

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-NEOSPORA CANINUM, BRUCELLA SP. E LEPTOSPIRA SPP. EM BÚFALOS (*BUBALUS BUBALIS*) CRIADOS NA AMAZÔNIA

R.B. Viana^{1*}, C. Del Fava², A.C.B. Moura¹, E.C. Cardoso³,
C.V. de Araújo⁴, B.M. Monteiro¹, E.M. Pituco², S.A. Vasconcelos⁵

¹Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto da Saúde e Produção Animal, Av. Tancredo Neves, 2501, CEP 66077-530, Belém, PA, Brasil. E-mail: rinaldo.viana@ufra.edu.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estabelecer a ocorrência de anticorpos contra neosporose, brucelose e leptospirose em alguns rebanhos bubalinos da Amazônia. Foram colhidas 212 amostras de sangue de búfalas, na Ilha do Marajó (n = 135) e na região nordeste do Estado do Pará (n = 77). Examinaram-se 212 amostras submetidas à prova de ELISA para pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* utilizando o kit (HerdeChek - IDEXX Laboratories, USA); 160 amostras de soro utilizando a prova de fixação de complemento (FC) para pesquisa de anticorpos anti-*Brucella* sp.; e 205 amostras através do método de sorroaglutinação microscópica (SAM) para pesquisar anticorpos contra *Leptospira* spp., utilizando uma bateria de 27 antígenos. A frequência de búfalas com anticorpos contra *N. caninum*, *Brucella* sp. e *Leptospira* spp. observada foi, respectivamente, 88,21%, 3,75% e 80,00%. As análises estatísticas foram realizadas pela prova de qui-quadrado (χ^2 , p < 0,05). Concluiu-se que não houve uma variação da prevalência de anticorpos contra essas doenças em função da idade do animal e que a elevada presença de anticorpos contra *N. caninum* e *Leptospira* spp. demonstrou claramente a necessidade de um controle sanitário mais efetivo para essas enfermidades. Constatou-se ainda que a reduzida prevalência de anticorpos anti-*Brucella* sp. indicou que o controle aplicado nas fazendas para essa doença tem sido eficaz.

PALAVRAS-CHAVE: *Neospora*, *Brucella*, *Leptospira*, búfalos, Amazônia.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF ANTIBODIES AGAINST *NEOSPORA CANINUM*, *BRUCELLA* SP. AND *LEPTOSPIRA* SPP IN BUFFALOES (*BUBALUS BUBALIS*) RAISED IN AMAZÔNIA, BRAZIL. This study was aimed at establishing the occurrence of antibodies against neosporosis, brucellosis and leptospirosis in some herds in the Amazônia region. A total of 212 blood samples from buffaloes from the Island of Marajó (n = 135) and in Pará State (n = 77) were collected. A total of 212 serum samples were submitted to the ELISA test for antibodies to *Neospora caninum* using the kit (HerdeChek - IDEXX Laboratories, USA); 160 serum samples were examined for *Brucella* sp. using the complement fixation test (CF); 205 samples were examined for *Leptospira* spp., using the microscopic agglutination test (MAT) with a battery of 27 antigens. The frequency of buffaloes with antibodies against *Neospora caninum*, *Brucella* sp. and *Leptospira* spp. was 88.21%, 3.75% and 80.00% respectively. Statistical analyses were performed by the chi-square test (p < 0.05). It was concluded that there was no variation in the prevalence of antibodies against *Neospora caninum*, *Brucella* sp. and *Leptospira* spp. related to the age of the animals, and that the high presence of antibodies against *Neospora caninum* and *Leptospira* spp. clearly demonstrates the need for a more effective control of these two diseases. The low brucellosis prevalence might indicate efficient control measures for this disease.

KEY WORDS: *Neospora*, *Brucella*, *Leptospira*, buffaloes, Amazônia.

²Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, São Paulo, SP, Brasil.

³Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Veterinária, Niterói, RJ, Brasil.

⁴Universidade Federal do Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

⁵Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Laboratório de Zoonoses Bacterianas, São Paulo, SP, Brasil.

