

DIAGNÓSTICO DA FREQUÊNCIA DA BRUCELOSE BOVINA  
EM VACAS EM LACTAÇÃO NA BACIA LEITEIRA DE GOIÂNIA  
PELAS PROVAS DO ANEL DO LEITE E ROSA BENGALA<sup>1</sup>

CLÉVERSON SANTOS ACYPRESTE<sup>2</sup>, LUIZ ANTÔNIO FRANCO DA SILVA<sup>3</sup>, ALBENONES JOSÉ DE MESQUITA<sup>3</sup>,  
MARIA CLORINDA SOARES FIORAVANTI<sup>3</sup>, FRANCISCO DE CARVALHO DIAS FILHO<sup>3</sup>,  
LUDMILA SOUZA RAMOS<sup>4</sup>

1. Parte de Dissertação apresentada ao mestrado em Medicina Veterinária – Sanidade Animal – 1999.  
2. Professor da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UnB – Campus Univ. Darcy Ribeiro, CP 04585, CEP. 70 910-900; Fax: (0xx61)273-6593; e-mail: tutavet@unb.br  
3. Professor da Faculdade de Medicina Veterinária de Goiás – UFG  
4. Médica Veterinária – Agência Rural – Goiânia – GO.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o comportamento dos testes do anel do leite e do rosa bengala na triagem da brucelose bovina e verificar a frequência desta enfermidade em vacas em lactação na bacia leiteira de Goiânia, foram colhidas 106 amostras de leite em latões e 870 amostras de sangue de vacas em lactação de 45 propriedades rurais no raio de 100 km de Goiânia. As amostras de leite foram submetidas à prova do anel e o soro sanguíneo testado pela prova do rosa bengala. Os resultados encontrados foram 11,11% para

propriedades e 5,66% para amostras no teste do anel do leite enquanto o rosa bengala encontrou 1,74% de animais positivos e 17,78% de propriedades com animais infectados. As provas foram avaliadas entre si por meio do teste do  $\chi^2$ , não encontrando diferença estatística ( $P>0,05$ ), com uma concordância de 80% entre os resultados das duas provas. Os resultados encontrados pelo teste do anel do leite foram compatíveis com a avaliação sorológica individual determinada pelo rosa bengala.

PALAVRAS-CHAVE: Brucelose, teste do anel, rosa bengala, bovino.

ABSTRACTS

BOVINE BRUCELOSIS DIAGNOSIS IN NURSING COWS FROM GOIÂNIA'S DAIRY BELT,  
USING RING TEST AND ROSE BENGAL TEST

In order to verify the occurrence of bovine brucellosis in cows in nursing from Goiânia dairy belt and to evaluate the behavior of the tests ring and rose bengal in diagnosis of the disease, milk sample were collected from 106 milk pots and blood samples were drawn from 870 nursing cows in 45 farms located in a 100 Km distance from Goiânia Goiás Brazil. The milk samples were analyzed by the ring test and the blood serum were tested by rose bengal test in order to

detect brucellosis antibodies. The result by the ring test was 11,11% for farms and 5,66% for milk samples while the rose bengal test showed 1,72 % of positive animals and 17,78% of farms with infected animals. The tests were evaluated by the  $\chi^2$  test and it was observed that there was no statistical difference between them ( $p>0,05$ ). There was accordance of 80% between the tests.

KEY WORDS: Brucellosis, ring test, rose bengal, bovine.

## INTRODUÇÃO

A exploração de animais não especializados, a nutrição deficiente e os incipientes procedimentos sanitários são fatores que, geralmente, contribuem para que a bovinocultura brasileira seja deficitária. Dentre as causas de perdas nessa modalidade de exploração, a brucelose, por ser uma enfermidade infecto-contagiosa de caráter zoonótico e de grande ocorrência e por ocasionar graves perdas econômicas, suscita geral preocupação para a saúde pública (Lauar, 1983; Gonzáles Tomé, 1993). Para Langenegger (1992), o principal agente etiológico da brucelose bovina é a *Brucella abortus*. Os sinais clínicos desta infecção praticamente restringem-se ao abortamento que, geralmente, ocorre após o sexto mês de gestação. Com frequência, observam-se também neonatos enfermos, retenção de envoltórios fetais e, nos machos, orquite e/ou epididimite (Poester, 1997).

