MARIO AUGUSTO REYES ALEMAN

**Avaliação clínica e epidemiológica das enfermidades da
reprodução nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante do
Paranapanema**

São Paulo
2016

MARIO AUGUSTO REYES ALEMAN

**Avaliação clínica e epidemiológica das enfermidades da reprodução nos
assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Clínica Medica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Profa. Dra. Lilian Gregory

São Paulo
2016

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3389
FMVZ

Reyes Aleman, Mario Augusto
Avaliação clínica e epidemiológica das enfermidades da reprodução nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema / Mario Augusto Reyes Aleman. -- 2016.
104 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Lilian Gregory.

1. *Leptospira* spp. 2. Classe *Mollicutes*. 3. BoHV-1. 4. BVDV. 5. Doenças reprodutivas. I. Título.

BIOÉTICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação clínica e epidemiológica das enfermidades da reprodução nos assentamentos da região de Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema", protocolada sob o CEUA nº 7447020215, sob a responsabilidade de **Lilian Gregory e equipe; Mario Augusto Reyes Aleman** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 25/02/2015.

We certify that the proposal "Clinical and epidemiological assessment of reproductive diseases in the settlements of the region President Epitácio and Mirante do Paranapanema", utilizing 196 Bovines (196 females), protocol number CEUA 7447020215, under the responsibility of **Lilian Gregory and team; Mario Augusto Reyes Aleman** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008. Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/25/2015.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **02/2015** a **06/2015**

Área: **Clínica Médica Veterinária**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **a**

N: **196**

Linhagem: **SRD**

Peso: **a**

Resumo: A agricultura familiar na última década no País passou a ser vista pelo governo brasileiro como um segmento imprescindível para o combate a fome e para garantir segurança alimentar e nutricional. O Brasil ocupa, atualmente, as posições de maior produtor e maior exportador mundial de carne bovina. A sanidade animal é fundamental para a produção de leite. Isso porque a produção de um alimento seguro passa por um manejo sanitário eficiente, que permita produção de alimento saudável evite o uso de medicamentos que possam deixar resíduos no leite e presença de possíveis patógenos. O manejo sanitário faz parte de um conjunto de normas essenciais para o planejamento de uma empresa pecuária cujo objetivo seja alcançar êxito na exploração da atividade leiteira. Cada ano, as doenças infecciosas reprodutivas do bovino (*Bos taurus indicus*), tais como brucelose, leptospirose, campilobacteriose, rinotraqueite infecciosa, diarreia viral bovina, entre outras, impactam gravemente na rentabilidade das produções agropecuárias ao nível mundial. Pesquisas nos assentamento já estabelecidos no Estado de São Paulo têm sido renegadas em virtude das dificuldades de organização no levantamento de dados destas propriedades e lida com esses animais, fazendo com que não se tenham dados epidemiológicos confiáveis. O objetivo desta pesquisa é estabelecer uma proposta para avaliação e conduta ordenadas, que sirvam de modelo em nível de campo, considerando-se as informações básicas, como prevalência de diferentes enfermidades na área reprodutiva e através das observações de manejo e alimentação, condições ambientais e climáticas; que de forma integrada e conjuntamente com a análise econômica para tomada de decisão, possa contribuir para a resolução dos problemas em nível local dos assentados, para refletir posteriormente numa conduta regional; estudando-se os plantéis de bovinos de leite dos assentamentos da Região de Presidente Epitácio e Presidente Venceslau.

Local do experimento:

São Paulo, 21 de setembro de 2016

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: REYES ALEMAN, Mario Augusto.

Título: Avaliação clínica e epidemiológica das enfermidades da reprodução nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus por me dar a oportunidade de viver e
realizar este trabalho
A meus Avós (Mario e Juana) (Manuel e Alicia) porque são sempre as
estrelas que marcam meu caminho nos dias de escuridão.

Agradecimentos

A mi Papa Antonio Reyes por apoyarme y motivarme siempre a pesar de la distancia. Gracias Pá..!!

A mi Mamá Lucia Aleman por todos los dias mostrarme su amor y cariño, coomprensión y paciencia, pero sobre todo porque siempre me sorries apesar de la distancia. Te quiero mucho Ma..!!!

A mi Hermana Andrea Reyes por todos los mensajes con palabras de amor y cariño. Te queiro mucho Andy..!!

A mis hermanos Toño y Lalo, por siempre enviar mensajes de apoyo. Gracias Carnales...!!!!

A mis Tíos y Primos, por siempre enviar mensajes de apoyo y motivación.

A minha Orientadora *Prof^a Dr^a* Lilian Gregory por sua paciência, compressão, apoio e ensino, por me aceitar como orientado, mas em especial por toda confiança que sempre colocou em mim. Muito obrigado Professora...!!!!

Ao Mestre Bruno L. Mendonça Ribeiro pela amizade, apoio, conselhos, paciência e ensino, mas especialmente, muito obrigado pela ajuda neste trabalho e pela irmandade que a gente fez. É nois Brunão...!!!

À Mestre Natalia Carrillo Gaeta pela amizade, apoio e ensino paciência para a realização deste trabalho. Muito obrigado Naty, sem vc não teríamos mycoplasmas nem ureaplasmas...!!

Ao Doutor Eduardo Carvalho Marques pela amizade, paciência, apoio, conselhos ensino e pela ajuda para a realização deste trabalho, você virou irmaozão para mim, obrigado Dudu...!!!!

À mestranda Mariane Ferreira Franco pela amizade, paciência, apoio e ajuda na realização deste trabalho, você foi de grande ajuda. Obrigado Mari...!!!

Ao Doutor Enoch Meira Jr. pela amizade, apoio, conselhos e ensino. Obrigado Enoch...!!!!

À Doutora Luciana Sartori pela amizade, ensino, apoio, conselhos e parceria, principalmente na última colheita deste trabalho. Obrigado Lú...!!!

Ao Doutor pesquisador Eidi Yoshihara pela amizade, apoio, ensino, ajuda e sempre uma dar as boas vindas na sua casa nos dias de colheita para realizar este projeto.

Aos Professores do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP, especialmente à *Prof^a* Maria Cláudia Araripe Sucupira, *Prof.* Fernando José Benesi, *Prof^a* Alice Maria Melvelli Paiva Della Libera, *Prof^a* Viviani Gomes, *Prof.* Fabio Celidonio Pogliani, *Prof.* Carlos Eduardo Larsson, *Prof^a* Raquel Yvonne Arantes Baccarin e *Prof^a* Marcia de Oliveira Sampaio Gomes pelo ensino, amizade e bom convívio ao longo deste mestrado.

Ao Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução no Instituto Biológico de São Paulo especialmente às Doutoradas Vanessa Castro, Lilia Paulin, Maristela Vasconcellos Cardoso e Eliana Scarcelli Pinheiro, pelo ensino, amizade, parceria e ajuda na realização deste projeto e na minha estadia no Laboratório.

Ao Laboratório de Virose de Bovídeos no Instituto Biológico de São Paulo, em especial às Doutoradas Edviges Maristela Pitucco e Claudia Pestana Ribeiro pelo ensino, amizade, parceria, convívio e ajuda na realização deste projeto.

Ao Laboratório de Micoplasmas do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, em especial ao *Prof.* Jorge Timenetsky e sua equipe pela parceria e ajuda no processamento das amostras para a realização deste projeto.