O Brasil tem atualmente um rebanho de cerca de 3,5 milhões de cabeças de búfalos (PERERA, 2005), concentrados principalmente nos estados do Pará, Amapá, Rio Grande do Sul e São Paulo, os quais somam cerca de 70% do rebanho bubalino nacional.

A boa produtividade e a capacidade de fácil adaptação dos bubalinos às condições geoclimáticas brasileiras, aliado ao rápido desenvolvimento ponderal dos animais, têm favorecido o incremento e o desenvolvimento da bubalinocultura em várias regiões do Brasil.

No entanto, para a viabilidade econômica da criação de búfalos, além da qualidade dos produtos a serem comercializados e da manutenção da saúde dos animais, torna-se necessário o conhecimento dos fatores que possam afetar o seu desempenho reprodutivo, visto que o desenvolvimento econômico de um processo de criação está intimamente relacionado com a fertilidade (VIANA, 2001). Deste modo, o manejo sanitário pode estar intrinsecamente relacionado com o sucesso da pecuária, sobretudo no que diz respeito às doenças infectocontagiosas que comprometem a eficiência reprodutiva.

Entre as doenças que causam abortamento em búfalas, podem-se destacar a brucelose e a leptospirose. Todavia, outra enfermidade, a neosporose, reconhecida como a maior causa de abortamentos infecciosos em bovinos no mundo (PEREIRA-BUENO *et al.*, 2003), pouco se sabe sobre seu efeito em bubalinos (FUJII, 2000; FUJII *et al.*, 2001a).

Os registros de infecção em búfalos pelo *Neospora caninum* são raros. No Egito, DUBEY (1998) encontraram 68% de búfalos sororreagentes ao teste de aglutinação direta (NAT). Em estudos realizados na Bahia e em São Paulo, também se observaram búfalos com anticorpos para *N. caninum* (FUJII, 2000).

Em São Paulo, FUJII *et al.* (2001a) encontraram 147 (66,2% - teste de aglutinação direta) e 142 (63,9% - reação de imunofluorescência indireta) animais soropositivos. Todavia, não houve estimativas de taxas, nem notícia de surtos epidêmicos de abortamentos, mesmo registrando-se um percentual de 7% de morte embrionária, sem causa definida nesse Estado (BARUSELLI *et al.*, 1997).

Esses resultados, indicando elevada prevalência desse parasita nos búfalos do Brasil, justificaram uma investigação da participação do *N. caninum* nos casos de abortamento em búfalos (FUJII *et al.*, 2001a). No Estado do Pará, GENNARI *et al.* (2005) verificaram através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) a ocorrência de 70,9% (139/196) de búfalos reagentes.

A brucelose nos bubalinos tem sido observada em várias regiões, entretanto tem sido mais frequentemente reportada em países asiáticos como a Índia e o Paquistão, que possuem o maior rebanho bubalino do mundo (MATHIAS *et al.*, 1998).

No Estado de Goiás, observou-se 17,3% de bubalinos sororreagentes e, em São Paulo, os índices de positividade para brucelose foram de 43% (soroaglutinação rápida) e 5,6% (card test) segundo MOLNÁR *et al.* (2001). Também em São Paulo, ROXO *et al.* (1994) descreveram taxas de 7% de búfalos reagentes. No Estado do Pará, LÁU; SINGH (1986) observaram 1,2% e 8,6% de bubalinos soropositivos vacinados e não vacinados, respectivamente. MOLNÁR *et al.* (2001) encontraram 17,52% de prevalência soropositiva em búfalos do Estado do Pará, através de ensaio imunoenzimático (cELISA). GUEDES *et al.* (1997) encontraram em três rebanhos da Ilha de Marajó, 20,7% (cELISA) de bubalinos positivos.

