

Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia

Detection of antibodies anti-“Brucella ovis” in Bahia

SILVA, Nairléia dos Santos^{1*}; BARROS, Iracema Nunes de¹; DASSO, Maurício Gautério²; ALMEIDA, Maria das Graças Ávila Ribeiro¹; LABORDA, Sônia da Silva¹; ANUNCIACÃO, Antonio Vicente Magnavita¹; MOREIRA, Eduardo Luiz Trindade³; LIMA-SILVA, Alessandra Estrela³; OLIVEIRA, Eugenia Márcia de Deus^{1 †}

¹Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Salvador, Bahia, Brasil.

²Instituto de Pesquisas Veterinária Desidério Finamor, Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

³Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Salvador, BA, Brasil.

*Endereço para correspondência: leiavet@gmail.com

RESUMO

A brucelose ovina é uma doença de caráter contagioso, causada por *Brucella ovis*, caracterizada por um quadro clínico de epididimite, abortamento e mortalidade neonatal de cordeiros, levando à redução da eficiência reprodutiva dos rebanhos e provocando grandes perdas econômicas. Considerando-se a importância da brucelose na cadeia produtiva da ovinocultura e a ausência de dados epidemiológicos sobre a *B. ovis* no estado da Bahia, objetivou-se, no presente trabalho, realizar teste sorológico para detectar a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos no recôncavo baiano. Foram submetidas 183 amostras de soro ao teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), por meio de antígeno solúvel composto por proteínas e lipopolissacarídeos, a partir da cepa *Reo 198* de *B. ovis* produzidos pelo Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor no Rio Grande do Sul. Dos 183 soros de ovinos investigados pela prova de IDGA para pesquisa de anticorpos anti-*Brucella ovis*, seis (3,27%) apresentaram evidência sorológica da infecção por *B. ovis*, não havendo diferença significativa entre a idade e sexo dos animais com a proporção dos reativos. Os resultados obtidos no teste de IDGA sugerem que a infecção por *B. ovis* faz-se presente nos rebanhos comerciais de ovinos do estado da Bahia, sendo necessários estudos mais amplos na população ovina, adoção de medidas sanitárias de prevenção e controle para evitar a propagação da doença.

Palavras-chave: brucelose ovina, epididimite, ovinocultura

SUMMARY

Ovine brucellosis is a contagious disease caused by *Brucella ovis*, characterized by epididymitis, abortion and lambs neonatal mortality, leading to reduction in reproductive efficiency of livestock and causing great economic damage. Considering the lack of seroepidemiologic data about *B. ovis* in Bahia and the importance of this disease in the economic sphere of sheep rearing, the design of this test aimed to achieve serum detection to investigate the occurrence of anti-*Brucella ovis* in sheep in the recôncavo baiano. 183 serum samples were submitted to the test of agar gel immunodiffusion (AGID), by means of the soluble antigens composed by proteins and lipopolysaccharides, from *B. ovis*, strain *Reo 198*, produced by the Veterinary Research Institut Desidério Finamor (IPVDF) in Rio Grande do Sul. Six (3.27%) showed serological evidence of infection by *B. ovis* of 183 sera from sheep investigated by the AGID to search for evidence of anti-*Brucella ovis*, with no significant difference between age and sex of animals with the proportion of sheep seropositives. The results obtained by AGID accept that the infection by *B. ovis* it is present in commercial herds of sheep in the state of Bahia, and requiring more extensive studies in sheep population, adoption of sanitary measures of prevention and control to prevent the spread of the disease.

Keywords: brucellosis, epididymitis, sheep rearing

INTRODUÇÃO

Durante décadas o Sul do Brasil concentrou o maior rebanho de ovinos nacional, mas a crise no mercado de lã, expandiu a ovinocultura de corte. Nesse contexto, o Nordeste ocupou o primeiro lugar brasileiro, com 7.752.139 animais, e o estado da Bahia, com 3.165.757 cabeças, representou o maior rebanho nordestino (IBGE, 2006).

No cenário crescente da ovinocultura brasileira, a brucelose ovina pode dificultar o aumento do rebanho comercial (MINAS, 2006). Essa enfermidade caracteriza-se por epididimite, abortamento e mortalidade perinatal de cordeiros, baixa eficiência reprodutiva e elevadas perdas econômicas à ovinocultura (MAGALHÃES NETO & GIL-TURNES, 1996; OCHOLI et al., 2005; BRUO, 2009).

