

## SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE E DA LEPTOSPIROSE EM REBANHOS DE BOVINOS LEITEIROS DO ESTADO DE PERNAMBUCO

### Seroprevalence of brucellosis and leptospirosis in dairy bovine herds of Pernambuco State, Brazil

Taciana Galba da Silva TENÓRIO<sup>1</sup>; Lúcio Esmeraldo Honório de MELO<sup>2\*</sup>; Sílvio Arruda VASCONCELLOS<sup>3</sup>; Roberto Soares de CASTRO<sup>2</sup>; Francisco Feliciano da SILVA<sup>2</sup>; Jacinta Eufrása Brito LEITE<sup>2</sup>; Eneida Willcox RÊGO<sup>2</sup>; Beatriz Berlinck d'Utra Vaz<sup>2</sup>; Mônica Amorim da Costa BORBA<sup>1</sup>; Mauro Tavares de MELO<sup>4</sup>; Verônica Borba de CASTRO<sup>5</sup>; Karla Mabel Tabosa CAMPOS<sup>5</sup>; Rivanilson Santiago BERTO<sup>1</sup>; Emerson Israel MENDES<sup>1</sup>.

#### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi estimar a soroprevalência da Leptospirose e da Brucelose em rebanhos leiteiros de Pernambuco. Seiscentas amostras de soro sanguíneo de 16 rebanhos leiteiros de diversas regiões de Pernambuco foram examinadas sorologicamente para detectar bovinos portadores de anticorpos anti-leptospirais pela técnica de soroaglutinação microscópica e anti-*Brucella abortus* pelo teste do AAT. As positivas ao AAT foram submetidas à soroaglutinação lenta em tubos (SAL) e 2-Mercaptoetanol (2-ME). Anticorpos anti-*Brucella abortus* foram detectados em 4,2% dos animais, em cinco rebanhos. Dois rebanhos tinham prevalência de 17,9% e 16,5%, respectivamente. Das amostras testadas, 57,7% reagiram positivamente a algum dos 24 antígenos vivos de *Leptospira* em todos os rebanhos examinados, com variações de até 95,0%. Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que deve-se incluir a brucelose e a leptospirose no diagnóstico diferencial de doenças reprodutivas de bovinos desta região.

**Palavras-chave:** Leptospirose; Brucelose; Soroprevalência; Bovinos; Pernambuco.

#### ABSTRACT

A serological survey was conducted in dairy cattle from different regions of Pernambuco State, Brazil, to estimate the prevalence of brucellosis and leptospirosis. A total of 600 samples were tested by Serum Agglutination Test (SAT) and by 2-Mercaptoethanol (2-ME) for the diagnosis of brucellosis and by Microscopic Agglutination Test for Leptospirosis. The results of the serological survey to *Brucella abortus* showed 4.2% of reactive samples in five different herds. Antibodies to *Leptospira* sp were detected in 57.7% of these herds according to 24 antigens used in this study. It can be concluded that there is a prevalence of antibodies against the investigated diseases in dairy cattle of Pernambuco State. These results suggest that brucellosis and leptospirosis should be included in differential diagnosis for reproductive diseases in cattle in this region.

**Keywords:** Leptospirosis; Brucellosis; Seroprevalence; Bovine; Pernambuco.

<sup>1</sup> Pós-Graduandos - Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária – UFRPE.

<sup>2</sup> Professor Adjunto Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE. \*Autor para correspondência. E-mail: [lucio@ufrpe.br](mailto:lucio@ufrpe.br) R. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos – Recife – PE CEP: 52.171-900 – Recife/PE

<sup>3</sup> Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – VPS – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP.

<sup>4</sup> Médico Veterinário - UFRPE

<sup>5</sup> Graduandas do Curso de Medicina Veterinária – UFRPE.

## INTRODUÇÃO

Brucelose e leptospirose são doenças de notificação no Código Zoonosário Internacional devido às implicações no comércio internacional de animais e produtos de origem animal, aos prejuízos que causam à pecuária bovina pelo comprometimento da performance reprodutiva dos rebanhos e à possibilidade da transmissão dos seus agentes causais à espécie humana (PRESCOTT et al., 1988; BRASIL, 1997; OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES, 2003).