A leptospirose em búfalos é descrita em vários países como Rússia, Filipinas, Egito, Bulgária, Índia, China e Brasil, onde se mostra bastante incidente em São Paulo e no Estado do Pará (LÁU, 1999). Em um estudo realizado por FUJII *et al.* (2001b), 50,5% dos búfalos pesquisados pela soroaglutinação microscópica (SAM) foram considerados positivos para *Leptospira* spp. MACHADO; RIBEIRO (2002) encontraram nas faixas etárias de 2 a 4, e de 4 a 7 anos, maior soropositividade do que na faixa etária de animais com mais de 7 anos.

Levando-se em consideração a importância desses agentes causadores de doenças abortivas, sua alta prevalência mundial, e a importância dos inquéritos epidemiológicos, o objetivo deste trabalho foi verificar a pesquisa de anticorpos contra *N. caninum*, *Brucella* sp. e *Leptospira* spp. em amostras de soros de búfalos criados no Estado do Pará.

As amostras de sangue estudadas nessa pesquisa foram colhidas de búfalas criadas nos municípios de Soure (n = 49, 15,2% do rebanho) e Cachoeira do Arari (n = 86; 22,9% do rebanho), ambos localizados na Ilha de Marajó; e Nova Timboteua (n = 47; 22,5% do rebanho), e Ipixuna do Pará (n = 30; 10% do rebanho) ambos situados na região nordeste do Estado do Pará, sendo uma fazenda em cada município. Os animais foram alocados em quatro grupos, de acordo com a idade, sendo o grupo A, de 0 a 3 anos (para o diagnóstico da brucelose foram utilizados apenas animais com mais de 3 anos de idade nesse grupo); grupo B, de 4 a 6 anos; grupo C, de 7 a 8 anos e grupo D, maiores de 9 anos.

As amostras de sangue foram colhidas, nos meses de dezembro de 2004 e janeiro de 2005, por punção da veia jugular externa, utilizando-se um sistema para colheita a vácuo, constituído de agulhas 25 x 8 mm (21 g) para múltipla colheita, acoplados a tubos siliconizados sem anticoagulante com capacidade de aspiração para 10 mL de sangue. Depois de dessoradas, as amostras foram centrifugadas a 800G, durante 15 minutos. Os soros sobrenadantes foram cuidadosamente aspirados e alíquotados em tubos cônicos tipo

ependorff e congelados a -20° C para posterior processamento.

Para o diagnóstico dos anticorpos contra *N. caninum*, 212 amostras foram examinadas pelo teste ELISA no Laboratório de Vírus de Bovídeos no Instituto Biológico, Município de São Paulo, Estado de São Paulo, utilizando-se um conjugado antibovino HRPO, com ponto de corte 1:100, conforme recomendação do fabricante.

Para se detectar anticorpos contra *Brucella* sp., 160 amostras foram examinadas pela prova de fixação de complemento (FC), no Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/Belém) no Estado do Pará. Utilizou-se a microtécnica do teste de fixação de complemento, com ponto de corte de 1:4 e incubação a 37° C durante as duas fases da reação, com cinco unidades hemolíticas 50% de complemento. Como antígeno, foi usada suspensão de *B. abortus* amostra 1.119/3 inativada pelo calor, e como complemento foi usado soro de cabra.

A pesquisa de agentes da leptospirose ocorreu em 205 amostras de soro bubalino submetidas ao método de soro-aglutinação microscópica (SAM) para pesquisa de *Leptospira* spp., realizada no Laboratório de Zoonoses Bacterianas do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

As amostras foram testadas pelo método SAM, utilizando-se uma bateria de 27 antígenos das seguintes variantes sorológicas: *australis*; *autumnalis*; *bratislava*; *butembo*; *castellonis*; *bataviae*; *canicola*; *whitcombi*; *cynopteri*; *grippotyphosa*; *hebdomadis*; *copenhageni*; *icterohaemorrhagiae*; *javanica*; *panama*; *pomona*; *fronn*; *pyrogenes*; *hardjo* (*hardjoprajitno*); *shermani*, *tarassovi*, *andamana*, *patoc*, *sentot* e *mini*. Os testes diagnósticos foram realizados de acordo com as normas exigidas pela ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (2005), considerando-se um ponto de corte de 1:100.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste do qui-quadrado (X^2), para testar associações entre positivos ou negativos com as classes de idade, adotando o nível de significância de 0,05.

