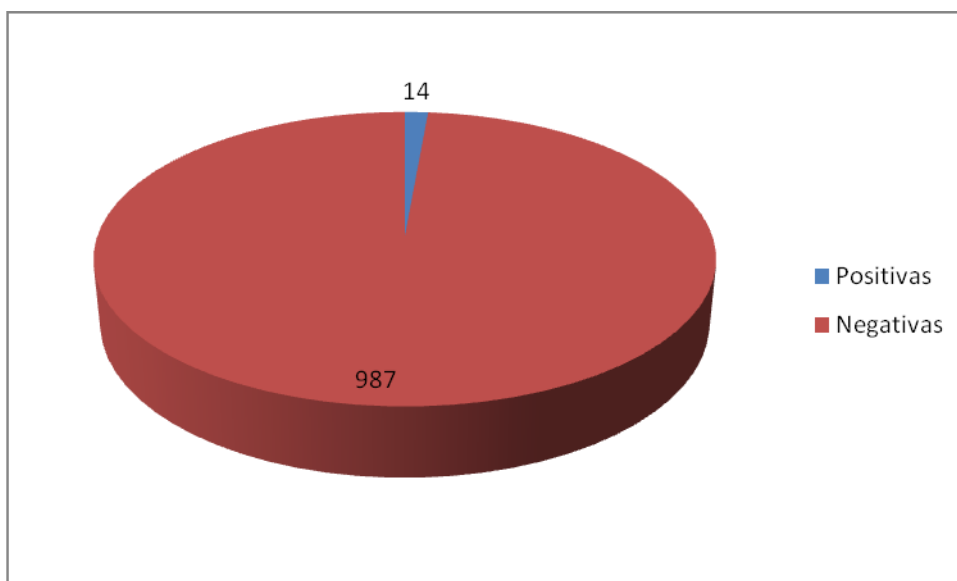


Gráfico 2: Resultado dos animais examinados pela técnica de IDGA no diagnóstico de *B. ovis*. Patos 2008.

As lâminas coradas com Gram e Zil Nilsen não apresentaram nenhuma semelhança com as colônias do gênero *Brucella*.

Tabela 1 Distribuição dos municípios, quantidade de propriedade e quantidade de amostras colhidas e analisadas pela técnica da IDGA, na mesorregião do Sertão. Patos, 2008.

CIDADE DAS COLETAS	Nº DE PROPRIEDADES	QUAN. DE AMOSTRAS	RESULTADO DA IDGA
Bom Jesus	01	11	Negativo
Cachoeira dos Índios	05	55	Negativo
Cacimba de Areia	01	11	Negativo
Cajazeiras	08	88	Negativo
Cajazeirinhas	01	11	Negativo
Catingueira	02	22	
Conceição	02	22	
Curral Velho	05	55	Positivo/1 propriedade
Itaporanga	02	22	Negativo
Olho d'Água	02	22	
Patos	08	88	Positivo/1 propriedade
Piancó	02	22	Positivo/2 propriedades
Pombal	06	66	Negativo
Quixaba	04	44	Positivo/1 propriedade
Santa Terezinha	09	99	Negativo
Santana dos Garrotes	02	22	Negativo
São João do Rio do Peixe	10	110	Positivo/1 propriedade
São José de Caiana	02	22	
São José de Piranhas	02	22	Negativo
São José do Bonfim	09	99	Positivo/2 propriedades
Sousa	08	88	Positivo/1 propriedades
TOTAL	91	1001	9

CONCLUSÕES

- 1- A prevalência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos foi de 1,39%.
- 2- Constatou-se que 9,89% das propriedades investigadas deram positivas para o teste de IDGA onde se constatou nove propriedades foco.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTON, G.G., L.M. JONES, R.D. ANGUS, J.M. VERGER. 1988. **Techniques for the brucellosis laboratory**. Paris: INRA, 109p. 1988.
- 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 de Rio Grande do Norte. **Agropecuária Técnica**, v. 25, n.2, 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. **In: IV CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA – ANAIS**, Recife, p. 269-270, 1999.
- BAIGÚN, R.; CONIGLIARO, A. S.; LUNA, F. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitis ovina. **Veterinaria Argentina**, v.17, n.162, p.103-7, 2000.
- BARROS, N.N.; SIMPLICIO, A.A.; CAVALCANTE, A.C.R.; BOMFIM, M.A.D. Influencia da raça Santa Inês sobre as características de carcaça de cordeiros da raça deslanadas. **In: V CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA - ANAIS**, Recife, 2003.
- 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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.7, p.1-4, 1972.
- 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.
- BULGIN, M.S. *Brucella ovis* Epizootic in virgin ram lambs. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.196, n.7, p.1120-2, 1990b.
- BULGIN, M.S. *Brucella ovis* excretion in semen of seronegative, clinically normal breeding rams. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.196, n.2, p.313-5, 1990a.
- BURGESS, G.W.; McDONALD, J.W.; NORRIS M.J. Epidemiological studies no ovine brucellosis in selected ram flocks. **Australian Veterinary Journal**, v.59, p.45-7, 1982.
- BURGESS, G.W.; NORRIS, M.J. Evaluation of the cold complement fixation test for diagnosis of ovine brucellosis. **Australian Veterinary Journal**, v.59, p.23-5, 1982.
- CLEMENTINO, I.J. **Brucelose por *Brucella ovis* em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba. Inquérito soroepidemiológico e fatores de risco associados à infecção**. 2005. 84f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos-Paraíba.
- CLEMENTINO, I.J. Comunicação pessoal. 2004.
- COELHO, L.M., MARTINS, L., EVANGELISTA, F. H. Prevalência de brucelose nos trabalhadores de matadouro em São Luís, estado do Maranhão. **R. Bras. Med. Vet.**, 17(2): 85-88, 1995.
- COLETO, Z.F.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOTA, R.A. et al. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n.3, p.551-3, 2003.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H-D.; STÖBER, M. **Rosenberger: exame clínico dos bovinos**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 419p. 1993.