A os Médicos Veterinários da Fundação Instituto de Terras do Estado de São Paulo (ITESP), em Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, em especial ao MV. André Ribeiro Lemos e MV. Maria Stela Mie Iwama de Mello pela grande ajuda na colheita e obtenção de informação para a realização deste trabalho.

A meus amigos da Pós-graduação: Carolina Schecaira, Caroline Harume, Ronaldo Gargano, Carol dos Anjos, Fabio Sella, Bruna Stranigher, Leonardo Barreira, Natalia Minami, Rejane Sousa, Maílson Dias e outros aqui não citados pela convivência, amizade e troca de experiências.

A meus amigos da República, José Luiz Nogueira e Marcos Vinicius Mendes Silva. Rapazes, muito obrigado pela sua amizade, companheirismo, ensino, ajuda, motivação e boa convivência. Sempre formando uma família.

Ao Médico Veterinário Joel Alexis Ferreira Ojeda, por sua amizade, companheirismo, irmandade, motivação, ajuda e boa convivência. Gracias amigo..!!!!

A os proprietários de cada uma das pequenas produções leiteiras visitas nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema para a realização de este projeto.

A os funcionários da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP, em especial aos funcionários do Hospital de Bovinos e Pequenos Ruminantes por sua motivação.

RESUMO

REYES ALEMAN, M. A. **Avaliação clínica e epidemiológica das enfermidades da reprodução nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema.** [Clinical and epidemiological assessment of reproductive diseases in the settlement of Presidente Epitacio and Mirante do Paranapanema]. 2016. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A agropecuária familiar brasileira produz 70% da alimentação da população, possuindo importante papel social e econômico neste país. Os assentamentos do Pontal do Paranapanema produzem alimentos que são ofertados ao estado de São Paulo, sendo atividade leiteira a mais importante. As doenças infecciosas reprodutivas dos bovinos, causados por *Leptospira* spp., Herpes Virus Bovino Tipo 1 (BoHV-1), Diarreia Viral Bovina (BVD), agentes da classe *Mollicutes* são importantes para a rentabilidade das produções agropecuárias do mundo inteiro. Dados epidemiológicos nos assentamentos do estado de São Paulo não existem. Este estudo teve como objetivo analisar a prevalência das enfermidades reprodutivas bacterianas e virais em bovinos de leite criados nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema. Todos os animais foram submetidos ao exame específico do sistema reprodutivo e colheram-se amostras de soro e swab vaginal. A prevalência para BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp., e classe *Mollicutes* foi de 69,05%, 57,74%, 58,93% e 50%, respectivamente. Foi observado uma relação entre vacas multíparas e a presença de BoHV-1 e *Leptospira* spp. Foi observado também uma relação de animais com retenção de placenta com a presença de bactérias da classe *Mollicutes* e animais reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. A prevalência destas enfermidades prova a existência destas em assentamentos na região do Pontal do Paranapanema, faz-se necessário o desenvolvimento de programas de políticas públicas para o monitoramento desta região.

Palavras-chave: *Leptospira* spp. Classe *Mollicutes*. BoHV-1. BVDV. Doenças reprodutivas.

ABSTRACT

REYES ALEMAN, M. A. **Clinical and epidemiological assement of reproductive diseases in settlements from Presidente Epitacio and Mirante do Paranapanema.** [Avaliação clínica e epidemiológica das enfermidades da reprodução nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema]. 2016. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Brazilian's family settlements are responsible for 70% of total population feeding. It has an important social and economic role in Brazil. Settlements from Pontal do Paranapanema offering feed to the state of São Paulo and milk production is the most important activity. Bovine reproduction infectious diseases caused by *Leptospira* spp., Bovine Herpesvirus Type 1(BoHV-1), Bovine viral Diarrhoea (BVD) and *Mollicutes* are important to the dairy cattle industry all over the world. Epidemiological datas from settlements located in the state of São Paulo are not available. The aim of this study was to evaluate the prevalence of bacterial and viral reproductive infectious diseases dairy cattle raised in settlements from Presidente Epitácio e Mirante do Paranapanema. Specific physical examination of reproduction female system was performed and after that vaginal swabs samples and serum samples were collected. The prevalence of BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp., and *Mollicutes* was 69,05%, 57,74%, 58,93%, and 50%, respectively. An association between multiparous cows and the presence of BoHV-1 and *Leptospira* spp., was detected. Also an association between females with retained placenta and *Mollicutes* and cows with antibodies against *Leptospira* spp. was observed. The results showed the presence of reproduction diseases in settlements in Pontal do Paranapanema and it is necessary the development of public politics programs to control them.

Key words: *Leptospira* spp. *Mollicutes*. BoHV-1. BVDV. Reproductive diseases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Regiões Administrativas do Estado de São Paulo	25
Figura 2 -	Mapa do Pontal de Paranapanema e seus municípios	43
Quadro 1 -	Principais bactérias, vírus, fungos e protozoários que ocasionam abortos em bovinos	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição de propriedades visitadas e amostras colhidas nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema – São Paulo, Brasil - 2016.....	44
Tabela 2 -	Descrição de animais reagentes e não reagentes ao teste de vírus-neutralização BoHV-1 e BVDV em amostras de soro de vacas criadas nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	51
Tabela 3 -	Prevalência de anticorpos contra BoHV-1 e BVDV no rebanho após virusneutralização em amostras de soro de vacas criadas nos assentamentos dos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016	52
Tabela 4 -	Descrição das amostras reagentes e não reagentes ao teste de microsoroglutinação para detecção de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. e as sorovariedades do Instituto Biológico de São Paulo em amostras de soro de vacas criadas nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	52
Tabela 5 -	Descrição dos animais positivos no teste de PCR convencional para detecção de bactérias da classe <i>Mollicutes</i> em amostras de swab vaginais de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	53
Tabela 6 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes e não reagentes com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	53
Tabela 7 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes e não reagentes com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	54
Tabela 8 -	Prevalência de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável prenhes em	

	vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.	54
Tabela 9 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes e não reagentes com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	55
Tabela 10 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações pós parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	55
Tabela 11 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável retenção de placenta em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	55
Tabela 12 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações na vagina em de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	56
Tabela 13 -	Relação entre a presença para BoHV-1 comparadas ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.....	56
Tabela 14 -	Relação entre as propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil- 2016	57
Tabela 15 -	Relação entre propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	57

Tabela 16 -	Relação entre as propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas com a variável presença de espécies domesticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	58
Tabela 17 -	Propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	59
Tabela 18 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	59
Tabela 19 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	60
Tabela 20 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável prenhes em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.....	60
Tabela 21 -	Relação entre presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.....	60
Tabela 22 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável alteração pôs parto em soros de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.....	61
Tabela 23 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável retenção de placenta em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	61

Tabela 24 -	Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável alterações na vagina em de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – Brasil - 2016	61
Tabela 25 -	Relação entre as propriedades positivas e negativas para BVDV comparada ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	62
Tabela 26 -	Relação entre as propriedades positivas e negativas para BVDV comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	62
Tabela 27 -	Relação entre a presença de propriedades positivas e negativas para BVDV comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.....	63
Tabela 28 -	Relação entre as propriedades positivas e negativas para BVDV comparadas com a variável presença de espécies domésticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	64
Tabela 29 -	Relação entre a presença de propriedades positivas e negativas a BVDV comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - Brasil, 2016.....	65
Tabela 30 -	Relação entre a presença de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em animais reagentes e não reagentes (negativo) com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	65
Tabela 31 -	Relação entre a presença de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em animais reagentes e não reagentes com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema , São Paulo -	

