



## Considerações sobre o diagnóstico sorológico da brucelose ovina no Brasil - Uma revisão

*Considerations on the serological diagnosis of ovine brucellosis in Brazil - A review*

**Francisco Selmo Fernandes Alves<sup>1</sup>, Raymundo Rizaldo Pinheiro<sup>1</sup>, Alice Andrioli<sup>1</sup>, Patrícia Yoshida Faccioli<sup>1</sup>, Josir Laine Aparecida Vechi<sup>2</sup>, Clebert Alves<sup>3</sup>, Fabrine Alexandre dos Santos<sup>4</sup>**

**Resumo:** O aparecimento das doenças nos rebanhos caprino e ovino é comum em diversas regiões do Brasil. Dentre estas, a brucelose ovina vem sendo estudada e analisada através de inquéritos sorológicos ao longo dos anos. O diagnóstico sorológico realizado normalmente nas pesquisas é através dos seguintes métodos, a Reação de Fixação de Complemento (FC), o Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) e o Ensaio Imunoenzimático (ELISA-i). Comparações na concordância destes testes indicaram uma variação nos resultados levando a considerar a presença de enfermidades correlatas do sistema reprodutivo e a Pododermatite, além dos tipos de antígenos usados nos testes sorológicos que podem interferir na resposta imune. Portanto, correlacionar a sorologia à confirmação do isolamento do agente ou por PCR e a melhoria na qualidade do(s) antígeno(s) utilizados se faz necessário.

**Palavras-chave:** enfermidade, sorologia, ovinos, controle

**Abstract:** The occurrence of diseases in sheep and goats is common in several regions of Brazil. Among these, ovine brucellosis has been studied and analyzed through serological surveys over the years. The serological diagnosis normally performed in the research is through the following methods, Complement Fixation Reaction (FC), Immunodiffusion in Agarose Gel (IDGA) and Immunoenzymatic Assay (ELISA-i). Comparisons in the concordance of these tests indicated a variation in the results leading to consider the presence of related diseases of the reproductive system and Pododermatitis, besides the types of antigens used in the serological tests that can interfere in the immune response. Therefore, correlating the serology to the confirmation of the agent isolation or by PCR and the improvement in the quality of the antigen (s) used becomes necessary.

**Keywords:** disease, serology, sheep, control

Autor para correspondência - E.mail, [selmo.alves@embrapa.br](mailto:selmo.alves@embrapa.br)

Recebido em 10.09.2016. Aceito em 28/09/2017

<sup>1</sup> Médicos Veterinários, Pesquisadores Embrapa Caprinos e Ovinos - Sobral /CE

<sup>2</sup> Médica Veterinária, Pesquisadora Embrapa Semiárido - Petrolina /PE

<sup>3</sup> Médico Veterinário, Professor Universidade Federal Campina Grande - Patos/PB

<sup>4</sup> Médico Veterinário, Doutorando Universidade Federal Campina Grande - Patos/PB

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20170035>

## Introdução

A brucelose ovina é uma doença infecto-contagiosa causada pela *Brucella ovis* e em carneiros é conhecida como Epididimite ovina. Foi descoberta pela primeira vez na Nova Zelândia e depois diagnosticada em outros países. A enfermidade é de caráter crônico e caracteriza-se por afetar o sistema reprodutor, com lesões genitais, queda na fertilidade de carneiros, placentites em ovelhas e elevada mortalidade em cordeiros. Deve-se levar em consideração que nem todos os animais apresentam sintomatologia visível e real, o que dificulta o diagnóstico. No entanto, a enfermidade deve ser diferenciada de outras doenças causadas por agentes infecciosos, como *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Actinobacillus seminis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Histophilus ovis*, *Haemophilus spp.* e *Chlamydophila abortus* que causam esporadicamente também Epididimite.

A forma de transmissão é pela via venérea, sendo o macho, que normalmente não apresenta os sinais clínicos característicos, responsável pela manutenção da enfermidade no rebanho.