- FICAPAL, A., JORDANA, J., BLASCO, J. M., MORIYÓN, I. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Ruminant. Research.**, v.29, p.13-19, 1998.
- GRILLÓ, M.J.; MARÍN, C.M.; BARBERÁN, M.; BLASCO, J.M. Experimental *Brucella ovis* infection in pregnant ewes. **Veterinary Record**, 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*. **New Zeland Veterinary Journal**, v.41, p.111-115, 1993.
- HOMSE, A.C.; CASARO, A.P.; CAMPERO, C.M. Infertilidad em ovelhas por *B. ovis*. **Veterinaria Argentina**, v.12, n.114, p.243-249, 1995.
- IBGE. Censo Agropecuário 1995-1996. Rio de Janeiro: Ministério do Planejamento e Orçamento, n.11-Paraíba, p.1-231, 1998.
- KATOCH, R.C.; JOSHI, V.B.; SHARMA, M.; BATTI, M.K.; NAGAL, K.B. Seroprevalence of *Brucella ovis*, *Brucella melitensis*, *chlamydia psittaci* in rams. **Indian Journal of Animal Sciences**. v.66, n.11, p.1130-1131, 1996.
- KUMAR, P.; SINGH, D.K.; BARBEDDHE, S.B. Serological evidence of brucellosis in sheep and goats. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.67, n.180-182, 1997.
- LEITE, E. R. **Plataforma Regional - Ovinocaprinocultura**, Sobral (CE), 11 de junho de 2003.
- LYRA, T.M.P. Epidemiologia da brucelose. **Comun. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. Univer. S. Paulo**, v.8, n.2, p.177-186, 1984.
- MAC MILLAN, A. Conventional serological test. In: Nielsen, K.; Duncan, R. *Animal brucellosis*. Boca Raton: CRC, 1990. cap.8, p.153-198.
- MAGALHÃES NETO, A., GIL-TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.75-79, 1996.
- MARINHO, M.; MATHIAS, L.A. Pesquisa de anticorpos contra *Brucella ovis* em ovinos do estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.2/3, p.45-48, 1996.
- MEDEIROS, K.A. **Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella ovis* em reprodutores ovinos deslançados do semi-árido nordestino nos municípios de Patos e São Mamede-PB**. 2003. 17f. Monografia (Especialização em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.
- MOLNAR, L.; MOLNAR, E.; TURY, E.; SOUSA, J.S. Concepções modernas para o diagnóstico da brucelose. **Revista brasileira de medicina veterinária.**, v.19, n.4, p. 157-162, 1997.
- MYERS, D.M.; JONES, L.M.; VARELA-DIAZ, V.M. Studies of antigens for complement fixation and gel diffusion tests in the diagnosis of infections caused by *Brucella ovis* and other *Brucella*. **Appl. Microbiol.**, v.23, p.894-02, 1972.
- NILO, L.; MacDONALD, D.W.; GODKIN, G.F.; STONE, M.W. Ovine brucellosis in Alberta. **Canadian Veterinary Journal**, 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.1, p.1-5, 2004.
- O BERRO. Edição 59, outubro de 2003.
- OIE (Office International de Epizootias). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, cap. 2.4.1 (OVINE EPIDIDYMITIS - *Brucella ovis*), disponível: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00068.htm. Acesso em 12 de dezembro de 2004.
- PAOLICCHI, F.A.; LUQUEZ, J.E. Efecto de oxitetraciclina de larga acción en el tratamiento de la infección com *Brucella ovis* en carneros. **Avances en Ciencias Veterinarias**, v.8, n.1, p.33-37, 1993.
- PINOCHET, V.L.; PINTO, D'A. A.; SÁNCHEZ, M.L.; BERTOLINO, R.M. Brucelosis ovina. Vacunacion com cepa 45/20 adyuvante. **Avances em Ciencias Veterinarias.**, v.2, n.1, p.47-50, 1987.
- PLANT, J.W.; EAMENS, G.J.; SEAMAN, J.T. Serological, bacteriological and pathological changes in rams following different routes of exposure to *Brucella ovis*. **Australian Veterinary Journal**, v.63, n.12, p.409-412, 1986.

- RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1737p. 2002.
- 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.
- REDWOOD, D.W.; CORBEL, M.J.; Interaction of *Brucella ovis* with ovine tissue extracts. **The Veterinary Record.**, v.113, p.220, 1983.
- 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. **A Hora Veterinária**, v. 17, n. 99, p. 60-61, 1997.
- 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. **Ciência Animal**, v.13, n.1, p. 51-4, 2003.
- SILVA, M.V.D.; SILVA, E.D.F. Possíveis causas de aborto em caprinos. **Comunicado Técnico**_ EMBRAPA - Centro de Pesquisa de Caprinos. 12: 1-9, 1983.
- TAMAYO, R., VALENTIN, H., SCHOEBITZ, R. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. **Archivos Medicina Veterinaria**, v.21, n.1, p.22-28, 1989
- 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. **New Zealand Veterinary Journal.**, v.41, p.82-86, 1993.
- WORTHINGTON, R.W., STEVENSON, B.J., LISLE, G.W. Serology and semen culture for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in chronically infected rams. **New Zealand Veterinary Journal.**, v.33, p.84-86, 1985.
- WORTHINGTON, R.W.; WEDDELL, W.; PENROSE, M.E. A comparison of three serological tests for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **New Zealand Veterinary Journal.**, v.32, p.58-60, 1984.