A brucelose bovina ocorre endemicamente em todo o território nacional, porém são poucos os estados que têm informações concretas sobre os percentuais desta infecção em seu rebanho. Para o Estado de Goiás, as divulgações de prevalência foram publicadas por Santana e Veiga (1977), e pelo Ministério da Agricultura (1988), com 9% e 11% respectivamente.

O isolamento da *Brucella* de líquidos e tecidos orgânicos constitui a prova definitiva para determinar a presença da infecção, apesar da dificuldade de utilização em grande escala, como requer um programa de controle da doença. O isolamento da bactéria deve ser usado quando ocorrerem abortos em uma propriedade sem que exista um histórico conhecido de brucelose, ou quando se pretendem utilizar as informações para fins epidemiológicos ou de investigação (Vanzini, 1995; Poester, 1997). Na prática, o diagnóstico da brucelose é feito por meio de testes sorológicos, em que se procuram anticorpos específicos anti-*Brucella* no soro e plasma sanguíneos ou líquidos orgânicos como leite, líquido seminal e muco vaginal (Gonzáles Tomé, 1993; Bercovich, 1998).

A normalização vigente para o diagnóstico da brucelose em bovinos no Brasil considera que poderão ser realizadas as provas de rotina sorologiação

rápida ou lenta. A prova do anel do leite deverá ser utilizada para determinar taxas de prevalência em rebanhos com amostras de leite composta. E como provas especiais poderão ser utilizados o rosa bengala, fixação do complemento, rivanol, mercaptoetanol e a prova do anel do leite para amostras individuais, entre outras, visando definir eventuais dúvidas para as provas de rotina (Ministério da Agricultura, 1991).

A prova do anel do leite é uma técnica usada para detectar rebanhos infectados ou potencialmente infectados (Sutherland, 1980). Essa prova pode ser usada na triagem em rebanho, ou individualmente, porém, em rebanhos com mais de mil animais, a sensibilidade do teste fica menos fidedigna (OIE, 1992). Entre as vantagens desta prova estão a praticidade, a segurança, a simplicidade e a possibilidade de ser utilizada na profilaxia da doença. Como desvantagens, existe o fato de ser restrita ao gado leiteiro, só aplicável em animais em lactação e esta sujeita a falso positivos em animais vacinados, após a idade indicada para a vacina B 19 (Chielle, 1989).

O teste com antígeno tamponado a um pH 3,65 e corado com rosa bengala, realizado em placa ou em cartão, indica a presença ou ausência de IgG, única imunoglobulina que reage no pH ácido (Poester, 1997). O rosa bengala, por ser de baixo custo e de fácil execução, tem sido bastante difundido na atualidade. Inúmeras avaliações comprovam sua superioridade sobre a sorologiação lenta, pois os animais recentemente infectados reagem mais cedo a esta prova e, na fase crônica, continuam reagindo por um tempo mais prolongado (Poester et al., 1978; Mathias, 1996).

Esse trabalho teve como objetivos diagnosticar a frequência de brucelose bovina na bacia leiteira de Goiânia e avaliar o comportamento dos testes do anel do leite e do rosa bengala na triagem da brucelose bovina no leite e no soro sanguíneo de vacas em lactação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Definiu-se como bacia leiteira de Goiânia uma área incluída em um raio de 100 km, que representa um percentual de 9,2 % do Estado de Goiás. As dimensões estabelecidas abrangem a área total da microrregião de Goiânia e áreas parciais de outras

seis: Anicuns, Anápolis, Rio dos Bois, entorno de Brasília, Meia Ponte e Pires do Rio. O rebanho bovino da região estudada é de aproximadamente 3.785.358 cabeças, ou 20,58% do rebanho total do Estado. Estima-se que o número de vacas ordenhadas na região em estudo seja de 762.657 animais. Este número representa 28,93 % das vacas ordenhadas em Goiás (Encidec, 1996).