O diagnóstico da doença com sintomatologia é complexo, principalmente o caso de caráter crônico, deve ser realizado associando os procedimentos clínicos aos laboratoriais. Para o diagnóstico clínico deve-se realizar o exame com o objetivo de revelar alterações nos testículos e epidídimo, exame

de sangue para hematologia e bioquímica sérica e coleta de sêmen para espermograma. Os métodos laboratoriais de diagnóstico são, o direto através da cultura que permite isolar o agente e os indiretos pelas sorologias, para a detecção de anticorpos *anti-B.ovis*.

Os métodos sorológicos indiretos são os mais utilizados, como o teste de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) e da Reação de Fixação de Complemento (FC). O teste de IDGA apresenta sensibilidade semelhante à FC e é de simples execução. O Ensaio Imunoenzimático indireto (ELISA-i) vem sendo utilizado em algumas pesquisas demonstrando resultados satisfatórios. Segundo as normas contidas no projeto de Instrução Normativa que institui do Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para certificação de propriedades livres ou para fins de trânsito, deverão ser testados machos não castrados, acima de 6 meses de idade utilizando-se como teste de rotina o IDGA e como teste confirmatório a FC. A Instrução Normativa Nº 50 de 24 de setembro de 2013 do MAPA, em seu artigo 01, altera a lista das enfermidades passíveis de aplicação de medidas de defesa sanitária animal. As doenças listadas em seu anexo são de notificação ao serviço veterinário oficial, dentre estas, a Epididimite ovina que faz parte das doenças que requerem notificação mensal de qualquer caso confirmado. A mesma

merece atenção por ser frequentemente descrita em trabalhos de pesquisa no Brasil, de determinar prejuízos ao setor produtivo da ovinocultura e fazer parte das enfermidades contempladas no Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos (PNSCO) do MAPA.

A revisão tem como objetivo de fazer considerações sobre os aspectos relacionados aos inquéritos sorológicos e discutir os resultados dos testes de diagnóstico sorológico FC, IDGA e ELISA-i da brucelose ovina no Brasil.

### **Diagnósticos sorológicos**

O diagnóstico da infecção por *B. ovis* pode ser realizado usando os métodos clínicos, bacteriológicos, sorológicos e/ou moleculares de acordo com cada método propósito, isolamento e identificação do agente e detecção da resposta imunológica dos testes, Quadro I (OIE, 2016).

Com relação às provas sorológicas as mais utilizadas são a de Reação de Fixação de Complemento (FC), Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA). O método de IDGA é o teste mais realizado para fim do diagnóstico de triagem de rebanhos.

No Brasil, diversos estudos foram conduzidos utilizando os testes de IDGA e FC, onde a soroprevalência variou de 0,0% a 34,0%,

Tabela I. Destes 30 levantamentos sorológicos, somente 03 (10,0%) não apresentaram animais positivos, e na média verificou-se uma prevalência total de 7,47% (1297/17371).

Segundo MARÍN et al. (1989), a sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos dependem essencialmente dos antígenos utilizados. O antígeno amostra de *B. ovis* Reo 198 em extrato salino obteve os melhores resultados nos testes de FC, IDGA e ELISA. Estudos comparativos demonstraram que o teste de ELISA é mais sensível (97,6%) que o IDGA (96,4%) e FC (92,7%). A combinação de IDGA e ELISA apresentou 100% de sensibilidade contra 96,4% obtidos com a combinação de IDGA e FC. Os três testes apresentaram especificidade de 100%.

Conforme Robles (1998), utilizando o antígeno em extrato salino da amostra de *B. ovis* Reo 198, o teste de IDGA apresentou especificidade de 100% e uma variação da sensibilidade quando se avaliou carneiros naturalmente infectados (97,10%) e carneiros infectados experimentalmente (91,23%). Também foi observado 39,17% de reação cruzada com *B. melitensis*. A sensibilidade de 97,1% é comparável com a verificada nos testes de FC e ELISA. Segundo o autor, a técnica de IDGA para o diagnóstico de *B. ovis* produz resultados confiáveis e pode ser utilizada por veterinários de campo para detectar a brucelose em rebanhos e para o

desenvolvimento de programas de controle.