2016	66
Tabela 32 - Relação entre a presença de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em animais reagentes e não reagentes com a variável prenhes em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema , São Paulo - 2016	66
Tabela 33 - Relação entre a presença de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	67
Tabela 34 - Relação entre a presença de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações pós parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema São Paulo, Brasil - 2016	67
Tabela 35 - Relação entre a presença de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em animais reagentes e não reagentes com a variável alteração no útero em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	67
Tabela 36 - Relação entre a presença de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp. em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações na vagina em de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema , São Paulo - 2016	68
Tabela 37 - Relação entre propriedades positivas e negativas para <i>Leptospira</i> spp. comparada ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema , São Paulo - 2016	68
Tabela 38 - Relação entre propriedades positivas e negativas para <i>Leptospira</i> spp. comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema , São Paulo - 2016	69
Tabela 39 - Relação entre propriedades positivas e negativas para	

	<i>Leptospira</i> spp. comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema , São Paulo - 2016	69
Tabela 40 -	Relação entre as propriedades positivas e negativas para <i>Leptospira</i> spp. comparadas com a variável presença de espécies domésticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	70
Tabela 41 -	Relação entre as propriedades positivas e negativas para <i>Leptospira</i> spp. comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	71
Tabela 42 -	Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe <i>Mollicutes</i> comparado com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016	71
Tabela 43 -	Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe <i>Mollicutes</i> comparado com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016	72
Tabela 44 -	Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe <i>Mollicutes</i> comparado com a variável prenhes em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016	72
Tabela 45 -	Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe <i>Mollicutes</i> comparado com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.....	72
Tabela 46 -	Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe <i>Mollicutes</i> comparado com a variável alterações reprodutivas em vacas das propriedades de	

	Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016.	73
Tabela 47 -	Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe <i>Mollicutes</i> comparado com a variável Retenção de placenta de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016.....	73
Tabela 48 -	Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe <i>Mollicutes</i> comparado com a variável alteração na vagina em soros de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016.	73
Tabela 49 -	Relação de propriedades positivas e negativas para a classe <i>Mollicutes</i> comparadas ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema , São Paulo – 2016.....	74
Tabela 50 -	Relação de propriedades positivas e negativas para a classe <i>Mollicutes</i> comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016	74
Tabela 51 -	Relação de propriedades positivas e negativas para a classe <i>Mollicutes</i> comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016	75
Tabela 52 -	Relação de propriedades positivas e negativas para a classe <i>Mollicutes</i> comparadas com a variável presença de espécies domésticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema – São Paulo, Brasil, 2016.	75
Tabela 53 -	Relação de propriedades positivas e negativas a classe <i>Mollicutes</i> comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.....	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1	ASSENTAMENTOS E SUA IMPORTÂNCIA NA ECONOMIA BRASILEIRA	24
2.1.1	Pontal do Paranapanema	24
2.2	ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS	26
2.2.1	Maceração fetal	26
2.2.2	Mumificação fetal	26
2.2.3	Morte e reabsorção embrionária	27
2.2.4	Morte fetal e aborto	28
2.2.5	Retenção de membranas fetais	30
2.3	PRINCIPAIS AGENTES CAUSADORES DE ENFERMIDADES REPRODUTIVAS NO REBANHO BOVINO	32
2.3.1	Agentes bacterianos	32
2.3.1.1	Leptospirose bovina	32
2.3.1.2	<i>Mollicutes</i>	33
2.3.2	Agentes virais	35
2.3.2.1	Vírus da Diarreia Bovina a Vírus	35
2.3.2.1	Herpesvírus Bovino Tipo 1	39
3	OBJETIVO	42
3.1	OBJETIVO GERAL	42
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	43
4.2	AMOSTRAGEM	44
4.3	AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE E DO EXAME ESPECÍFICO DO SISTEMA GENITAL DA FÊMEA	44
4.3.1	Avaliação da propriedade	44
4.3.2	Exame específico do sistema genital da fêmea	45
4.4	AMOSTRAS	45
4.4.1	Soro	45

4.4.2	Secreções vaginais	45
4.5	PROCESSAMENTO LABORATORIAL	46
4.5.1	Deteção de anticorpos contra BVDV e BoHV-1	46
4.5.1.1	Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV)	46
4.5.1.2	Herpesvírus bovino Tipo 1 (BoHV-1)	47
4.5.2	Soroaglutinação microscópica para <i>Leptospira</i> spp.	48
4.5.3	Deteção de micoplasmas	48
4.5.3.1	Cultivo e isolamento	48
4.5.4	Extração de DNA	49
4.5.5	Reação Cadeia da Polimerase Convencional	49
4.5.5.1	PCR para deteção da classe <i>Mollicutes</i>	49
5	ESTATÍSTICA	50
6	RESULTADO	51
6.1	VIRUSNEUTRALIZAÇÃO PARA BoHV-1 E BVDV	51
6.2	MICROSOROAGLUTINAÇÃO PARA <i>LEPTOSPIRA</i> spp.	52
6.3	PCR CONVENCIONAL PARA IDENTIFICAÇÃO DA CLASSE <i>MOLLICUTES</i>	53
6.4	BoHV -1	53
6.4.1	Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas	53
6.4.2	Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades	56
6.5	BVDV	59
6.5.1	Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas	59
6.5.2	Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades	62
6.6	LEPTOSPIRA SPP.	65
6.6.1	Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas	65
6.6.2	Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades	68
6.7	CLASSE <i>MOLLICUTES</i>	71
6.7.1	Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas	71
6.7.2	Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades	74
7	DISCUSSÃO	77

7.1	BoHV-1 - CHECAR SE FOI NUMÉRICO OU REALMENTE FOI DIFERENTE.	77
7.2	BVDV.....	79
7.3	<i>LEPTOSPIRA spp</i>	81
7.4	CLASSES <i>MOLLICUTES</i>	83
8	CONCLUSÕES	85
	REFERÊNCIAS	86
	ANEXOS	101

1 INTRODUÇÃO

A agropecuária familiar brasileira produz 70% da alimentação da população, possuindo importante papel social e econômico neste país (BRASIL, 2009). São Paulo é conhecido nacionalmente como o estado que possui o melhor desenvolvimento urbano e rural, representando 34% do Produto Interno Bruto (FIRETTI, 2012). No Brasil existem 1.045.069 famílias que moram em assentamentos, e destas, 17.151 famílias moram no estado de São Paulo. Os assentamentos são importantes, pois além de gerar emprego, estabelecem um desenvolvimento agrícola mais equitativo e com baixo custo (DATA LUTA, 2012).

Os assentamentos no Pontal do Paranapanema produzem alimentos que são ofertados ao estado de São Paulo, como, mandioca, milho, feijão, abóbora, quiabo e hortaliças em geral que fazem parte da movimentação econômica da região (LEAL, 2015), sendo a atividade leiteira a mais importante.

A maior parte da comercialização do leite, aproximadamente 80%, é realizada para laticínios dos assentamentos, da região ou de estados vizinhos. Segundo a Fundação Instituto de Terras do Estado São Paulo (ITESP), a média de produção no Pontal de Paranapanema é 500 litros/produtor por mês. No entanto, assentamentos como os localizados no município de Caiuá, possuem produção média de 746 litros por mês, enquanto outros a produção máxima é de 10 a 100 litros por mês (ITESP, 2016).