Os animais em estudo foram as vacas de aptidão leiteira ou mista em lactação, provenientes de propriedades rurais, localizadas num raio de 100 km de Goiânia como ponto central.

Na determinação do tamanho da amostra utilizou-se a fórmula proposta por Stevenson (1981),  $N = Z^2 Pq/e^2$ , admitindo um grau de confiança de 95%, em que:

N = Tamanho da amostra

Z = Nível de significância

P = Prevalência esperada

q = (100-P)

e = margem de erro admitida

Para o cálculo, adotou-se o valor de 10% para a prevalência esperada, o que corresponde à média dos resultados publicados por Santana e Veiga (1977), e pelo Ministério da Agricultura (1988), referentes à prevalência da brucelose bovina no Estado, aceitando-se um erro máximo de 20% da prevalência a ser determinada no estudo. A partir da fórmula proposta determinou-se uma amostragem mínima de 865 animais, mas nessa avaliação colheram-se amostras de 870 bovinos. A fim de tornar aleatórias as escolhas dos locais a serem amostrados na escolha das propriedades, a região foi dividida em 443 quadrantes, e, por meio de sorteio, separaram-se para o estudo 45 quadrantes (10%). O sorteio desses quadrantes contemplou 36 municípios das sete microrregiões. O critério da escolha das propriedades a serem amostradas baseou-se na disponibilidade dos produtores, no sentido de permitir a colheita das amostras dentro de cada município sorteado.

A colheita das amostras de leite em cada propriedade foi realizada em latões de 50 litros de onde retiraram-se 30 ml (Chielle et al., 1989), que foram transportados para o laboratório de microbiologia do Departamento de Medicina Veterinária da EV/UFG,

utilizando-se como conservante Formol 0,01 % (uma gota para cada 10 ml de leite), conforme recomendado por Gonzáles Tomé (1993). No laboratório as amostras foram mantidas em geladeira (2° a 8°C) por 48 horas, período em que se completou a primeira etapa do teste do anel do leite. As amostras de sangue foram colhidas utilizando-se o sistema Vacutainer, por punção na veia coccígea. Posteriormente, foram transportadas para o laboratório, centrifugadas a 3000 rpm por cinco minutos. O soro foi dividido em várias alíquotas, que foram acondicionadas em tubos Eppendorf e congeladas (-20°C), para, posteriormente, serem submetidas aos testes individuais para diagnóstico de brucelose.

Foi elaborado e aplicado um questionário epidemiológico para cada propriedade rural onde as colheitas foram realizadas, na tentativa de recolher informações para o estudo epidemiológico da brucelose bovina na região envolvida no estudo. Neste questionário constavam questões relacionadas ao tipo e tamanho da exploração, assistência técnica, manejo, programa de vacinação, limpeza e manejo de dejetos, entre outros, e os parâmetros individuais dos animais. O questionário foi aplicado por ocasião da visita antes ou após a colheita de amostras de sangue. As perguntas foram formuladas em linguagem acessível, de forma a obter respostas o mais objetivas possível.

Na realização dos testes diagnósticos as amostras de leite, após serem conservadas em geladeira por 48 horas, foram homogeneizadas; delas separou-se, com o auxílio de uma pipeta, 1,0 ml, que foi colocado em tubo de ensaio. Em seguida adicionou-se uma gota (0,03 ml) do antígeno para a prova do anel do leite. Após a homogeneização da amostra, esta foi colocada em estufa, a 37° C, por uma hora. A leitura foi realizada conforme recomendações da OIE (1992) e Gonzáles Tomé (1993). As alíquotas do soro sanguíneo dos animais em estudo foram submetidas à soroaglutinação, pela prova do antígeno acidificado (rosa bengala), segundo descrição de Gonzáles Tomé (1993).