A *Brucella ovis* tem sido relatada como principal causa de problemas reprodutivos em ovinos em países da América Latina e do Norte, Europa, Oceania e outros países com importante produção ovina (WHO, 2000). Segundo Afzal & Kimberling (1986), o diagnóstico de epididimite em carneiros por *B. ovis* pode ser obtido por meio da palpação do epidídimo, avaliação do sêmen, teste de aglutinação e hemoaglutinação, imunodifusão em gel de ágar (IDGA), reação de fixação do complemento (RFC), ensaio imunoenzimático indireto (ELISA), teste com anticorpos fluorescentes, teste alérgico e isolamento no sêmen.

A epididimite ovina determinada por exame clínico tem valor limitado para o diagnóstico da infecção, devido à existência de animais assintomáticos (BAIGUN et al., 2000; MIYASHIRO et al., 2003; ARSENOULT et al., 2004). A *B. ovis* pode provocar infecção

subclínica, assim, recomenda-se que, para considerar um animal negativo, além do exame clínico, seja realizado o exame bacteriológico do sêmen e/ ou testes sorológicos, como IDGA, RFC e ELISA, por serem os mais utilizados em vários países (NIELSEN et al., 2008). Para o controle da infecção por *B. ovis*, recomenda-se a eliminação dos machos com diagnóstico bacteriológico e/ou sorológico positivo, e a vacinação como medida mais econômica em países com alta taxa de prevalência (ESTEIN et al., 1999).

Considerando-se a importância da brucelose na cadeia produtiva da ovinocultura e a ausência de dados epidemiológicos sobre a *B. ovis* no estado da Bahia, foi conduzido com o objetivo de detectar anticorpos anti-*B. ovis* em ovinos no recôncavo baiano, por meio do teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), para a adoção de medidas adequadas na prevenção.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinadas 183 amostras de soros de ovinos de diversas raças, sendo 38 machos e 145 fêmeas, com idade entre cinco meses e oito anos, provenientes de oito municípios da região do recôncavo baiano: Santo Amaro, Castro Alves, Jaguaripe, Jequiçá, Muritiba, Governador Mangabeira, Mutuípe e Laje, no período entre Janeiro a Março de 2007. Os municípios contemplados foram escolhidos em função do conhecimento prévio de proprietários que concordaram com a realização da investigação. O número mínimo de animais examinados foi estabelecido de acordo com Thrusfield (1995). Por ocasião das colheitas, foi realizada uma avaliação clínica nos animais para a detecção de

alterações sugestivas de infecção por *B. ovis*.

A colheita de sangue foi realizada através de punção veno-jugular, e foi obtido um volume total de 10mL por animal. Após a retração do coágulo, o soro sanguíneo foi centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos e armazenado a -20°C até a realização das provas sorológicas. Os soros foram colocados em tubos estéreis e identificados com o número das amostras e o nome da propriedade e, em seguida, acondicionados em caixas de isopor com gelo, para serem enviados aos Laboratórios de Bacterioses e de Virose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Medicina Veterinária/UFBA.

Para a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella ovis*, foram testadas 183 amostras por meio da técnica de IDGA, com antígeno solúvel composto por proteínas e lipopolissacarídeos a partir da cepa de referência *Reo 198* de *B. ovis*, produzido pelo Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor (IPVDF), localizado em Eldorado do Sul, no Rio Grande do Sul. Com o objetivo de descartar uma possível infecção por *Brucella abortus*, as amostras foram submetidas ao teste de soroaglutinação rápida em placa com antígeno acidificado tamponado (AAT) (FERREIRA et al., 2003) antes da prova de IDGA, que foi executada de acordo com as recomendações do fabricante (IPVDF) (CAVALCANTI et al., 2006). Para a validação dos testes, foram utilizados soros controles positivos e negativos, provenientes de animais sabidamente infectados e livres da infecção, respectivamente.

As leituras foram realizadas com 24; 48 e 72 horas, por sistema de iluminação com luz indireta e fundo escuro. O resultado considerado foi o da leitura final com 72 horas de incubação das

amostras. A interpretação foi efetuada com a observação da formação de linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno e classificação das amostras em positivas ou negativas. O soro cuja linha de precipitação apresentou identidade com a linha formada pelo soro padrão foi considerado positivo. O negativo foi aquele em que não houve formação de linha de precipitação, ou em que a linha formada não apresentou identidade com a do soro padrão.