A eficiência da produção leiteira é multifatorial, estando relacionado a fatores ligados a herança genética, nutrição, manejo e o estado sanitário do rebanho. A baixa produtividade observada nos assentamentos está relacionada a pouca infraestrutura nas propriedades, ausência de melhoramento genético dos animais e à falta de suporte veterinário. Dentre os aspectos que devem ser trabalhados na tentativa de aumentar a produção, a reprodução animal necessita de maior atenção, já que as perdas a ela relacionadas são estimadas entre 250 a 672 milhões de dólares ao ano (ANUALPEC, 2005). A subnutrição, as enfermidades debilitantes, as doenças infectocontagiosas e o manejo inadequado são as causas mais comuns do mau desempenho reprodutivo e consequente queda na produção leiteira. Além disso, o aumento da ocorrência de abortamentos e infertilidade são causadores de grandes prejuízos no Brasil por restrições na comercialização internacional de

sêmen, embriões, ou qualquer outro derivado e de animais vivos (GIVENS, 2006).

Cada ano, as doenças infecciosas reprodutivas dos bovinos (*Bos taurus* e *Bos indicus*), como brucelose, leptospirose, campilobacteriose, Rinotraqueite Infecciosa Bovina (IBR), Diarreia Bovina a Vírus (BVDV) entre outras, possui forte impacto na rentabilidade das produções agropecuárias do mundo inteiro (GIVENS, 2008). Apesar de serem doenças importantes para a reprodução e consequentemente para a produção animal, os dados epidemiológicos não são confiáveis, pois as pesquisas em assentamentos no estado de São Paulo têm sido evitadas em virtude das dificuldades para organizar os levantamentos de dados, à falta de estrutura física nas propriedades e de organizações não governamentais que auxiliem esses pequenos produtores.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A seguir serão revisados os fatores e agentes etiológicos responsáveis pelas doenças reprodutivas e/ou que possui similaridade com os assuntos abordados no estudo.

2.1 ASSENTAMENTOS E SUA IMPORTÂNCIA NA ECONOMIA BRASILEIRA

2.1.1 Pontal do Paranapanema

O estado de São Paulo possui os melhores índices de desenvolvimento urbano e rural, com a maior densidade demográfica e a maior região metropolitana do Brasil. Este estado é o que mais contribui para a economia e produção do produto interno bruto brasileiro por sua representação na produção agropecuária, industrial e no setor terciário, além de ser o principal centro exportador nacional. Para aperfeiçoar o planejamento político-administrativo, o estado de São Paulo foi dividido no ano de 1967 em 15 regiões administrativas, incluindo a Região Metropolitana (CIUFFA, 1999), como demonstra a Figura 1.

Figura 1 - Regiões Administrativas do Estado de São Paulo

Fonte: <http://www.skyscrapercity.com/showthread.php?t=1403322>

A 10ª Região Administrativa do estado de São Paulo, conhecida como Pontal de Paranapanema, cuja sede é o município de Presidente Prudente, é considerada como uma das últimas fronteiras do desenvolvimento paulista. É a região com maior número de assentamentos e de famílias assentadas. O Pontal do Paranapanema está localizado no extremo-oeste do estado de São Paulo, fazendo divisa com os estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, através dos rios Paraná e Paranapanema. (SÃO PAULO, 2009).

Os assentamentos no Pontal do Paranapanema possuem um importante papel na produção de alimentos, sendo a produção leiteira a principal atividade agropecuária (LEAL, 2015). Para que esses assentamentos aumentem a rentabilidade na atividade leiteira, a alta eficiência reprodutiva deve ser a principal meta a ser atingida. Dados que informem a epidemiologia das doenças infecciosas relacionadas a problemas reprodutivos na região são importantes para que haja um controle e sanidade eficiente nessas propriedades.

2.2 ALTERAÇÕES REPRODUTIVAS

2.2.1 Maceração fetal

Etimologicamente a palavra maceração tem sua origem no latim, e significa alterações degenerativas que desintegram o feto (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

A maceração inicia-se com a presença de micro-organismos de putrefação no útero, tais como *Arcanobacterium pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sp*, ou protozoários como *Tritrichomonas foetus*, que ascendem ao útero pela cérvix após a morte do feto (ACLAND, 1998; JONES, 2000). Nos bovinos, o *T. foetus* é o principal agente causador desta enfermidade, pois induz inflamação no útero, na cérvix e na vagina, diminuindo o canal cervical e vaginal, fazendo com que o feto morto permaneça no trato reprodutivo. Além disso, este protozoário ocasiona a piometra em 5% das vacas infectadas, levando também à maceração do feto (GRUNERT, 2005; BONDURANT, 2005).

A maceração induz a queda na produção de leite. Em casos avançados, a perfuração do útero pode ocorrer devido à presença dos ossos do feto macerado, podendo levar a peritonite com aderências (GRUNERT, 2005).

2.2.2 Mumificação fetal

A mumificação fetal é o resultado da morte do feto que sofreu alterações morfológicas induzindo a uma reabsorção incompleta por parte da mãe. É um processo asséptico, onde não há contaminação do feto por micro-organismos. Os líquidos placentários são reabsorvidos e o feto por consequência ressecará, com retração dos tecidos mole, diminuindo de volume. As membranas fetais aderem-se ao feto morto desidratado e à parede do útero, causando deposição de cálcio, formando uma massa firme. Além disso, a cérvix se mantém fechada devida a formação de tampão mucoso (McGAVIN; ZACHARY, 2013).

A mumificação fetal bovina é classificada em duas formas: papirácea e

hemática. Na primeira, o feto possui membranas ressecadas, de consistência firme, úmida, com tecido escuro, porém sem odor ou secreção. Na segunda, embora o feto possua características semelhantes às anteriormente descritas, entre a parede do útero e as membranas fetais existe uma substância viscosa com muco e coágulos de cor amarronzada aderida ao feto mumificado, cuja origem está na degradação de hemoglobina proveniente da hemorragia que ocorre entre o endométrio e a membrana fetal (LONG, 1996).

A mumificação ocorre com maior frequência em fêmeas multíparas, principalmente em suínos. Em vacas, a ocorrência é menor, variando entre 0,43% e 1,8%, sendo a forma hemática a mais comum. Normalmente, ocorre entre o 3º e o 8º mês de gestação (ARAÚJO, 2006).

Em bovinos, as causas mais comuns da mumificação são os agentes infecciosos como vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) e *Campylobacter foetus*, por torção uterina, traumatismo com morte fetal e presença de micotoxina nos alimentos oferecidos às fêmeas gestantes (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

2.2.3 Morte e reabsorção embrionária

A morte e reabsorção embrionária são as principais causas de perdas associadas à reprodução, tornando-as uns dos fatores de prejuízo na produção de carne e leite (AYALON, 1978). A morte embrionária é definida como sendo a morte ou perda do conceito durante o período embrionário, que consiste desde a concepção até o final da fase de diferenciação. A classificação da morte embrionária irá depender da fase do desenvolvimento que houve a perda da gestação. Quando ocorre no período de desenvolvimento embrionário precoce, que inclui o dia da fertilização até o 20º dia de gestação, é chamada de morte embrionária precoce. A ocorrência da morte do embrião no desenvolvimento embrionário tardio, entre o 21º dia até o 45º dia após a fertilização, denomina-se morte embrionária tardia (COMMITTEE ON BOVINE REPRODUCTIVE NOMENCLATURE, 1972). Inskeep e Dailey (2005), afirmam em seu trabalho que 57% das vezes a morte embrionária ocorre durante o desenvolvimento precoce, entre 8º e 16º dia de gestação.