Os resultados obtidos para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum*, *Brucella* sp., *Leptospira* spp. em búfalos criadas no Estado do Pará estão expressos na Tabela 1.

O resultado encontrado de 88,21% de soropositividade (ELISA) para *N. caninum* indica que esse parasita pode estar disseminado nos rebanhos bubalinos da região, porém, sem manifestação clínica explícita. Os resultados obtidos nessa pesquisa foram superiores aos 66,2% (NAT) e 63,9% (RIFI) obtidos por FUJII *et al.* (2001a) em búfalos no sudeste do país, e aos 70,9% (RIFI) de búfalos soropositivos que GENNARI *et al.* (2005) descreveram também no Estado do Pará. A maior porcentagem de animais soropositivos encontrados nessa pesquisa, frente àquelas descritas por outros autores, pode estar relacionada às diferentes técnicas ou pontos de corte utilizados, bem como ao diferente número de animais estudados. Não houve uma associação significativa entre a porcentagem de animais soropositivos e a idade animal (Tabela 2), conforme descrito por GENNARI *et al.* (2005).

A frequência encontrada de anticorpos anti-*B. abortus* foi de 3,75% de animais positivos (Tabela 1), resultados esses, menores que os descritos por MÓLNAR *et al.* (2001b) que, através do teste cELISA, encontraram 17,52% de búfalos positivos no Estado do Pará. Os valores obtidos nesse estudo também foram menores que os de GUEDES *et al.* (1997), os quais encontram 20,7% de búfalos sororreagentes na Ilha do Marajó, aproximando-se apenas aos de LAU; SINGH (1986) que encontraram uma prevalência de 1,2% de búfalos (vacinados) positivos no Estado do Pará. Os menores resultados apresentados contrariam os encontrados pelos demais pesquisadores, provavelmente em virtude do controle da brucelose com vacinações, exames sorológicos periódicos e descarte de animais positivos. O fato do teste ELISA ser mais sensível que o teste de fixação de complemento também pode ter contribuído para os maiores valores obtidos por aqueles autores. Não houve uma associação significativa entre a idade e a ocorrência de anticorpos anti-*Brucella* sp. nos animais estudados (Tabela 3).

Tabela 1 - Resultados das provas sorológicas para anticorpos anti-*Neospora caninum*, *Brucella* sp. e *Leptospira* spp. em amostras de búfalos criadas no Estado do Pará, 2008.

Agente	Positivos	%	Negativos	%	Total
<i>N. caninum</i>	187/212	88,21	25/212	11,79	212
<i>Brucella</i> sp.	6/160	3,75	154/160	96,25	160
<i>Leptospira</i> spp.	164/205	80,00	41/205	20,00	205

Tabela 2 - Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* (ELISA) em bubalinos de acordo com a idade no Estado do Pará, 2008.

Grupo etário	+	%	-	%	Total	%
A (0 a 3 anos)	24	11,32	10	4,72	34	16,04
B (4 a 6 anos)	51	24,06	5	2,35	56	26,41
C (7 e 8 anos)	48	22,64	4	1,89	52	24,53
D (≥ 9 anos)	64	30,19	6	2,83	70	33,02

χ^2 : 0,7043 (p > 0,05).

Tabela 3 – Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella* spp. (FC) em bubalinos de acordo com a idade no Estado do Pará, 2008.

Grupo etário	+	%	-	%	Total	%
A (3 anos)	1	0,62	28	17,50	29	18,13
B (4 a 6 anos)	3	1,88	36	22,50	39	21,38
C (7 e 8 anos)	0	0,00	40	25,00	40	25,00
D (≥ 9 anos)	2	1,25	50	31,25	52	35,49
Total	6	3,75	154	96,25	160	100,00

χ^2 : 3,2464 ($p > 0,05$).