A caracterização da significância entre as diferenças observadas nas frequências de animais reativos segundo o sexo e a idade foi determinada através do teste de Qui-Quadrado ou teste exato de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 183 amostras de soro ovino submetidas ao teste de IDGA para detecção de anticorpos contra *B. ovis*, seis (3,27%) apresentaram reação positiva ao teste. Ramos et al. (1966) e Magalhães Neto e Gil-Turnes (1996) no Rio Grande do Sul; Silva et al. (2003) e Azevedo et al. (2004) no Rio Grande do Norte; Nozaki et al. (2004) em São Paulo e Clementino et al. (2007) na Paraíba encontraram: 6,5% em 3317 amostras, 13,4% em 1638 amostras, 34% em 290 amostras, 11,3% em 115 amostras, 12,0% em 1033 amostras e 5,57% em 498 amostras, respectivamente, mostrando que, no Brasil, as infecções causadas por *B. ovis* estão amplamente disseminadas. Marinho & Mathias (1996), no estado de São Paulo, embora tenham detectado animais sororreagentes, no teste imunoenzimático indireto, concluíram que nenhum dos animais estava infectado por *B. ovis*, após a associação

dos resultados com outros testes, como o de reação de fixação de complemento, IDGA e as manifestações sintomáticas desses animais.

Foi observado que, dos 183 ovinos testados pela prova de IDGA para pesquisa de anticorpos anti-*Brucella ovis*, 20,8% (38/183) eram machos e 79,2% (145/183) eram fêmeas. Dos 38 machos, apenas um (2,63%) foi positivo e, das 145 fêmeas, cinco (3,44%) foram positivas (Tabela 1). Analisando-se uma possível associação entre a frequência de animais reativos para *B. ovis* e o sexo, não houve significância estatística ($P =$

0,63). Azevedo et al. (2004), ao analisarem 115 soros de ovinos do Rio Grande do Norte, não observaram significância estatística ($P = 0,14$) entre a positividade e o sexo, o que indica que machos e fêmeas estão igualmente expostos ao risco de infecção. Estein (1999) mencionou que as raças britânicas eram menos resistentes à infecção por *B. ovis*, e que os machos eram mais susceptíveis que as fêmeas. A análise estatística dos dados obtidos na presente pesquisa mostra que machos e fêmeas estão igualmente expostos ao risco de infecção.

Tabela 1. Percentual de ocorrência de ovinos reagentes à *Brucella ovis* na imunodifusão em gel de ágar, segundo o sexo, na região do recôncavo baiano (2007)

Sexo	Imunodifusão em gel de ágar			
	Animais Reagentes	(%)	Total	(%)
Macho	1	2,63	38	20,8
Fêmea	5	3,44	145	79,2
Total	6	3,27	183	100

$P = 0,63$ (teste exato de Fisher)

O exame clínico realizado nos machos não revelou alterações nos epidídimos sugestivas de infecção por *B. ovis*. Azevedo et al. (2004) evidenciou 20,8% de positividade nos carneiros testados, embora não apresentassem lesões testiculares macroscópicas, o que está de acordo com os resultados apresentados pela presente pesquisa. Distintamente, Ramos et al. (1966) diagnosticou 7,3% em 3317 carneiros no Rio Grande do Sul que apresentavam epididimite clínica. Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996), também no Rio Grande do Sul, mencionaram que, dos 160 carneiros reatores positivamente ao teste de IDGA, em uma amostragem total de 1638 machos, 9,8% apresentavam manifestações clínicas. Schafer et al. (1997), em Santa

Catarina, observaram que 18,84% dos animais apresentavam alterações nos órgãos genitais, não obstante, nenhum reagiu positivamente ao teste de IDGA. Isso porque outros patógenos podem ser responsáveis por lesões epididimárias e/ou testiculares em ovinos, como, por exemplo, *Actinobacillus seminis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Haemophilus somnus*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *C. pyogenes*, *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. (MANTEROLA et al., 2003; LOPEZ et al., 2006), limitando assim o uso do exame clínico como único método de diagnóstico para *B. ovis*. Com relação à idade, 45,36% (83/183) dos ovinos tinham menos de três anos e 54,54% (100/183) possuíam idade superior a três anos (Tabela 2).

Tabela 2. Percentual de ocorrência de ovinos reagentes à *Brucella ovis* na imunodifusão em gel de ágar, segundo a idade, na região do recôncavo baiano (2007)

Idade	Imunodifusão em gel de ágar			
	Animais Reagentes	(%)	Total	(%)
<3 anos	1	1,20	83	45,36
>3 anos	5	5	100	54,54
Total	6	6,20	183	100

P= 0,15 (teste exato de Fisher).

Cinco (5%) dos 100 animais com mais de três anos de idade foram positivos, contra apenas um (1,20%) animal positivo entre os 83 ovinos com menos de três anos de idade.