**Quadro I - Testes disponíveis para o diagnóstico da infecção por *Brucella ovis*.**

Traduzido - OIE, 2016

Método	Propósito					
	População livre de infecção	Animal (individual) livre da infecção antes de trânsito	Contribuição às políticas de erradicação	Confirmação de casos clínicos	Confirmação de casos suspeitos	Prevalência da infecção por rebanho - Vigilância
<b>Identificação do Agente</b>						
Métodos de coloração	-	-	-	+	-	-
Cultura	-	-	-	+++	+ / +++	-
PCR	-	-	-	+ / +++	+ / +++	-
<b>Deteccção da Resposta Imune</b>						
FC	+++	+++	+++	++	++	++
ELISA-i	+++	+++	+++	++	++	+++
IDGA	++	++	+++	++	++	++

Sinais: +++ = método recomendado; ++ = método adequado; + = pode ser usado em algumas situações, mas o custo, a confiabilidade ou outros fatores limitam severamente sua aplicação; - = não apropriado para este propósito.

Embora nem todos os testes listados como categoria +++ ou ++ tenham sido submetidos à validação formal, a sua rotina e o fato de terem sido utilizados amplamente sem resultados duvidosos, tornam eles aceitáveis. PCR= Reação em Cadeia da

Polimerase; FC = Teste de Fixação de Complemento; ELISA-i = Ensaio de imunoabsorção enzimática indireto; IDGA = Imunodifusão em Gel de Agarose.

**Tabela I. Inquéritos sorológicos em caprinos e ovinos em diversos estados do Brasil utilizando o teste de IDGA\*<sup>1</sup> e FC\*<sup>2</sup>.**

<b>Estado</b>	<b>Animais soropositivos</b>	<b>Propriedades positivas</b>	<b>Método</b>	<b>Autores</b>
Piauí	8,54% (40/468)	53,84% (21/39)	IDGA	Batista (2012)
Ceará	7,81% (30/384)	56,25% (18/32)	IDGA	Batista (2012)
	34% (103/290)	-	IDGA	Silva et al. (2003)
Rio Grande do Norte	7,65% (36/470)	53,2% (25/47)	IDGA	Lima (2015)
	11,3% (13/115)	-	IDGA	Azevedo et al. (2004)
	5,57% (28/498)	8,59% (25/283)	IDGA, FC* <sup>2</sup>	Clementino et al. (2007)
Paraíba	5,4% (13/241)	37% (9/24)	IDGA	Lima (2015)
	7,5% (6/80)	-	IDGA	Alves et al. (2010)
	5,20% (59/1134)	20,39% (21/103)	IDGA	Santos et al. (2013)
Pernambuco	16,25% (26/160)	-	IDGA	Coletto et al. (2003)
	9,09% (19/209)	-	IDGA	Pinheiro Junior et al. (2008)
Sergipe	3,5% (21/593)	42,1% (51/121)	IDGA	Lima (2015)
Alagoas	3,1% (18/579)	37,03% (10/27)	IDGA	Pinheiro Junior et al. (2009)
Bahia	3,28% (6/183)	-	IDGA	Silva et al. (2009)
	0,72% (5/694)	8,62 (5/58)	IDGA	Souza et al. (2012)
	6,94% (55/793)	-	IDGA	Araújo et al. (2013)
Distrito	27,6%	-	IDGA	Gonçalves (2005)