As espécies *Leptospira interrogans sensu stricto*, com destaque para a variante sorológica *hardjo*, e *Brucella abortus* são consideradas patogênicas e freqüentemente responsáveis por problemas reprodutivos em rebanhos bovinos (UNIVERSITY OF BELGRADE; ROYAL TROPICAL INSTITUTE, 1997; CORRÊA e CORRÊA, 1992; RADOSTITS et al., 2002).

A expressão clínico-epidemiológica da Leptospirose depende da presença do agente etiológico em condições edafo-climáticas favoráveis, como as observadas especialmente nos países tropicais onde ocorrem grandes precipitações pluviométricas (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1988). A Brucelose, por sua vez, tem gênese estreitamente associada ao manejo das criações, ocorrendo com maior magnitude nos rebanhos leiteiros submetidos a constantes renovações do plantel e com menor grau nos sistemas de criação fechados (NICOLETTI, 1998; RADOSTITS et al., 2002).

Apesar do declínio de sua prevalência no país, a Brucelose manteve-se nos rebanhos nacionais (VASCONCELLOS et al., 1997; FÁVERO et al., 2001). Em decorrência disso, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento lançou um conjunto de medidas sanitárias muito mais rigorosas contidas no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose / PNCEBT (BRASIL, 2001; PAULIN e FERREIRA NETO, 2002).

Na Região Nordeste, constatou-se positividade a brucelose em animais de vários rebanhos, sendo sua prevalência baixa em Alagoas (NUNES, 2001), Rio Grande do Norte (SOUZA et al., 1999) e Paraíba (ALVES et al., 1991). Em Pernambuco, a soroprevalência da doença foi registrada duas ocasiões e em valores díspares: a primeira com Almeida et al. (2000), ao detectarem a presença de anticorpos anti-*Brucella* em 19,3% das 150 amostras procedentes de vacas do município de Sanharó; a segunda com Silva et al. (2000), ao constatarem que em 97 bovinos leiteiros do município de Gravatá – PE havia 2,06% de

positividade nos testes de soroprecipitação rápida em placa e com o antígeno acidificado tamponado.

Quanto à ocorrência da leptospirose na Região Nordeste, as informações evidenciam contrastes significativos de sua ocorrência nos rebanhos. Em Pernambuco, Oliveira (1999) estimou em 47,6% a prevalência da infecção em 464 bovinos criados em 15 rebanhos leiteiros do Município de Garanhuns, com o predomínio da variante sorológica *hardjo* sobre as demais consideradas no estudo. Almeida et al. (2000) examinando um número menor de amostras, verificaram que 2,0% (3/150) das vacas examinadas no município de Sanharó – PE eram portadores de anticorpos anti-*Leptospira*. Nos demais Estados, a soroprevalência estimada oscilou entre 0,11% (Rio Grande do Norte) a 2,10% (Bahia), mantendo-se em níveis baixos, também, na Paraíba (0,25%), Maranhão (1,18%), Piauí (0,71%), Ceará (0,38%) e Alagoas (0,32%) (FÁVERO et al., 2001).

Diante do exposto, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de estimar a soroprevalência da leptospirose e da brucelose em 16 rebanhos leiteiros do Estado de Pernambuco, consubstanciando-a a dados regionais e discutindo o papel clínico-epidemiológico dessas infecções no desempenho reprodutivo dos rebanhos examinados.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas amostras sanguíneas para obtenção do soro em 16 rebanhos leiteiros, distribuídos em nove municípios das mesorregiões Metropolitana do Recife, Mata Pernambucana e Agreste do Estado de Pernambuco.

Os rebanhos selecionados possuíam efetivos médios de 30 cabeças e eram submetidos a práticas de manejos semelhantes, em regime semi-extensivo e com limitados recursos técnicos e intensa rotatividade de animais. A maioria dos rebanhos apresentava baixa produtividade, com evidências clínicas de repetições de cio e abortamentos.