Para verificar se houve independência entre os resultados revelados pelas provas sorológicas, empregou-se o teste do  $c^2$  (qui-quadrado) de acordo com Siegel (1979). Para esta análise, os resultados

dos testes foram classificados em positivos ou negativos e a concordância calculada com base na seguinte fórmula, de acordo com Mathias et al. (1995):

$$C = \frac{\text{Positivos em ambos os testes} + \text{Negativos em ambos os testes} \times 100}{\text{Total de soros}}$$

Para comparar a capacidade das duas técnicas em identificar propriedades positivas, considerou-se como propriedade positiva, para o rosa bengala, aquela que apresentou no mínimo um animal positivo e, para prova do anel do leite, aquela propriedade com no mínimo uma amostra de latão positiva, conforme critérios descritos por Torres, Carvalho e Torres (1973).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 106 amostras de leite colhidas nas 45 propriedades rurais amostradas, para serem submetidas à prova do anel do leite, encontraram-se seis amostras positivas (5,66%), 14 suspeitas (13,21%) e 86 negativas (81,13%). E a prova do rosa bengala, realizada nas 870 amostras de soro sanguíneo, teve 15 resultados positivos (1,72%) e 855 negativos (98,28%) (Tabela 1).

Quanto à avaliação referente às propriedades, cinco (11,11%) foram positivas, sete (15,56%) tiveram amostras classificadas como suspeitas e 33 (73,33%) propriedades foram consideradas negativas na prova do anel do leite. Os resultados negativos e suspeitos foram agrupados na categoria de negativos, para efeito de cálculo da concordância entre os métodos diagnósticos utilizados, e são confrontados com os resultados obtidos pela prova do rosa bengala, que demonstrou 17,78% de propriedades positivas e 82,22% negativas (Tabela 2).

Os testes não apresentaram diferença estatística quando comparados entre eles ( $P > 0,05$ ) ao teste do  $\chi^2$  (1 GL) e mostraram uma concordância de 80,00% entre os seus resultados.

Das 106 amostras de leite submetidas à prova do anel, seis (5,66%) apresentaram reação positiva e das 45 propriedades analisadas em apenas cinco (11,11%) encontraram-se amostras positivas. Esses índices foram inferiores aos encontrados por Torres, Carvalho e Torres (1973) analisando amostras de leite em plataformas de laticínios. De um total de 1.346 amostras de leite provenientes de diversas proprie-

dades da bacia leiteira de Goiânia, os autores encontraram percentuais positivos de 19,21% para as propriedades e de 17,38% para as amostras. Costa (1990), utilizando a mesma prova, encontrou 32,60% de propriedades positivas na bacia leiteira de Belém. Chielle et al. (1989) relataram índices de 26,55% na região de Santa Maria (RS) e Salgado et al. (1995) citaram que 52,38% das propriedades da província de Guerreiro no México foram positivas. Todavia, Veloso et al. (1985) encontraram no entorno de Viçosa índices de 4,70%. Os resultados encontrados para as propriedades rurais da bacia leiteira de Goiânia demonstraram um decréscimo na prevalência, se comparados aos resultados de Torres, Carvalho e Torres (1973), que avaliaram a mesma região. Pode ser considerada uma prevalência intermediária, quando comparada aos índices das bacias leiteiras de Viçosa, Santa Maria e Belém, estudadas respectivamente por Veloso et al. (1985), Chiele et al. (1989) e Costa (1990).

**TABELA 1.** Resultado das provas do anel do leite e rosa bengala realizadas respectivamente em 106 amostras de leite e 870 amostras de sangue colhidas em 45 propriedades rurais avaliadas para o diagnóstico da brucelose bovina na bacia leiteira de Goiânia no período de janeiro a dezembro de 1998.