A análise da idade como fator de risco associado à infecção por *B. ovis* não indicou diferença estatística significativa entre a faixa etária investigada (P= 0,15). Dados semelhantes foram apresentados por Azevedo et al. (2004) no Rio Grande do Norte, Clementino et al. (2007) na Paraíba e Pinheiro Junior et al. (2008) em Pernambuco, que detectaram evidência sorológica de brucelose ovina, mas não observaram significância estática relacionada com a idade dos animais. A influência da faixa etária na prevalência da infecção por *B. ovis* foi evidenciada, diferindo assim do presente trabalho por Magalhães Neto e Gil-Turnes (1996) no Rio Grande do Sul, que demonstraram prevalência sorológica quatro vezes maior em animais com mais de três anos de idade. Ficopal et al. (1998), na Espanha, verificaram em sua pesquisa que o número de animais infectados com menos de dois anos e mais de cinco anos (35,0%) era significativamente menor que o de animais na faixa etária dos dois aos cinco anos (60,0%). Segundo Azevedo et al. (2004), tais resultados são explicados pelo fato de

animais sexualmente maduros e ativos serem mais susceptíveis à infecção por *B. ovis*.

Clementino et al. (2007), em sua pesquisa na Paraíba, analisaram os fatores de risco associados à brucelose ovina e observaram que a soropositividade para *B. ovis* foi estatisticamente associada à variável da principal atividade econômica da propriedade, como nas fazendas que tinham a bovinocultura como prioridade. Os fatores relacionados ao manejo, como a frequência de higienização das instalações, também foram estatisticamente associados à infecção. Tais variáveis caracterizam a ovinocultura de subsistência e o sistema extensivo, no qual os animais ficam soltos em grandes áreas e o criador não exerce nenhum controle sanitário ou reprodutivo. Esse perfil predomina nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (SOUZA et al., 2007).

Segundo a análise dos dados dos 183 soros de ovinos testados, em relação à procedência dos animais (Tabela 3), os soros reagentes apresentaram-se distribuídos da seguinte forma: quatro (2,2%) no município de Governador Mangabeira, um (0,55%) no município de Castro Alves e um (0,55%) no município de Jaguaripe.

Tabela 3. Percentual de ocorrência de ovinos reagentes à *Brucella ovis* na imunodifusão em gel de ágar, segundo a procedência dos animais, na região do recôncavo baiano (2007)

Procedência	Imunodifusão em gel de ágar			
	Animais Reagentes	(%)	Total	(%)
Santo Amaro	0	-	30	16,4
Castro Alves	1	0,55	28	15,3
Jaguaripe	1	0,55	11	6,0
Jequiriçá	0	-	11	6,0
Muritiba	0	-	15	8,2
Governador Mangabeira	4	2,2	19	10,4
Mutuípe	0	-	38	20,8
Laje	0	-	31	16,9
Total	6	3,27	183	100

Os resultados encontrados pelo teste sorológico indicam que a infecção por *B. ovis* está presente nos rebanhos comerciais de ovinos do estado da Bahia, necessitando de estudos mais amplos com amostragens significativas da população ovina, adoção de medidas sanitárias de controle e prevenção para evitar a propagação da doença. Além desse aspecto, ressalta-se a importância do resultado da presente pesquisa para os produtores que criam animais selecionados de alto padrão genético e valor econômico, que geram ainda mais prejuízos para a ovinocultura no estado.

REFERÊNCIAS

AFZAL, M.; KIMBERLING, C. V. How to control *Brucella ovis* - induced epididymitis in rams. **Veterinary Medicine**, v.81, p.364-370, 1986. [Links].

ARSENOULT, J.; GIRARD, C.; DUBREUIL, P.; BÉLANGER, D. Lack of evidence of *Brucella ovis* infection in rams in Quebec. **Canadian Veterinary Journal**, v.45, n.4, p.312-314, 2004. [Links].

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 precedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, v.25, n.2, p.45-50, 2004. [Links].

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.103-107, 2000. [Links].

BRUO, A. Ovine Epididymitis: *Brucella ovis*. **Center for Food Security and Public Health**, v.1, p.1-4, 2009. [Links].

CAVALCANTI, L.A.; DASSO, M.G.; OLIVEIRA, F.C.S.; VIEGAS, S.A.R.A.; ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIÇÃO, A.V.M.; ALCANTARA, A.C.; BITTENCOURT, D.V.V.; OLIVEIRA, E.M.D. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães provenientes da região metropolitana de Salvador. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.7, n.2, p.176-180, 2006. [[Links](#)].