Federal	(29/105)			
Maranhão	5,6% (12/216)	-	IDGA	Chaves et al. (2002)
Minas Gerais	0% (0/334)	0% (0/12)	IDGA	Salaberry et al. (2011)
	5,3% (44/833)	29,4% (32/109)	IDGA	Marques (2006)
Mato Grosso do Sul	12,7% (153/1198)	68,3% (41/60)	IDGA	Juliano et al. (2011)
São Paulo	0% (0/850)	0% (0/18)	IDGA e FC	Marinho & Mathias (1996)
	1,96% (4/204)	-	IDGA	Rizzo et al. (2009)
	12% (124/1033)	-	IDGA	Nozaki et al. (2004)
Paraná	0,9% (1/109)	-	IDGA	Reis (2005)
	1,4% (3/213)	-	IDGA	Cunha Filho et al. (2007)
Santa Catarina	0% (0/69)	0% (0/20)	IDGA	Schäfer et al. (1997)
Rio de Janeiro	3,64% (13/357)	-	IDGA	Lima et al. (2007)
Rio Grande do Sul	13,43% (220/1638)	-	IDGA	Magalhães Neto & Gil-Turnes (1996)
	6,5% (216/3317)	-	IDGA	Ramos (1966)

\*<sup>1</sup> IDGA = Imunodifusão em gel de ágar

\*<sup>2</sup> FC = Fixação de complemento

Ao comparar o teste de ELISA indireto com o IDGA e FC, Marinho & Mathias (1996), utilizando a cepa 63/290 de *Brucella ovis*, obtida junto ao laboratório veterinário central do Reino Unido, observaram divergência de resultados. Na análise de 850

soros de ovinos, o ELISA indireto detectou nove resultados positivos. Destes, nem o IDGA e o FC apresentaram animais reagentes. Entretanto, o teste de FC detectou dois reagentes que não foram positivos tanto no IDGA como no ELISA. Os autores

associaram este fato à maior capacidade do ELISA indireto em detectar animais reagentes. Entretanto, diante da ausência de manifestação clínica e histórico da enfermidade nos rebanhos estudados, associados aos resultados dos três testes, concluiu-se que nenhum animal era positivo e que os resultados do teste de ELISA indireto eram falso-positivos.

Conforme Marinho & Mathias (1996), os testes de IDGA e FC apresentaram praticamente uma concordância em cerca de 100% na detecção de animais negativos. A técnica de FC, apesar das desvantagens de ser mais laboriosa e de exigir a disponibilidade constante de reagentes altamente lábeis, apresenta resultados mais regulares e constantes, que não deixam margens de dúvida na interpretação e leitura do resultado final.

Nozaki et al. (2004) comparando os testes de IDGA e ELISA verificaram baixa concordância entre as provas sorológicas. Os autores recomendaram a aplicação associada de IDGA e ELISA, de forma a se obter melhor sensibilidade e resultados mais confiáveis.

O teste de IDGA tem como desvantagem o fato de que os resultados são interpretados apenas qualitativamente. Apesar de ambos os testes de FC e IDGA serem apropriados para o diagnóstico da *B. ovis*, alguns carneiros infectados são IDGA negativos, mas FC positivos e vice-versa

(FICAPAL et al., 1998). Convém relatar, também, que a bactéria *Dichelobacter nodosus*, agente etiológico da Pododermatite, pode estar relacionada com reação cruzada em testes sorológicos de *B. ovis* (CFSPH, 2010).

Recentemente, em estudo (dados não publicados) Fabrini (2016) selecionou 184 amostras de ovinos de ambos os sexos sorologicamente positivas no teste de IDGA utilizando o Kit do laboratório TECPAR. Os animais foram de vários estados do Nordeste (Piauí, Ceará, Sergipe, Paraíba e Rio Grande do Norte) e comparou com os testes de FC (UNESP<sup>1</sup>) e ELISA de competição utilizando o Kit do laboratório IDEXX<sup>2</sup>. No teste de FC não se observou sorologia positiva, enquanto no ELISA quatro animais (2,17%) apresentaram-se soropositivos e 21 animais (11,41%) suspeitos. Convém salientar, que não foram realizados exames clínicos detalhados e que os criadores não relataram sintomatologia clínica compatível no momento da coleta.