	Número	Positivas		Suspeitas		Negativas	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Leite	106	06	5,66	14	13,21	86	81,13
Soro	870	15	1,74	-	-	855	98,26

**TABELA 2.** Número e percentagem de propriedades positivas e negativas em relação aos testes para diagnóstico da brucelose bovina realizados no leite e nos soros sanguíneos de fêmeas bovinas da bacia leiteira de Goiânia, no período de janeiro a dezembro de 1998.

Resultados	Teste diagnóstico	
	Anel do leite	Rosa bengala
Positivo	5 (11,11%)	08 (17,78%)
Negativo	40 (88,89%)	37 (82,22%)
Total	45 (100,00%)	45 (100,00%)

No presente trabalho a frequência de brucelose utilizando o teste do anel do leite pode ter sido influenciada pela presença de mastite subclínica, uma vez que Andrade (1997) detectou uma prevalência de 39,8% dessa enfermidade em vacas submetidas à ordenha mecânica na bacia leiteira de Goiânia. Segundo Chielle et al. (1989) e OIE (1992), a prova do anel do leite tem mostrado ser um método prático, fundamental no diagnóstico da brucelose para localizar propriedades infectadas; porém, de forma isolada não é confiável para diagnóstico da enfermidade. Essa prova deve ser indicada para rebanhos com baixos índices de mastite bovina, pois a afecção pode interferir nos resultados. Os leucócitos, as células de descamação da glândula mamária e provavelmente alguns componentes antigênicos existentes no leite podem reagir com o antígeno da brucelose causando resultados falsos positivos. Para o diagnóstico definitivo, é necessário associar esse teste a outras provas sorológicas.

Na avaliação do questionário verificou-se que não foi possível obter informações suficientes para caracterizar o comportamento da brucelose bovina na região envolvida neste trabalho. Isto deve-se ao fato de que os proprietários e os funcionários nem sempre tinham as informações suficientes ou mesmo as omitiam. Observação semelhante foi feita por Chediak (1998) e por Juliano (1999) em estudos epidemiológicos relativos à toxoplasmose e brucelose em suínos e à prevalência de leptospirose em bovinos na microrregião de Goiânia respectivamente. Portanto, devido à falta de informações fidedignas, a interpretação da prova do anel do leite pode ter sido prejudicada. Segundo discussão de Chielle et al. (1989), além da mastite, outros fatores podem interferir na prova do anel do leite, favorecendo o aparecimento de falsos positivos, como acontece em animais vacinados com a vacina B19, após os oito meses de idade, e naqueles animais em início de lactação (colostro) ou no final (descamação de células da glândula e aumento fisiológico dos leucócitos).

Pelo teste de rosa bengala foi possível detectar 15 animais (1,74%) positivos para brucelose. Alton (1976) e Poester (1978) afirmam que, em áreas onde se emprega a vacinação com a vacina B19, ocorre uma pequena proporção de falsos positivos para o teste de rosa bengala, gerando uma discussão

se este teste deve ser aplicado como diagnóstico definitivo ou para indicar o descarte. Stermshorn et al. (1985), testando diagnósticos para brucelose bovina, consideraram a prova rosa bengala a de melhor sensibilidade, quando comparada com os testes de soroprecipitação rápida e lenta. Nesse sentido ela é indicada para triagem e posterior confirmação com a prova de fixação de complemento.

Nesse experimento, através da prova do anel do leite, identificou-se um percentual considerável de propriedades positivas e uma correspondência significativa com o rosa bengala ( $P > 0,05$ ) com 1GL. Segundo Langenegger (1992), é difícil conciliar em uma mesma prova alta sensibilidade e especificidade. Por esse motivo, para o diagnóstico da brucelose, não se pode confiar plenamente em qualquer teste isoladamente. Para Mathias (1996), em programas de controle da brucelose bovina, o ideal é utilizar uma combinação de provas sorológicas que se completem, associando-as à análise epidemiológica do rebanho examinado. A correspondência entre os dois testes aqui observados parece atender à sugestão de Langenegger (1992).