Normalmente o diagnóstico da morte embrionária é de difícil realização. Em

geral, quando o intervalo entre a inseminação e o retorno ao estro excede 18 a 24 dias (KUMMERFERD et al., 1978). Quando os níveis de progesterona no leite ou sangue baixam após o dia 25 pós-inseminação artificial (IA) (HUMBLOT et al., 1983), devemos suspeitar da ocorrência de mortalidade embrionária. Contudo, não devemos esquecer que este intervalo pode também ser afetado pela eficácia do método de detecção de cios utilizado.

Quando ocorre a determinação da etiologia da morte embrionária, as causas não-infecciosas são as mais frequentes, com aproximadamente 70% dos casos. (VANROOSE et al., 2000). Dentre elas podemos citar àquelas relacionadas ao manejo nutricional, que envolve perda de peso e dieta pobre em gordura (MATTOS et al., 2000), às anomalias genéticas, fatores ambientais como a temperatura que irá induz o estresse térmico e incompatibilidade feto-maternal (GARCIA-ISPIERTO et al., 2006). As inflamações como endometrites e metrites, e infecções dos folículos, gametas e/ou embrião (BARRET et al., 2004) também estão intimamente ligadas a morte embrionária. Além disso, a idade materna também influencia na perda da gestação. Pereira (2009) constatou em seu trabalho que a faixa etária com a maior taxa de morte embrionária (26,44%), foi entre as vacas com cinco anos de idade. Em relação às doenças infecciosas que podem levar a morte embrionária, podemos citar a Rinotraquite Infecciosa Bovina (BRASIL, 2013), a Diarreia Viral Bovina (GROOMS et al., 2006), a tricomoníase e a campilobacteriose (STOESSEL, 1982; PELLEGRIN, 2002).

2.2.4 Morte fetal e aborto

Durante a vida intrauterina, o indivíduo passa a ser considerado feto quando já apresenta características da espécie a que pertence. Em fêmeas domésticas uníparas, quando se tem morte fetal nas primeiras fases desse período, poderá ocorrer a maceração ou a mumificação, no entanto, se ocorrer em fases avançadas da gestação normalmente será seguido de um abortamento (NASCIMENTO; SANTOS, 2008). No Brasil não existe definição legal para o aborto, no entanto, em países como a França é considerado legalmente aborto nos bovinos, a expulsão do feto entre o 50^a dia após a fecundação até o 280^o dia de gestação, ou bezerros que

nasceram vivos, porém morreram em até 48 horas após o nascimento (natimorto). Na prática veterinária é usado o termo aborto clínico, quando há a visualização do feto abortado ou membranas fetais no ambiente e o aborto suposto quando identificado uma prenhez negativa após prévia constatação de prenhez positiva, sem ser visualizado o produto do abortamento (Revista CRMV-SP)

Segundo Riet-Correa et al. (2001), os índices de abortamento considerados normais para bovinos estão entre 1% a 2%, e dados acima de 3% caracterizam um problema ambiental ou infeccioso que acomete o rebanho. Em bovinos leiteiros, ao considerar os abortos clínicos e supostos, Nascimento e Santos (2011) observaram uma taxa de 6,5% de perdas fetais no Brasil. Neste contexto, os abortamentos, os partos distócicos e as infecções neonatais aparecem como as principais causas deste problema (RIET-CORREA, 2007).

As causas de abortamento e natimorto em bovinos podem ser divididas em não infecciosas e infecciosas. As causas não infecciosas inclui a má nutrição, estresse, desbalanço endócrino maternal, alterações sistêmicas da fêmea gestante como a febre e hemorragia, distocias, traumatismos (NASCIMENTO; SANTOS, 2008), plantas tóxicas como *Tetrapteryx multiglandulosa* e *Ataleia glazoviana* (McGAVIN; ZACHARY, 2013), medicamentos como acetilcolina, glicocorticóides, corticoesteróides e carrapaticidas (HAFEZ; HAFEZ, 2000), anomalias genéticas tal como o Complexo de Má Formação Vertebral (MEYDAN et al., 2010) e anomalias anatomo-patológicas que inclui a disfunção feto-placenta como torção do cordão umbilical (SMITH et al., 2003).

A proporção de abortos decorrentes de causa infecciosa não é conhecida, mas, aproximadamente 90% dos casos em que o diagnóstico é estabelecido, a causa é infecciosa e inclui aborto por bactérias, vírus, protozoários e fungos (NASCIMENTO; SANTOS, 2008).

Os principais agentes infecciosos que induzem o abortamento em bovino estão representados no Quadro 1.

Quadro 1 - Principais bactérias, vírus, fungos e protozoários que ocasionam abortos em bovinos

BACTÉRIA	VÍRUS	FUNGOS	PROTOZOÁRIO
<i>Brucella</i>	IBR	<i>Arpergillus</i>	<i>N. caninum</i>
<i>Leptospira</i>	BVDV	<i>Mucor</i>	<i>T. fetus</i>
<i>Mycoplasma</i>	<i>Mycivirose</i>	<i>Candida</i>	<i>Babesia</i>
<i>Ureaplasma</i>	<i>Bluetongue</i>		
<i>Campylobacter</i>	<i>Parvovirus</i>		
<i>Arcanobacterium</i>			
<i>Listeria</i>			
<i>Salmonella</i>			
<i>E. coli</i>			
<i>Coexiella</i>			
<i>Chlamydia</i>			

Fonte:(produção do autor, 2016, baseado em Knudtson and Kirkbridge (1992), De Kruif (1993), Kirkbridge (1993) e Vendrig (2000).

2.2.5 Retenção de membranas fetais

A placenta é um órgão intermediário entre a mãe e o feto, que tem como função servir para o suprimento de oxigênio e nutrientes, remoção de detritos metabólicos, produção e secreção de hormônios e regulação do ambiente uterino (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2006). Nos bovinos a placenta é classificada primeiramente referindo-se ao arranjo tridimensional da placenta, que neste caso é chamada de cotiledonária por possuir uma interação feto-maternal pelas estruturas denominadas cotilédones e carúnculas. As ligações entre essas estruturas formam-se os placentomas (PETER, 2013; SMOKEPRIETO, 2012). Quando se refere ao número de camadas celulares que separam a circulação materna da circulação fetal, as placentas dos bovinos são classificadas como sinepteliocorial por possuir migração e fusão das células binucleadas dos trofoblastos com as células do epitélio uterino (PETER, 2013).

A retenção de membranas fetais, comumente dito como retenção de placenta ou placentária, é definida como uma falha na separação das vilosidades da placenta fetal (cotilédones) com as criptas maternas (carúnculas) (KIMURA, 2002), entre um período de 12-24 horas pós-parto (McNAUGHTON; MURRAY, 2009). É um dos distúrbios mais observados em vacas após o parto, com taxas entre 3% a 12% e aumentam em casos de aborto, parto prematuro, parto gemelar e parto induzido (TONIOLLO, 2003; SCHLAFFER et al., 2000).

Normalmente, quando ocorre a retenção as membranas fetais apresentam-se penduradas na vulva, descoloridas e em degeneração. No entanto, a retenção não induz a uma enfermidade sistêmica, por isso não é observado hipertermia, porém, pode levar ao aparecimento de metrite (SMITH, 2003).