Convém informar que a maioria dos testes de IDGA realizados no Brasil utiliza-se o Kit do laboratório TECPAR com antígeno da cepa de *Brucella ovis* Reo 198 obtida

---

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV - Unesp, Jaboticabal/SP.

<sup>2</sup> IDEXX Brasil - Av. Brig. Faria Lima, 4300 1º Andar - Ed. FL CORPORATE. São Paulo/SP - <https://idexx.com.br/contato>.

inicialmente do Centro de Pesquisa Veterinária “Desidério Finamor”.

Segundo a OIE (2016), a combinação em paralelo do teste IDGA e do ELISA-I fornecem os melhores resultados em termos de sensibilidade. No entanto, devido à falta de métodos padronizados reconhecidos a nível internacional para o IDGA e o ELISA-I, o teste mais adequado para certificar animais individuais para trânsito, incluindo o comércio internacional, continua sendo a técnica de Fixação de Complemento. No quadro I estão descritos, segundo a OIE (2016), os métodos de diagnóstico para a *B. ovis*.

### **Considerações**

Conforme a OIE (2013), a realização de análises sorológicas para as enfermidades em rebanhos e em programas de controle deve ser vista nas seguintes situações: no sentido de avaliar a doença nos rebanhos de países e regiões livres; para prevenir a disseminação da(s) doença(s) já vinculada(s) e específicas nos programas de controle; de contribuir para erradicar a infecção nos rebanhos, no país ou região; de confirmar o diagnóstico clínico dos casos observados; de estimar a prevalência no sentido de realizar análise de riscos e estratégias de controle e de identificar animal ou rebanho(s) infectado(s).

Como consideração para realização de mais estudos da brucelose ovina no Brasil, deve-se levar como observação a busca e

avaliação das enfermidades correlatas que causam efeito no sistema reprodutivo destes pequenos ruminantes, além de associar a presença da Pododermatite, amplamente disseminada, que, segundo a literatura, induz reação cruzada com a *B. ovis*. Além de outro aspecto é o de avaliar o calendário de vacinação contra a Pododermatite em ovinos existentes em algumas regiões no Brasil, que pode interferir nos resultados sorológicos da *B. ovis*. Devemos ressaltar mais uma vez, essa é uma questão que requer estudos epidemiológicos, de análise de riscos e de testes de diagnósticos.

Devemos lembrar também para ter atenção com os antígenos usados nos testes sorológicos existentes no Brasil. Se os antígenos forem obtidos de cepas diferentes, sugere-se a determinação da sensibilidade e da especificidade de cada teste sorológico na população animal de referência, ovinos.

Apesar dos vários trabalhos realizados sobre a Brucelose ovina nos últimos 20 anos no Brasil ainda não existem concordância dos testes sorológicos, principalmente do IDGA, com relação à manifestação clínica e histórico da *B. ovis* nos rebanhos estudados. É necessário correlacionar a sorologia utilizando diferentes testes, à confirmação por isolamento do agente ou PCR.

Outro ponto a ser considerado e questionado, é a necessidade de substituição do teste IDGA ou melhoria na qualidade do(s)



antígeno(s).

Diante das informações expostas buscou-se o que recomenda o preconizado pela OIE:

- 1- Em animal sem infecção e antes de trânsito, realizar a sorologia utilizando os testes de FC, IDGA ou ELISA-i, respectivamente;
- 2- No apoio a programas de erradicação: é recomendada a associação de testes em paralelo para aumentar a sensibilidade do diagnóstico, por exemplo, dois testes sorológicos: FC ou IDGA e o ELISA-i;
- 3- Na confirmação de casos clínicos: é necessário o isolamento e a identificação do agente etiológico para a confirmação, pois o valor preditivo dos resultados positivos para testes sorológicos pode ser muito baixo. Já em rebanhos infectados, o resultado positivo de algum teste sorológico deve ser considerado como caso clínico confirmado;
- 4- Na confirmação de casos suspeitos: em áreas de baixa prevalência, a sorologia positiva em um único animal, esta deve ser confirmada por cultura para isolamento do agente ou por PCR; em países ou zonas livres, os animais suspeitos são considerados todos positivos em pelo menos dois testes sorológicos de triagem e outro teste para a contraprova e confirmação, se for o caso. Para este caso, devem ser realizados testes em série, como exemplo ELISA-i e FC,

respectivamente, e confirmação por cultura e ou PCR.

### Referências bibliográficas

1. 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. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.365-367, 2010.
2. ARAÚJO, B.R.; COSTA, J.N.; SOUZA, T.S.; LIMA, C.C.V.; LEITE, M.D.X.; COSTA NETO, A.O.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; ALMEIDA, M.G.A.R.; LIMA, E.B. Seroepidemiology of sheep brucellosis in the microregion of Feira de Santana, BA, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.50, n.2, p.129-135, 2013.
3. AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; ALVES, F.A.L. et al. **Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil**. Agrop. Tec., v.25, p.45-50, 2004.
4. BATISTA, H.M.F. **Ocorrência de ovinos soropositivos para *Brucella ovis* nos rebanhos dos estados do Ceará e do Piauí**. 2012. 103f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2012.
5. CFSPH. **The Center for Food Security & Public Health**. Ovine Epididymitis: *Brucella ovis*. Disponível em: Acesso em 29 set. 2011.
6. CHAVES, D. P.; CAVALCANTE, A. C. L.; BATISTA, Z. S.; BRAGA, M. S. C. O. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* no estado do Maranhão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29, 2002, Gramado. Anais... Gramado: SPS-1100, 2002. (Resumo).
7. CLEMENTINO, I.J.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S. et al. Inquérito soropidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semiárido da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.**, v.27, p.137-143, 2007.

8. COLETO, Z.F.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOTA, R.A. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie (estudos preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.551-553, 2003.
9. CUNHA FILHO, L.F.; LEUZZI JUNIOR, L.A.; SILVA, L.C.; AGOTTANE, J.V.B.; OKANO, W.; STERZA, F.M.A.; ZANIN, R. Ocorrência de ovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel ágar, para *Brucella ovis*, em propriedades da região norte do Paraná. **Revista UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.9, n.1, p.67-70, 2007.
10. FICAPAL, A.; JORDANA, J.; BLASCO, J.M. et al. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Rum. Res.**, v.29, p. 13-19, 1998.
11. GIL TURNES, C. **Brucelose ovina**. In: CORREA, R. F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. C. Doenças de ruminantes e equinos. Pelotas: Editora da Universidade Federal de Pelotas, 1998, p. 161-169.
12. GONÇALVES, V. S. P.; AKIMOTO, B. M.; DILLI, T. B.; HEINEMANN, M. B. Soroprevalência e fatores de risco da epididimite ovina em rebanhos comerciais do Distrito Federal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 6, 2005, Búzios-RJ. (Resumo).
13. JULIANO RS, SILVA MSP, PELLEGRINAO, LIMA MFNT, SILVA RAMS. Prevalência de brucelose ovina no município de Corumbá-MS. **Veterinária e Zootecnia**, 18: 827-830, 2011.
14. LIMA, A. M. C. **Brucelose ovina: soroprevalência e análise dos fatores de risco nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe**. 2015. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral.
15. LIMA, C.B. et al. Seroepidemiological survey of brucellosis in sheep from the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Online J. Vet. Res.**, v.11, n.2, p.45-49, 2007.
16. MAGALHÃES NETO, A.; GIL TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v.16, p.75-79, 1996.
17. MARCO, J.; GONZÁLEZ, L.; CUERVO, L.A. et al. *Brucella ovis* infection in two flocks of sheep. **Vet. Rec.**, v.135, p. 254-256, 1994.
18. 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.
19. MARQUES, A. P. R. **Caracterização soroprevalência da infecção por vírus Maedi-Visna e *Brucella ovis* em ovinos no estado de Minas Gerais**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária. Belo Horizonte UFMG – Escola de Veterinária, 2006.
20. NOZAKI, C. N. **Inquérito sorológico de brucelose ovina em cabanhas da região centro-oeste do estado de São Paulo, através das técnicas de imunodifusão em gel de ágar e ELISA** Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.
21. NOZAKI, C.N.; MEGID, 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. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 71, n. 1, p.15,2004.
22. OIE 2013. Office International des Épizooties. OIE Terrestrial Manual 2013. Disponível em: Acesso em: 20 mai. 2017.
23. OIE 2016. World Animal Health Information System. Disponível em: Acesso em: 20 mai. 2017.
24. PAOLICCHI, F.; TERZOLO, H.; MALENA, R. et al. Estudio comparativo de medios de cultivo para aislar *Brucella ovis*. **Rev. Argent. Microbiol.**, v.23, p.155-159, 1991.