Pouco se sabe sobre a situação epidemiológica dos bubalinos da região Amazônica em relação à leptospirose, mas devido ao manejo dos animais em áreas predominantemente alagadas, provavelmente explicaria a soropositividade de 80% das amostras analisadas pela técnica de Aglutinação Microscópica (Tabela 1). Essa elevada prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* pode ser atribuída, possivelmente, ao ineficiente manejo sanitário dos rebanhos bubalinos frente a essa enfermidade, sem diagnóstico rotineiro ou deficiente controle, sem vacinações e descarte dos animais positivos. A análise dos resultados também demonstrou que não houve diferença significativa em relação à idade dos animais (Tabela 4), discordando de MACHADO; RIBEIRO (2002) que encontraram maior prevalência em animais de 2 a 4 e de 4 a 7 anos.

Os títulos observados no presente estudo variaram de 100 a 1.600. Porém, em todas as fazendas estudadas, embora haja relatos de abortamento em búfalas vacinadas e negativas para brucelose, não há diagnóstico da leptospirose. Todavia, segundo RIBEIRO *et al.* (2000), títulos de soroaglutinação entre 200 e 1.600 são comuns em animais doentes e caem a menos de 200 no período de um ano. Antes de ocorrer o abortamento, os títulos aglutinantes frequentemente alcançam seus picos máximos. ADLER; MOCTEZUMA (2009) afirmaram que o critério para se considerar um resultado indicativo da ocorrência de infecção por *Leptospira* spp. é geralmente aceito com títulos ≥ 400 (SAM) na presença de sinais clínicos.

As leptospirosas de maior frequência encontrada nos búfalos pesquisados foram as do sorogrupo *Autumnalis* variante *autumnalis* e sorogrupo *Sejroe* variantes *hardjo* e *wolffi*. Em bovinos no Brasil além dos sorovares *hardjo*, *wolffi* também são descritos os sorovares *pomona*, *grippotyphosa*, *icterohaemorrhagiae* e *caniloca* (LEMONS; ALMEIDA, 2005).

A elevada presença de anticorpos contra-*N.caninum* e *Leptospira* spp. nos rebanhos bubalinos no Estado do Pará demonstrou claramente a necessidade de um controle sanitário mais efetivo, sobretudo para a

Tabela 4 - Ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. (SAM) em bubalinos de acordo com a idade no Estado do Pará, 2008.

Grupo etário	+	%	-	%	Total	%
A (0 a 3 anos)	36	17,56	3	1,46	39	19,12
B (4 a 6 anos)	53	25,85	12	5,85	65	31,37
C (7 e 8 anos)	35	17,07	11	5,37	46	22,55
D (≥ 9 anos)	40	19,51	15	7,32	55	26,96
Total	164	80,00	41	20,00	205	100,00

χ^2 : 1,3790 ($P > 0,05$).

leptospirose que sabidamente causa abortamento em búfalas. A reduzida prevalência de animais positivos à *Brucella* sp. indicou que o controle aplicado nas fazendas para essa doença tem sido eficaz. Todavia, há a necessidade da manutenção dessas medidas profiláticas para se reduzir ainda mais a taxa de brucelose nos rebanhos bubalinos no Norte do Brasil. Não houve uma variação da prevalência de anticorpos contra *N. caninum*, *Brucella* sp. e *Leptospira* spp. em função da idade do animal.

AGRADECIMENTOS

À Associação Paraense de Criadores de Búfalos (APCB), pelo suporte financeiro dado a essa pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ADLER B.; MOCTEZUMA, A. L. P. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 2009. [in press].
- BARUSELLI, P.S.; VISINTIN, J.A.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C.; AMARAL, R. Early pregnancy ultrasonographic diagnosis and embryonic mortality occurrence in buffalo. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 5., 1997, Caserta, Italy. *Resumos*. Caserta: 1997. p.776-778.
- DUBEY, J.P., ROMAND, S., HILALI, M., KWOK, O.C.H., THULLIEZ, P. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. *International Journal for Parasitology*, v.28, p.527-529, 1998.
- FUJII, T.U. *Frequência de ocorrência de anticorpos contra Neospora caninum em búfalos (Bubalus bubalis), no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo*. 2000. 79f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública e Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FUJII, T.U.; KASAI, N.; NISHI, S.M.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Soroprevalência of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the southeastern region of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.99, p.331-334, 2001a.