Ensaio de amostragem relacionados ao estudo de prevalência de enfermidades infecciosas crônicas formulados por Astudillo (1979) foram utilizados para definir:

a) O número mínimo de amostras a serem testadas, em função de alguns critérios epidemiológicos, como tipo de exploração, categoria animal e a área geográfica, aplicando-se a fórmula:

$$n' = \frac{p(100-p)g^2}{(p\alpha/100)^2}$$

Onde: p = prevalência esperada da Leptospirose; g = fator determinante do grau de

confiança ( $1,96^2 \cong 4$ ) e  $a$  = margem de erro admissível.

Com base em resultados regionais (OLIVEIRA, 1999; ALMEIDA et al., 2000), foi definido 20% como prevalência mínima esperada para a Leptospirose, admitindo-se uma margem de erro de 20%, com um grau de confiança de 95%. Desta forma, obteve-se um valor  $n'$  aproximadamente igual a 600 amostras.

b) As prevalências da leptospirose e da brucelose, cujas taxas globalizadas e por rebanhos foram estabelecidas pela fórmula:

$$p = \frac{nr}{n'(\text{ou } n)} \cdot 100\%$$

Onde  $nr$  = número de amostras positivas na população examinada;  $n'$  = número total de bovinos testados nos 16 rebanhos e  $n$  = número de bovinos testados no rebanho.

c) O desvio padrão, segundo a fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{p \cdot (100-p)}{n}}$$

Onde:  $s$  = desvio padrão;  $p$  = prevalência observada;  $n$  = número de amostras testadas.

As amostras foram examinadas sorologicamente para detectar bovinos portadores de anticorpos:

– anti-leptospirais, pela microtécnica de soroaglutinação microscópica com 24 antígenos

vivos (GALTON et al., 1965), em meio de EMJH modificado e solução salina tamponada de Sorensen (SANTA ROSA, 1970). As amostras que apresentaram reação de aglutinação com título de 100 ou superior, em um ou mais dos antígenos foram consideradas positivas;

– anti-*Brucella abortus*, pela técnica do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como teste triagem, sendo as amostras positivas submetidas, subseqüentemente, às técnicas de soroaglutinação lenta em tubos (SAL) e 2-Mercaptoetanol (2-ME). A interpretação dos resultados foi realizada mediante a legislação em vigor do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de prevalência estimadas para leptospirose e para brucelose, por rebanho e globalizadas, estão distribuídas na Tabela 1. Na seqüência, com o objetivo de melhor caracterizar a magnitude dessas infecções, as taxas estabelecidas em cada rebanho foram classificadas e agrupadas em baixa (até 10%), média (entre 11 e 30%) e alta (maior do que 30%), conforme critérios preconizados por Shettigara et al. (1986), relacionados ao estudo clínico-epidemiológico de doenças infecciosas crônicas (Tabela 2).

Tabela 1. Distribuição das taxas de prevalência da leptospirose e da brucelose em rebanhos leiteiros do Estado de Pernambuco.

Rebanhos	Brucelose		Leptospirose		Total
	positivas (%)	negativas (%)	positivas (%)	negativas (%)	
R <sub>1</sub>	7 (17,9)	32 (82,1)	4 (10,3)	35 (89,7)	39
R <sub>2</sub>	14 (16,5)	71 (83,5)	54 (63,5)	31 (36,5)	85
R <sub>3</sub>	1 (5,0)	19 (95,0)	8 (60,0)	12 (40,0)	20
R <sub>4</sub>	0 (0,0)	21 (100,0)	14 (66,7)	7 (33,3)	21
R <sub>5</sub>	0 (0,0)	20 (100,0)	15 (75,0)	5 (25,0)	20
R <sub>6</sub>	0 (0,0)	81 (100,0)	77 (95,0)	4 (5,0)	81
R <sub>7</sub>	0 (0,0)	13 (100,0)	11 (84,6)	2 (15,4)	13
R <sub>8</sub>	0 (0,0)	27 (100,0)	11 (40,7)	16 (59,3)	27
R <sub>9</sub>	0 (0,0)	12 (100,0)	11 (91,7)	1 (8,3)	12
R <sub>10</sub>	2 (3,9)	50 (96,1)	28 (53,8)	24 (46,2)	52
R <sub>11</sub>	0 (0,0)	21 (100,0)	13 (61,9)	8 (38,1)	21
R <sub>12</sub>	0 (0,0)	51 (100,0)	6 (11,8)	45 (88,2)	51
R <sub>13</sub>	0 (0,0)	31 (100,0)	28 (90,3)	3 (9,7)	31
R <sub>14</sub>	0 (0,0)	31 (100,0)	13 (41,9)	18 (58,1)	31
R <sub>15</sub>	0 (0,0)	36 (100,0)	4 (11,1)	32 (88,9)	36
R <sub>16</sub>	1 (1,6)	59 (98,4)	49 (81,7)	11 (18,3)	60
<b>Total</b>	<b>25 ± (4,2)</b>	<b>575 ± (95,8)</b>	<b>346 ± (57,7)</b>	<b>254 ± (42,3)</b>	<b>600</b>