25. 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. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p.500-508, 2009.
26. PINHEIRO JUNIOR, J.W.; SOUZA, M.M.A.; GUERRA, N.R. et al. Frequência de aglutininas anti-*Brucella abortus* em caprinos e ovinos do sertão do estado de Pernambuco, Brasil. **Cien. Anim. Bras.**, v.9, p.1096-1101, 2008.
27. 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.
28. 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.
29. REIS, C.G. **Incidência de ovinos machos reagentes a prova de imunodifusão em gel de ágar para *Brucella ovis* na região norte do Paraná**. 2005. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Norte do Paraná, Arapongas, 2005.
30. RIZZO, H.; GREGORY, L.; PINHEIRO, E.S.; CARVALHO, A.F.; SANTANA, R.L.; SILVA, L.M.P. Incidência de *Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, p.591-596, 2009. Trabalho apresentado no CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 8., 2009, Belo Horizonte.
31. ROBLES, C. A. Evaluacion de una tecnica de doble difusion em gel de agar para el diagnostico de la infeccion por *Brucella ovis* em carneros. **Vet. Argent.**, v.15, n.142, p.119-124, 1998.
32. SALABERRY, S.R.S.; PAULIN, L.M.; SANTANA, R.L.; CASTRO, J.R.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus* e anti-*Brucella ovis* em ovinos no município de Uberlândia, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.4, p.1022-1024, 2011.
33. SANTOS, F.A.; HIGINO, S.S.S.; AZEVEDO, S.S.; COSTA, D.F.; FARIAS, A.E.M.; ALVES F.A.L. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em ovinos deslanados do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.4, p.459-463, 2013.
34. SHÄFER, 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 Vet.**, v. 17, n. 99, p. 60-61, 1997.
35. SILVA, J.B.A.; FEIJÓ, F.M.C.; TEIXEIRA, M.F.S. et al. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Cien. Anim.**, v.13, p.51-54, 2003.
36. SILVA, N.S.; BARROS, I.N.; DASSO, M.G.; ALMEIDA, M.G.Á.R.; LABORDA, S.S.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; MOREIRA, E.L.T.; LIMA-SILVA, A.E.; OLIVEIRA, E.M.D. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.4, p.852-859, 2009.
37. SOUZA, T.S.; COSTA, J.N.; MARTINEZ, P.M.; LIMA, C.C.V.; ARAÚJO, B.R.; COSTA NETO, A.O.; ANUNCIACÃO, A.V.M.; ALMEIDA, M.G.A.R.; PINHEIRO, R.R. Inquérito soro-epidemiológico de *Brucella ovis* em rebanhos ovinos no semiárido baiano. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.2, p.277-281, 2012.