A falta de recursos tem impedido uma aplicação adequada de procedimentos para controle da brucelose bovina com vistas a uma possível erradicação. Se forem observados os aspectos técnicos no controle da brucelose bovina devem-se considerar as diferentes áreas que compõem um país ou estado. Cada região pode apresentar taxas de infecção diferenciadas e, por esse motivo, a estratégia de controle e/ou erradicação deve iniciar-se de acordo com as taxas de prevalência, tipo e condições de exploração bovina, facilitando a forma de aplicação de recursos financeiros. A OPAS (1972) relatou o mesmo tipo de preocupação e acrescenta que na implementação dessas medidas torna-se fundamental utilizar técnicas de triagem que possam de forma rápida e segura fornecer os subsídios para a implementação do controle da brucelose bovina neste trabalho.

## CONCLUSÕES

A brucelose bovina ocorre na bacia leiteira de Goiânia.

Os resultados obtidos demonstraram que há concordância entre as técnicas utilizadas.

As informações epidemiológicas colhidas não permitem caracterizar o comportamento da brucelose bovina na região estudada.

## REFERÊNCIAS

- ALTON, G. G.; JONES, L. M.; PIETZ, D. E. *Las técnicas de laboratórios em la Brucelosis*. 2. ed. Genebra: FAO/OMS, 1976. 175p.
- ANDRADE, M. A. *Mastite subclínica: prevalência, etiologia e frequência de patógenos das mãos de ordenhadores e teteiras e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas*. 1997, 113p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária UFG, Goiânia.
- BERCOVICH, Z. Maintenance of *Brucella abortus* – free herds: a review with emphasis on the epidemiology and the problems in diagnosis of brucellosis in areas of low prevalence. *The Veterinary Quarterly*, v. 20, n. 3, p. 81-88. 1998.
- CHIELLE, L. L.; WEIBLEN, R.; MOREIRA, W. S.; FLORES, M. L. Especificidade da prova do anel de leite (PAL) para o diagnóstico da brucelose bovina na bacia leiteira do município de Santa Maria - RS, Brasil. *Revista do Centro de Ciências Rurais*, Santa Maria, v. 19, n. 4, p. 351-358, 1989.
- COSTA, E. M. M. *Ocorrência da brucelose bovina em alguns municípios da bacia leiteira de Belém, Estado do Pará*. 1990, 36p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- ENCIDEC. *Anuário Estatístico do Estado de Goiás*. Goiânia, 1996. 621p.
- GONZÁLES TOMÉ, J. S. *Curso de brucelosis animal*. Goiânia: Organização Mundial de Saúde, jun. 1993. 63p.
- JULIANO, R. S. *Estudo da prevalência e aspectos epizootológicos da leptospirose bovina no rebanho de fêmeas mestiças produtoras de leite na microrregião de Goiânia - GO*. 1996, 61p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- LANGENEGGER, J. Brucelose. In: CHARLES, T. P.; FURLONG, J. *Doenças dos bovinos de leite adultos*. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, 1992. p. 83-96.
- LAUAR, N. M. *Brucelose*. São Paulo: Cati, n. 169, 1983. 13p.
- MATHIAS, L. A.; MACMILLAN, A. P.; GREISER-WILKE, I.; MOENNING, E. V. Comparação entre a reação de fixação de complemento, teste imunoenzimático indireto e teste imunoenzimático competitivo no diagnóstico sorológico da Brucelose em bovinos procedentes de rebanhos com histórico da enfermidade. *ARS Veterinária*, v. 11, n. 1, p. 47-55, 1995.
- MATHIAS, L. A. Diagnóstico laboratorial da brucelose. In: ENCONTRO DE LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIOS DO CONESUL. Campo Grande. *Anais...* Campo Grande, 1996. p. 139-140.
- MATOS, M.P.C. *Estudo sobre a ocorrência de anticorpos para Toxoplasma gondii e Brucella sp em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia*. 1998, 49p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. *Boletim de defesa sanitária animal das doenças dos animais no Brasil, histórico das primeiras observações*. Brasília: SNAP/SDSA, 1988. 10p.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. *Legislação de defesa sanitária animal*. Brasília, 1991. 231p.
- OIE. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*. 2 ed. Paris, 1992. p. 260-276.
- OPAS. *Guia para la preparacion y evaluacion de proyectos de lucha contra la brucelosis bovina y criterios y principios para el analisis de programas de lucha contra la brucelosis bovina*. Ramos Mejia: Centro Panamericano de Zoonoses. 1972. (Norma Técnica, n. 14).
- PEDREIRA, P. A. S.; OLIVEIRA, A. A.; ALMEIDA, M. F. R. S. *Índice de ocorrência de brucelose bovina no Vale do Cotinguiba em*