Tabela 2. Distribuição das freqüências dos rebanhos examinados, segundo as taxas de prevalência estimadas.

Prevalência		Freqüência de rebanhos (%)	
		Brucelose	Leptospirose
Baixa	( 0 – 10 %)	14 (87,5)	0 ( 0,0)
Média	(10 – 30 %)	2 (12,5)	3 (18,7)
Alta	( > 30 %)	0 ( 0,0)	13 (81,3)
<b>Total</b>		<b>16 (100)</b>	

Esses resultados demonstraram que em praticamente todas as situações, houve um contraste significativo entre as prevalências da leptospirose (57,7%), com todos os rebanhos positivos, e da brucelose (4,2%), com apenas um terço deles apresentando positividade de animais para essa infecção. Portanto, a Brucelose mantém-se nos rebanhos leiteiros de Pernambuco e a leptospirose encontra-se amplamente disseminada na população bovina estudada. Essa prevalência baixa da brucelose foi compatível com a de levantamentos anteriores realizados em Pernambuco (SILVA et al., 2000), Alagoas (NUNES, 2001), Rio Grande do Norte (SOUZA et al., 1999) e na Paraíba (ALVES et al., 1991). Entretanto, foi inferior aos 19,3% de positividade detectados por Almeida et al. (2000) em 150 amostras procedentes de vacas do município de Sanharó-PE.

Diferentemente da brucelose, a alta prevalência da leptospirose obtida neste estudo (57,7%) contrastou com os 2,0% encontrados anteriormente em Pernambuco (ALMEIDA et al.,

2000) e em outros estados da Região Nordeste, como Rio Grande do Norte, Bahia, Paraíba, Maranhão, Piauí, Ceará e Alagoas (FÁVERO et al., 2001). Todavia, os resultados deste trabalho foram compatíveis com os achados de Oliveira (1999), que estimou em 47,63% a prevalência da doença em 464 bovinos leiteiros do município de Garanhuns-PE.

Globalmente, ao consubstanciar os resultados deste estudo com os obtidos em outros levantamentos soroepidemiológicos realizados em Pernambuco (OLIVEIRA, 1999; ALMEIDA et al., 2000; SILVA et al., 2000), preservadas as peculiaridades metodológicas e a natureza temporal de cada estudo, é possível estimar as prevalências da Brucelose e da Leptospirose em 6,6% (56/847) e 47,0% (570/1214), respectivamente.

A ampla maioria das amostras examinadas (85,6% - 161/188), quando submetidas ao sorodiagnóstico da leptospirose, apresentou reações aos antígenos *patoc* e *hardjo*, especialmente em títulos aglutinantes entre 200 e 800 (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição de títulos aglutinantes em amostras séricas de bovinos, nas diluições de 1:100 a 1:1600, segundo os antígenos utilizados laboratorialmente.