CLEMENTINO, I.J.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; PAULIN, L.M.; MEDEIROS, K.A. Inquérito sorológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.4, p.137-143, 2007. [[Links](#)].

ESTEIN, S.M. Aspectos inmunológicos en el diagnóstico y control de la epididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.31, n.1, p.5-17, 1999. [[Links](#)].

FERREIRA, A.C.; CARDOSO, R.; TRAVASSOS DIAS, I.; MARIANO, I.; BELO, A.; ROLÃO PRETO, I.; MATEIGAS, A.; PINA FONSECA, A.; CORREA DE SA, M.I. Evaluation of a modified Rose Bengal test and an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. **Veterinary Research**, v.34, n.3, p.297-305, 2003. [[Links](#)].

FICAPAL, A.; JORDANA, J.; BLASCO, J.M.; MORIYÓN, I. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Ruminant Research**, v.29, n.1, p.13-19, 1998. [[Links](#)].

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário 2006**: rebanho ovino. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em: 26 jan. 2008.

LÓPEZ, G.; ESCOBAR, G.I.; AYALA, S.M.; LUCERO, N.E. Detection of antibodies to *Brucella ovis* in sheep milk using *B. ovis* and *B. canis* antigen.. **Veterinary Microbiology**, v. 116, n.1-3, p.232-238, 2006. [[Links](#)].

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. [[Links](#)].

MANTEROLA, L.; TEJERO-GARCÉS, A.; FICAPAL, A.; SHOPAYEVA, G.; BLASCO, J.M.; MARIN, C.M.; LÓPEZ-GOÑI, J. Evaluation of a PCR test for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in semen samples from rams. **Veterinary Microbiology**, v.92, n.1-2, p.65-72, 2003. [[Links](#)].

MARINHO, M.; MATHIAS, 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. [[Links](#)].

MINAS, A. Control and eradication of brucellosis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 62, n. 1-2, p.101-107, 2006. [[Links](#)].

MIYASHIRO, S.; SCARCELLI, E.; CAMPOS, F.R.; DEZEN, B.; ARAÚJO, M.; GENOVEZ, M.E. Discite em humano com brucelose: confirmação e identificação da espécie por meio da reação de polimerização em cadeia (PCR). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.3, p.1-4, 2003. [[Links](#)].

NIELSEN, N.; SMITH, P.; YU, W.L.; ELMGREN, C.; HALBERT, G.; NICOLETTI, P.; PEREZ, B.; CONDE, S.; SAMARTINO, L.; NICOLA, A.; BERMUDEZ, R.; RENTERIA, T. Validation of a second generation competitive enzyme immunoassay (CELISA) for the diagnosis of brucellosis in various species of domestic animals. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.125, n.3-4, p.246-250, 2008. [[Links](#)].

NOZAKI, C.N.; MEGDI, J.; LIMA, K.C.; SILVA JUNIOR, 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. [[Links](#)].

OCHOLI, R.A.; KWAGA, J.K.P.; AJOGI, I.; BALE, J.O.O. Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Nigeria. **Revue Scientifique Technique of International Epizootics**, v.24, n.3, p.973-979, 2005. [[Links](#)].

PINHEIRO JUNIOR, J.W.; SOUZA, M.M.A.; GUERRA, N.R.; SANTANA, V.L.A.; MOTA, R.A. Frequência de aglutininas anti-*Brucella abortus* em caprinos e ovinos do sertão do estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.4, p.1096-1101, 2008. [[Links](#)].

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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.211-213, 1966. [[Links](#)].

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 - LC. **Hora Veterinária**, v.17, n.99, p.60-61, 1997. [[Links](#)].

SILVA, J.B.A.; FEIJO, 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.51-54, 2003. [[Links](#)].

SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; PINHEIRO, R.R. Estudo sorológico da Maedi-Visna pelo método da imunodifusão em gel de ágar em rebanhos ovinos de Juazeiro, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.8, n.4, p.276-282, 2007. [[Links](#)].

THRUSFIELD, M. Veterinary Epidemiology. **Blackwell Science**, v.2, p.479, 1995. [[Links](#)].

WORLD ORGANISATION OF HEALTH ANIMAL - WHO. **Manual of standards diagnostic tests and vaccines, ovine epididymitis *Brucella ovis*, 2000**. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/en_index.htm>. Acessado em: 15 dez. 2007.

Data de recebimento: 22/03/2009

Data de aprovação: 15/09/2009