A diminuição da atividade dos neutrófilos presentes no útero pode induzir a retenção de membranas fetais, pois estes têm o papel de estimular a separação do cotilédone das carúnculas maternas e a expulsão da placenta (SANTOS et al., 2010). A oscilação na concentração de hormônios também leva a essa alteração (FUGIMOTA et al., 2002). Vacas submetidas a stress no final da gestação possui uma maior ocorrência de retenção placentária, juntamente com o aumento da concentração de cortisol no dia do parto. Lembrando que o cortisol é imunossupressor e impede a quimiotaxia de células inflamatórias para região dos placentomas (HORTA et al., 2000).

Existem alguns fatores que predispõe a retenção de membranas fetais como a consanguinidade, pois existe uma maior chance de o sistema imune materno não reconhecer as células fetais como estranhas, com isso não haverá um ataque efetivo a placenta, impedindo a degradação e expulsão das membranas fetais (WILTBANK et al., 2006). Outro fator que se destaca são as infecções genitais, causadas, por exemplo, por *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Corynebacterium pyogenes*, *Leptospira* spp., que induz a processos inflamatórios que acompanham os casos de retenção de membranas fetais (HAFFEZ; HAFFEZ, 2004). A brucelose é outra doença que causa essa alteração, pois lesiona a região intermediária do placentoma e une firmemente o cotilédone e a carúncula, impedindo a expulsão das membranas fetais (NASCIMENTO; SANTOS, 2008). Outro fator que pode induzir a retenção é a idade da mãe. Hafez e Hafez (2004) observaram que fêmeas entre 5 e 7 anos possuíam mais retenção, com 72% dos casos. Por fim, podemos citar também a deficiência de

selênio e da vitamina E. Eles são essenciais para a funcionalidade do sistema imune. Portanto, qualquer diminuição das suas concentrações pode levar a uma disfunção imunológica, gerando problemas de retenção placentária (OLIVEIRA; NEIVA, 2009).

Como consequência da retenção de membranas fetais, observa-se metrite, e também de peritonite e septicemia (HORTA, 2000). Além disso, há atrasos da involução uterina, aumento entre o intervalo parto-concepção e diminuição da taxa de concepção.

2.3 PRINCIPAIS AGENTES CAUSADORES DE ENFERMIDADES REPRODUTIVAS NO REBANHO BOVINO

2.3.1 Agentes bacterianos

2.3.1.1 Leptospirose bovina

A leptospirose é uma enfermidade cosmopolita que afeta animais domésticos, silvestres, sinantrópicos e acidentalmente aos humanos (zoonose). É uma doença de origem bacteriana, de grande importância na saúde pública e que gera grandes perdas econômicas. Nos bovinos atinge negativamente o potencial reprodutivo, causando abortos, natimortos, nascimento de animais fracos e infertilidade. Pode ser causadora de mastite clínica ou inaparente, podendo observar alterações nas características macroscópicas do leite, como estrias de sangue e/ou a diminuição da produção leiteira (HIGGINS et al., 1980; ELLIS, 1994).

Essa doença é causada por uma espiroqueta do gênero *Leptospira*, que possui aproximadamente 230 sorovariedades patogênicas, sendo que a sorovariedade Hardjo é a mais adaptada à espécie bovina. O habitat natural da *Leptospira* spp. é os túbulos proximais renais dos animais portadores, que podem secretar o agente por toda sua vida (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). A *Leptospira* spp. conta com uma ampla distribuição geográfica, particularmente em países de clima tropical e subtropical. A incidência de casos aumenta principalmente nos

períodos de altos índices de chuva, devido à adaptação da bactéria em sobreviver nos ambientes úmidos (FAINE et al., 1999; ACHA; SZYFRES, 2001). No Brasil estudos soro-epidemiológicos indicam que a leptospirose está amplamente distribuída em todos os estados do país (PELLEGRIN et al., 1998; LANGONI et al., 2000; HOMEM et al., 2001; OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004; ARAÚJO et al., 2005).

O primeiro isolamento da *Leptospira* spp. no Brasil foi realizado por Moreira (1994), em bovinos produtores de leite no estado de Minas Gerais. Os bovinos infectados pela sorovariedade Hardjo, apresenta uma doença crônica, que se caracteriza por problemas reprodutivos. A sorovariedade *hardjo* possui dois genótipos: *hardjo* bovis e *hardjo* prajitno. Ambos os genótipo são importantes causadores de problemas nos bovinos e possuem diferenças nas suas manifestações clínicas. *hardjo* bovis é amplamente distribuída nos rebanhos bovinos e ocasiona abortos. Já a *harjo* prajitno foi pouco isolada, e caracteriza-se por ser mais patogênica, causando problemas reprodutivos e diminuição da produção leiteira (ELLIS, 1994).

Um diagnóstico preciso para leptospirose em bovinos depende do isolamento e tipificação da sorovariedade presente. Mas por ser um exame de difícil realização, ultimamente são utilizados testes sorológicos que não incluem o isolamento para identificação do agente. O diagnóstico é realizado mediante a técnica de microaglutinação. Este método possui algumas limitações como não permitir a tipificação do genótipo específico presente, e gerar reações cruzadas entre espécies de *Leptospira* spp. que podem ter as mesmas características antigênicas, levando ao pesquisador a interpretações incorretas (RODRIGUES et al., 2011).

Muitos laboratórios produzem vacinas contendo várias sorovariiedades, com o objetivo de atender o maior número de sorovariiedades possíveis. Mas a resposta imunológica produzida estimula uma baixa produção de títulos de anticorpos e especificidade para cada sorovariiedades, e isso induz a uma profilaxia ineficiente (RODRIGUES et al., 2011).

2.3.1.2 *Mollicutes*

As infecções causadas pelas bactérias da classe *Mollicutes* em animais

possuem importância na pecuária, pois geram grandes perdas econômicas para o país devido à diminuição do número de gestações, ocorrência de perdas fetais ou partos prematuros com consequente diminuição do número de serviços por animal, perdas na qualidade do sêmen e aumento dos custos com veterinários e drogas para tratamento das infecções (BUZINHANI et al., 2007; MILLER et al., 1994). Existem aproximadamente 200 espécies de *Mollicutes* relatadas na literatura, mas destas apenas algumas são consideradas patogênicas para os animais de produção (FREY, 2002). Em bovinos destacam-se o *Mycoplasma bovis* e o *Ureaplasma diversum* por causarem distúrbios reprodutivos (MARQUES, 2009).

Os micoplasmas e ureaplasmas pertencem a classe *Mollicutes*, ordem *Mycoplasmatales*, família *Mycoplasmataceae*, gênero *Mycoplasma* (QUINN et al., 2005). A principal característica da família é a necessidade de esteroides para o seu desenvolvimento (BERGEY et al., 1994). São considerados os menores microrganismos de vida livre capazes de auto replicação (RAZIN, 2006) e não sintetizam peptidoglicano ou seus precursores, por isso não possuem parede celular rígida, mas tem tripla camada de membrana externa flexível que permite-lhes passar através de membranas filtrantes com poros do tamanho de 0,22 a 0,45µm. São bactérias gram-positivas que formam colônias de aproximadamente 1mm de diâmetro em forma de “ovo frito” (KIRKBRIDE, 1987). São resistentes a antibióticos como a penicilina, que interferem na síntese bacteriana da parede celular (QUINN et al., 2005).