Antígenos	Títulos					Total	
	100	200	400	800	1600	Abs <sup>3</sup>	%
<i>patoc</i>	4	42	34	12	1	93	49,5
<i>hardjo</i>	...	11	12	7	4	34	18,1
Outros <sup>1</sup>	15	16	21	6	3	61	32,4
<b>Subtotal<sup>2</sup></b>	4	53	46	19	5	127	67,6
<b>Total</b>	19 (10,1%)	69 (36,7%)	67 (35,6%)	25 (13,3%)	8 (4,3%)	188	100

<sup>1</sup>*australis, bratislava, autumnalis, butembo, castellanis, bataviae, canicola, whitcombi, cinoptery, grippotyphosa, hebdomadis, copenhageni icterohaemorrhagiae, javanica, panama, pomona, pyrogenes, wolffi, shermani, tarassovi, andamana, sentot.*  
<sup>2</sup>Somatório das reações a *patoc* e a *hardjo*. <sup>3</sup>Valor Absoluto.

Estes achados apontam para duas possibilidades: a) existência de associação entre as reações a *patoc* e a de algum sorovar patogênico regional; b) envolvimento da variante sorológica *hardjo* com a baixa produtividade dos rebanhos examinados.

Com relação à primeira possibilidade, não se pode inferir à variante sorológica *patoc* um potencial diagnóstico para leptospirose bovina devido à inobservância de reações cruzadas entre amostras patogênicas e *patoc* em ensaios experimentais executados com soros animais (MAUERMANN et al., 1993), analogamente as produzidas em soro humano. Todavia, as reações à *patoc* obtidas nesta pesquisa, desde que eliminada a questão dos títulos empatados, podem indicar reações com algum sorovar patogênico regional, antigenicamente distinto da coleção de antígenos presentemente utilizados, cujo esclarecimento definitivo só poderá ser obtido a partir do monitoramento dos animais reativos com repetição de testes sorológicos e inclusão de provas de isolamento e tipificação (informação verbal)<sup>6</sup>.

A segunda possibilidade, relativa aos problemas de baixa fertilidade de vários dos rebanhos examinados, como repetições de cio, ocorrência de abortos e nascimentos de bezerros debilitados, não puderam ser devidamente esclarecidos neste estudo pelo fato de que a maioria das propriedades não adotava protocolo de anotações zoonosológicas adequadas, impossibilitando informações mais precisas sobre estação de coberturas, intervalos entre partos e produção leiteira, entre outras, que seriam necessárias para se acompanhar a eficiência reprodutiva dos bovinos. Entretanto, relevância clínica deve ser dada à frequência de reatividade de amostras a variante *hardjo* (18,1%), que classicamente é incriminada pelos problemas reprodutivos em bovinos (RADOSTITS et al., 2002), devido a sua ampla distribuição nas três mesorregiões de origem dos rebanhos: Metropolitana (35,3% - 12/34), Mata Pernambucana (17,6% - 6/34) e Agreste (47,0% - 16/34). O Agreste constitui-se na mais tradicional região de bacias leiteiras do Estado de Pernambuco.

Um fator que pode ter contribuído para a ampla soropositividade à leptospirose em todas as propriedades e nas três mesorregiões mencionadas foi à alta pluviosidade observada no período de colheita, que se estendeu de janeiro a outubro de 2002. Sabe-se que a *Leptospira*, sob condições edafoclimáticas favoráveis, apresentam uma elevada sobrevivência no meio ambiente, fato que potencializa sua transmissão dos bovinos infectados para os sadios.

Por outro lado, a prevalência baixa da brucelose observada na ampla maioria das criações (Tabelas 1 e 2), com exceção das estimadas para os rebanhos R<sub>1</sub> (17,9%) e R<sub>2</sub> (16,5%), deveu-se, provavelmente, aos efeitos positivos de um conjunto de ações sanitárias oficiais<sup>1</sup> implementadas ao longo das últimas décadas em praticamente todas as regiões do país.