- Sergipe*. Aracaju: Embrapa, 1983. 43p. (Comunicado técnico).
- POESTER, F. P. O risco da brucelose. *Gado Holandês*. São Paulo, v. 63, n. 467, 1997.
- POESTER, F. P.; RAMOS, E. T.; BEGTIGA, A. C. Dificuldades na interpretação de algumas provas sorológicas em bovinos vacinados contra brucelose. *Boletim IPVDF*, Porto Alegre, v. 5, p. 53-58, 1978.
- SALGADO, G. A. E.; JARAMILLO, A. C. J.; SANCHEZ, A. L. S.; SANCHEZ, H. F.; ROMERO, J. G. Estudio de brucelosis a partir de muestras de leche de bovinos en el trópico subhúmedo del Estado de Guerrero. *Veterinaria México*, v. 26, n. 4, p. 359-363, 1995.
- SANTANA; D. C.; VEIGA, L. S. Brucelose bovina em Goiás: análise de 79.958 amostras com hemoaglutinação. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 6, n. 1-4, p. 15-20, 1977.
- SIEGEL, S. *Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento*. Recife: McGraw-Hill do Brasil, 1979. 350p.
- STEMSHORN, B. W.; FORBES, L. B.; EAGLESOME, M. D.; NIELSEN, K. H.; ROBERTSON, F. J.; SAMAGH, B. S. A comparison of standard serological tests for the diagnosis of bovine brucellosis in Canada. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, v. 49, p. 391-394, 1985.
- STEVENSON, W. J. *Estatística aplicada à administração*. São Paulo: Harper e RON do Brasil, 1981. 485p.
- SUTHERLAND, S. S. Immunology of bovine brucellosis. *The Veterinary Bulletin*, v. 50, n. 5, p. 359-368, 1980.
- TEIXEIRA, A. C. P. Brucelose: zoonose controlada? *Higiene Alimentar*, v. 12, n. 54, p. 359-368, 1998.
- TORRES, A. J. A.; CARVALHO, A. S.; TORRES, R. A. A. Levantamento brucílico da bacia leiteira de Goiânia *ring-test*. *Anais da Escola de Agronomia e Veterinária da UFG*, Goiânia, p. 17-22, 1973.
- VANZINI, V. Las pruebas sorológicas utilizadas para el control de la brucelosis bovina. In: INTA. *Estrategias para el control de la brucelosis de los bovinos com ênfasis en estabelecimentos com alta prevalencia*. Estação experimental de agropecuária Rafaela. INTA, oct. 1995. 20p.
- VELOSO, C. R. V.; BRANDÃO, S. C. C.; PINHEIRO, A. J. Utilização do *ring test* (teste do anel) para *Brucella abortus* em indústria de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 40, n. 242, p. 53-66, 1985.