No Brasil, foram relatados surtos de abortos associados a essas *Mollicutes*. Buzinhani et al. (2007) isolaram *Mycoplasma* spp. e *Ureaplasma* spp. no muco vulvovaginal de vacas com histórico de distúrbios reprodutivos (vulvite granular, infertilidade e aborto) em propriedades dos estados de São Paulo, Goiás e Santa Catarina. Já o *U. diversum* foi identificado no muco vaginal de vacas leiteiras com histórico de repetição de estro no estado de Alagoas (OLIVEIRA FILHO et al., 2005). Os autores relataram que o isolamento do agente esteve associado à presença de lesões na mucosa vulvovaginal e concluíram que *U. diversum* deve ser considerado como agente responsável por queda na eficiência reprodutiva e retorno ao estro em consequência de mortalidade embrionária.

O principal reservatório para *Mollicutes* é o hospedeiro infectado. Animais infectados transportam organismos nas superfícies mucosas incluindo mucosa nasal, conjuntival, oral, intestinal e genital. A transmissão ocorre principalmente por

disseminação de um animal para outro por contato direto através de aerossol, de secreções respiratórias ou por transmissão venérea. O leite contaminado também é uma fonte de infecção para bezerros (HIRSH; ZEE, 1999).

Os *Mollicutes* estão frequentemente envolvidos em processos de doenças que afetam superfícies mucosas. Fatores como velhice, estresse e infecções intercorrentes podem predispor à invasão tecidual (QUINN et al., 2005). O *M. bovis* é reconhecido por causar endometrite, salpingite, ooforite, abortamento e vesiculite seminal. É também um importante agente de mastite, artrite e pneumonia (MARQUES, 2009). O *U. diversum* é um dos principais agentes infecciosos envolvidos nos casos de vulvite granular, abortos, repetições de cio e infertilidade de fêmeas, podendo ser transmitido pela monta natural, inseminação artificial e transferência de embriões (CARDOSO; VASCONCELOS, 2004; MARQUES et al., 2009).

O diagnóstico das *Mollicutes* é realizado através de técnicas de isolamento e identificação sorológica das estirpes isoladas (Imunoperoxidase, Imunifluorescência e ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática)). Existem também as técnicas moleculares como a PCR (Reação da Polimerase em Cadeia), que têm sido um grande avanço para o diagnóstico das micoplasmoses, pois além de detectarem estirpes inviáveis para o isolamento, requerem pequenas quantidades de DNA presente na amostra clínica a ser analisada (GHADERSOHI et al., 1997).

A prevenção da infecção por *Mollicutes* deve basear-se em acompanhamento de práticas rígidas de biossegurança, como a quarentena, que evita a introdução de animais infectados em um rebanho livre de *Mollicutes*. Como leite é uma fonte de infecção, pasteurizar antes de oferecer aos bezerros é uma forma de evitar a doença (MOREIRA, 2003).

2.3.2 Agentes virais

2.3.2.1 Vírus da Diarreia Bovina a Vírus

Vírus da Diarreia Bovina a Vírus (BVDV) é considerado um dos principais

patógenos de bovinos e promove significativas perdas econômicas na exploração de corte e leite. A BVDV é responsável por uma ampla variedade de manifestações clínicas, que variam desde infecções inaparentes até uma doença aguda e, consequentemente, fatal (BAKER, 1995).

A primeira descrição do BVDV ocorreu nos anos quarenta no Canadá Ocidental onde ficou conhecida como “doença X”, descrita com duas formas: subaguda e aguda. A primeira esteve provavelmente presente na região durante anos, onde a quantidade de animais afetados em um rebanho era de 1 a 2 animais com posterior morte, com aparecimento de novos casos em algumas semanas, de forma não constante. A forma aguda foi caracterizada com 7 a 10 dias de enfermidade em animais jovens, com um quadro mais severo em animais velhos, levando à morte em 3 a 4 dias (GROENS, 2002). Em 1947 foi publicado que essa doença poderia ser transmitida através de matéria orgânica livre de bactéria, admitindo que o agente infeccioso tratava-se de um vírus (MARQUES, 2003).

A BVDV é um RNA-Vírus de fita simples, não segmentado pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*, que abriga dois outros vírus antígenicamente relacionados: o vírus da Peste Suína Clássica e o vírus da Doença da Fronteira ou “Border Disease” dos ovinos. Devido a esta semelhança pode ocorrer infecção cruzada entre espécies, o que compromete a acurácia dos métodos de diagnóstico sorológico (RADOSTITS et al., 2007).

Dentre as diversas características dos *Pestivirus*, a mais marcante é o seu elevado grau de variabilidade antigênica observado entre as amostras de BVDV (ROEHE et al., 1998). As glicoproteínas do envelope, principalmente a glicoproteína E2, são as que mais possuem variabilidade, tendo uma alta frequência de mutações e recombinações genéticas (DONIS, 1995). Por causa dessa diversidade antigênica de BVDV, foi possível identificar dois grupos distintos, BVDV-1 e BVDV-2. Os vírus do genótipo BVDV-1 abrangem a maioria das cepas vacinais e das estirpes de referência, além de serem responsáveis por infecções de caráter brando a moderado. Em contrapartida, BVDV-2 foi identificado em surtos de BVDV aguda e doença hemorrágica no Canadá, em 1993 e 1994, porém incluem também isolado de virulência baixa ou moderado (FLORES et al., 2005; RADOSTITS et al., 2007).

De acordo com a característica biológica de produzir ou não efeito citopatogênico em cultivo celular, os isolados de campo do BVDV podem ser classificados em biotipo citopático (CP) e biotipo não-citopático (NCP). O vírus

classificado como CP provoca extensos danos nas células do cultivo, como vacuolização citoplasmática e destruição celular completa entre 48 a 72 horas. Já os isolados NPC causam pouca ou nenhuma mudança na morfologia celular, ou seja, sua multiplicação não mata a célula hospedeira. Além disso, estão associados às infecções naturais, enfermidades entéricas, reprodutivas, congênitas. É primordial ressaltar que somente o biótipo não-citopático atravessa a placenta, invade o feto e estabelece nele uma infecção persistente, o que é essencial para a disseminação do vírus no rebanho (FLORES et al., 2007).

O BVDV possui distribuição mundial e a prevalência de anticorpos chega a atingir 70 a 80% dos animais. Na América do Norte e em alguns países europeus, que são livres de Febre Aftosa, o BVDV é considerado o agente viral mais importante de bovinos e tem sido alvo de numerosos estudos e de programas de controle e/ou erradicação durante décadas (FLORES et al., 2005; CANÁRIO et al., 2009). O primeiro relato no Brasil ocorreu no final dos anos 60, onde foi descrito uma doença gastroentérica, com aspectos clínicos e patológicos compatíveis com a forma clássica da infecção por BVDV, e que foi chamada por Doenças das Mucosas (CORRÊA et al., 1968).

O vírus é capaz de infectar uma grande variedade de ruminantes domésticos e silvestres, além de suínos, porém os bovinos são considerados seus hospedeiros naturais. A transmissão horizontal pode ocorrer pelo contato direto entre animais, principalmente pelas mucosas, o que inclui o coito; ou indireto, por meio de secreções como sêmen, aerossóis, nasais, oculares, saliva e fômites. Os animais persistentemente infectados (PI) são as principais fontes de infecção do rebanho, pois excretam o vírus continuamente e em altos títulos, contribuindo para a disseminação e perpetuação do agente infeccioso no plantel (BOLLIN; GROOMS, 2004; FLORES et al., 2005; RADOSTITS et al., 2007). Na forma vertical, além da passagem do vírus da mãe para o feto, os animais recém-nascidos ainda podem se infectar através da ingestão de colostro ou leite oriundo de fêmeas positivas para BVDV (DUBOVI, 1998).