Nesse contexto, os ensaios soroepidemiológicos tornam-se uma importante ferramenta de combate a essas infecções, pois, ao permitirem a atualização de dados e o redimensionamento de suas magnitudes nas diversas regiões do país, criam as condições básicas necessárias para o saneamento dos rebanhos em diferentes situações clínico-epidemiológicas.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que se deve incluir a brucelose e a leptospirose no diagnóstico diferencial de doenças reprodutivas de bovinos desta região.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, H. J. O.; MOTA, R. A.; NASCIMENTO, S. A. Prevalência de bovinos sororeagentes para *Brucella abortus*, *Leptospira interrogans* e Vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em bovinos do município de Sanharó – PE. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 3, n. 2, p. 93 – 101, 2000.
- ALVES, C. J.; ALBUQUERQUE, A. X.; LEITE, E. A. Situação Soroepidemiológica da Brucelose Bovina na Depressão de Patos – PB, no período de junho de 1991 a julho de 1992. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária de Universidade Federal da Bahia**, Bahia, v. 16, n. 1, p. 1 – 7, 1991.
- ASTUDILLO, V. M. **Encuesta por muestreo para estudios epidemiológicos en poblaciones animales**. Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Febre Aftosa, 1979. 60p. (Série de Manuales Didáticos n. 12).
- BRASIL. Instrução Normativa nº 2, de 10 de Janeiro de 2001. Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 11, p. 11 – 17, 16 janeiro 2001. Seção I. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/dda/diagnostico.htm>>. Acesso em: 11 janeiro 2003.

BRASIL. Manual de Leptospiriose. Ministério da Saúde. **Fundação Nacional de Saúde**. 3 ed. rev. – Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1997, p. 98.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. **Enfermidades Infeciosas dos Mamíferos Domésticos**, Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 843p.

FÁVERO, A. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A. et al. Leptospiriose Bovina – Variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1948 a 1997 em rebanhos de 21 Estados do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 29 – 35. 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES (FAO). **Animal Health Yearbook**, Roma, 1988. (FAO - Animal Production and Health Series, 28)

GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**. v. 13, n. 1, p. 81 - 85, 1965.

MAUERMANN, U.; WIEGAND, D.; MANZ, D. et al Use of nonpathogenic *Leptospira* strains as diagnostic antigens for detection of *Leptospira* infections in cattle. Germany. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, Hannover, v.106, n. 9, 296 - 299, 1993.

NICOLETTI, P. **Brucelose: as técnicas de controle**. Imagem Rural Leite. n. 53, p. 8 – 12, 1998.

NUNES, A. C. B. T. **Prevalência da Brucelose Bovina em Rebanhos Leiteiros da Microrregião de Batalha – AL**. 2001, 37f. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

OFFICE INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES. **CÓDIGO ZOOSANITÁRIO INTERNACIONAL** 11a edición, 2001. Disponível em: <http://www.oie.int>., Acesso em: 11 janeiro 2003.

OLIVEIRA, A. A. F. **Soroprevalência da Leptospiriose Bovina no Município de Garanhuns – PE**. 1999, 35f. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1999.

PAULIN, L. M.; FERREIRA NETO, J. S. A Experiência Brasileira no Combate à Brucelose Bovina. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 105 – 112, 2002.

PRESCOTT, J. F.; MILLER, R. B.; NICHOLSON, V. M. et al. Seroprevalence and association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontario. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ontário, v. 52, n. 2, p.210-15, 1988.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária – Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equínos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 97-109, 1970.

SHETTIGARA, P. T. Eradication of bovine leukemia virus infection in commercial dairy herds using the agar gel immuno-diffusion test. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 50, p. 221-6, 1986.

SILVA, L. B. G.; RABELO, S. S. A.; MOTA, R. A. et al. Pesquisa de Anticorpos Anti-*Brucella* em bovinos leiteiros do Município de Gravatá – PE (Resultados Preliminares). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 27., 2000, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 2000. p. 74.

SOUZA, M. F.; LOPES, F. C.; AZEVEDO, E. O. et al. Prevalência de Brucelose bovina em área de assentamento rural no município de Riachuelo – RN. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4, 1999. Recife, **Anais...** Recife: SPEMVE, 1999. p. 261 – 262.

UNIVERSITY OF BELGRADE; ROAYAL TROPICAL INSTITUTE. **Leptospira classification**. Amsterdam, 1997. Disponível em: < <http://www.vet.bg.ac.yu/lepto/eti/serovars/index.msq>>. Acesso em: 17 fevereiro 1999.

VASCONCELLOS, S. A.; JÚNIOR, O. B.; UMEHARA, O. et al. Leptospiriose Bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do sul. Período de janeiro a abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p.7-15, 1997.