FUJII, T.U.; KASAI, N.; VASCONCELOS, S.A.; RICHTZENHAIN, L.J.; CORTEZ A.; SOUZA S.L.P.; BARUSELLI, P.S.; NISHI, S.M.; FERREIRA, F.; GENNARI, S.M. Anticorpos anti- *Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em búfalas da região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Arquivo Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, n.2, p.5-9, 2001b.

GENNARI, S.M.; RODRIGUES, A.A.R.; VIANA, R.B.; CARDOSO, E.C. Occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from north region of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.134, n.25, p.169-171, 2005.

GUEDES, V.T.M.; MÓLNAR, L.; MÓLNAR, E. SILVA, A.O.A. Exames sorológicos e bacteriológicos a respeito da brucelose bubalina no Estado do Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25., 1997, Gramado, RS. *Resumos*. Gramado: 1997.

LÁU, H.D. *Doenças em búfalos no Brasil: diagnóstico, epidemiologia e controle*. Belém: Embrapa-CPATU, 1999. 202p.

LÁU, H.D.; SINGH, N.P. Distribuição e prevalência da brucelose em búfalos no Estado do Pará. *Boletim de Pesquisa da Embrapa-CPATU*, n.76, p.5-15, 1986.

LEMOS, R.A.A.; ALMEIDA, A.P.M.G. Leptospirose Bovina In: LEMOS, R.A.A. (Ed.). *Leptospirose bovina, campilobacteriose genital bovina, tricomonose bovina, neosporose em bovinos*. Campo Grande: Ed. UFMS, 2005. p.9-36.

MACHADO, M.M.; RIBEIRO, S.C. de A. Prevalência de leptospirose em bovinos leiteiros. *Veterinária Notícias*, v.8, n.1, p.91-95, 2002.

MATHIAS, L.A.; DEL FAVA, C.; GIRIO, R.J.S.; SAMARA, S.I. Estimated prevalence of brucellosis in buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the Ribeira Valley region, State of São Paulo, Brazil. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, v.4, n.51, p.289-292, 1998.

MOLNÁR, L.; FREITAS, C.M.K.H. de; MOLNÁR, E.; LIMA, E.S.C. Prevalência da brucelose em bubalinos no Estado do Pará. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.25 n.2, 2001.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. *Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines*. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/en_index.htm>. Acesso em: 20 mar. 2008.

PEREIRA-BUENO, J.; QUINTANILLA-GOZALO, A.; PÉREZ-PÉREZ, V.; ESPI-FELGUEROSO, A.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L.M. Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Veterinary Parasitology*, v.111, n.2-3, p.143-152, 2003.

PERERA, B.M.A.O.; ABEYGUNAWARDENA, H.; VALE, W.G.; CHANTALAKHANA, C. *Livestock and wealth creation - improving the husbandry of animals kept by poor people in developing countries, livestock production programme*. London: Natural Resources International Limited, 2005.

RIBEIRO, S.C. de A.; BISINOTO, D.P.; OLIVEIRA, P.R. de; Prevalência da leptospirose em fêmeas reprodutoras bovinas do município de Uberlândia, MG. *Veterinária Notícias*, v.6, n.1, p.69-75, 2000.

ROXO, E. BARUSELLI, P.S.; REIS, C.A.B.; LIMA, M.A.B.S.; PIORUM, M.L. Antibody level variation in buffaloes vaccinated against brucellosis with strain 19. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 5., 1994, São Paulo, SP. *Resumos*. São Paulo: 1994. v.3, p.440-442.

VIANA, R.B. *Influência da Gestação, parição e puerpério no hemograma de cabras da raça Saanen (Capra hircus), criadas no Estado de São Paulo*. 2001, 185f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. *Manual of Diagnostic tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 5th.ed. Paris: OIE, 2004. Disponível em <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00055.htm> Acesso em: 24 set. 2009.

Recebido em 19/6/08
Aceito em 20/5/09