Alguns fatores do hospedeiro influenciam infecção pelo BVDV, sendo eles o hospedeiro imunocompetente ou imunotolerante ao vírus, idade do animal, infecção transplacentária e idade gestacional do feto, indução de tolerância imune no feto e o surgimento de competência imunofetal, aproximadamente em 180 dias de gestação, status imune e presença de fatores estressantes (HIRSH; ZEE, 2003).

Quando a infecção ocorre durante o primeiro trimestre de gestação (entre 40 e 120 dias) pode resultar no nascimento de bezerros vivos que são infectados persistentemente com o vírus da BVDV (RADOSTITS et al., 2002). Neste período o sistema imunológico do feto está em desenvolvimento e só será completo a partir do 125º dia gestacional. Nestes casos o sistema imune do hospedeiro irá reconhecer as proteínas virais como sendo próprias e não produzirá anticorpos contra o BVDV. Esses animais, apesar de serem soronegativos, são portadores e eliminam o vírus continuamente em secreções e excreções (RADOSTITS et al., 2007). A maioria dos bezerros PIs nascem fracos e debilitados, em geral apresentam enfermidades respiratórias, crescimento retardado, malformações congênitas e morrem no primeiro ano de vida. Contudo, existem diversos relatos de animais nessa condição que sobrevive até a idade adulta e são capazes de se reproduzir, gerando progênes PI (FLORES, 2007). Caso ocorra a infecções após 150 dias de gestação, os animais nascidos serão imunocompetentes, capazes de desenvolver uma resposta efetiva contra o vírus e eliminá-lo do organismo. Logo, esses bezerros nascem com anticorpos contra BVDV, mas livres do vírus. Infecção em estágios gestacionais tardios ainda não foi bem documentado, entretanto, abortamentos e nascimentos de animais fracos ou inviáveis já foram relatados (RADOSTITS et al., 2007).

As lesões ocasionadas pelo BVDV em animais infectados ocorrem primariamente no trato gastrointestinal, no sistema linfático e no trato respiratório superior (HIRSH; ZEE, 2003). A Doença das Mucosas (DM) acomete os PIs imunotolerantes ao biótipo NCP de BVDV, que sofrem uma superinfecção com uma estirpe homóloga do biótipo CP do vírus. O vírus CP é, geralmente, originado a partir de mutações ou recombinações genéticas do biótipo NPC do próprio animal. Fontes virais externas, como a aplicação de vacinas vivas modificadas ou infecção com o vírus CP decorrente da transmissão por outros animais, também podem resultar na manifestação da doença. A DM ocorre principalmente em animais entre seis meses e dois anos de idade e é invariavelmente fatal (BAKER, 1995; FLORES et al., 2005; FLORES, 2007; RADOSTITS et al., 2007). Em rebanhos onde a infecção é endêmica, falhas reprodutivas apresentam-se mais evidentes. A infecção antes ou após a cobertura ou através de inseminação artificial (IA) pode resultar em perdas reprodutivas, como infertilidade temporária, retorno ao cio, mortalidade embrionária e fetal, aborto, mumificação, nascimentos de bezerros fracos ou até defeitos congênitos como a microcefalia (BAKER, 1995).

O diagnóstico do BVDV é realizado através da identificação dos sinais clínicos, porém, o diagnóstico definitivo só pode ser dado através de testes laboratoriais como o isolamento viral, que é o método recomendado pela Organização Internacional das Epizootias (OIE) em casos de comércio internacional (OIE, 2009). Esse teste é realizado em culturas celulares de Madin and Darby Bovine Kidney (MDBK) que possibilitam o isolamento de cepas CP e NCP do vírus, sendo a última facilmente identificada pelos efeitos citopáticos causados no tapete celular, após 48 horas da inoculação viral. Por ser uma prova laboriosa, não é indicada para o processamento de um grande número de amostras (SALIKI e DUBOVI, 2004). Como o isolamento viral requer mais tempo para ser realizado, métodos diagnósticos como a imunohistoquímica e ELISA estão adquirindo importância por serem mais baratos, rápidos e apresentarem boa sensibilidade (FLORES, 2007; RADOSTITS et al., 2007).

O prognóstico é desfavorável em casos graves com diarreia aquosa profusa e lesões orais, podendo ser avaliado o abate do animal. Os animais com BVDV crônica devem ser descartados e destruídos (RADOSTITS et al., 2002).

Medidas de controle e erradicação contra a BVDV devem ser realizadas por um profissional responsável pela sanidade do rebanho, podendo constituir da vacinação de todo o lote de animais, detecção dos animais PI, seguida por eliminação destes e um adequado programa de biossegurança na propriedade (HIRSCH; FIGUEIREDO, 2006).

2.3.2.1 Herpesvírus Bovino Tipo 1

O Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) é um vírus pertencente à família *Herpesviridae*, da subfamília *Alphaherpesviridae* e gênero *varicelloviruse*. Seu genoma viral está constituído por uma molécula de DNA de fita dupla linear que se encontra no nucleocapsídeo icosaédrico. Recobrimo o capsídeo encontra-se uma camada proteica amorfa que é chamada de tegumento, e tem como camada mais externa o envelope lipoprotéico, que em sua superfície contém espículas de glicoproteínas que são repensáveis por ativar a resposta imunogênica no hospedeiro (ROIZMAN et al., 1995; METTLENLEITER, 2004).

O BoHV-1 foi isolado pela primeira vez em 1956 nos EUA, a partir de amostras de IBR. Estes achados eram sorologicamente idênticos àqueles que foram isolados na *Vulvovaginite Pustular Infecciosa* (IPV), que posteriormente, na década de 60, foi reconhecido como parte da família *Herpesvirus*.

No Brasil, o primeiro isolamento do BoHV-1, foi em 1978, a partir de amostras de pústulas vaginais de vacas, no estado da Bahia (ALICE, 1978). O BoHV-1 é um dos agentes virais de maior importância na clínica dos bovinos, historicamente é relacionado com doenças respiratórias (IBR), reprodutivas (Balanopostite Pustular Infecciosa – IBP, e IPV) e abortamentos com até 30% das fêmeas prenhes (KAHRS, 2014; ANDREW, 2008).

O BoHV-1 apresenta distribuição mundial. No Brasil, a infecção por herpesvírus bovino vem sendo comprovada, nas últimas três décadas, através de levantamentos soropidemiológicos, utilizando a técnica de virusneutralização. Levantamento realizado por Richtzenhain (1998) em amostras de soro bovino provenientes de rebanhos do Paraná, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul, encontrou uma prevalência média de 69% dos animais soropositivos. Del Fava (2002) ao avaliar 712 vacas não vacinadas contra o BoHV-1, no norte do estado de São Paulo, encontrou 386 (54,2%) fêmeas sororeagentes.

O BoHV-1 é uma doença de alta taxa de morbidade, mas com baixa taxa de mortalidade. No entanto, a enfermidade pode tornar-se mais grave quando é acompanhada por uma infecção bacteriana secundária (ANDREW, 2008). Uma das características importantes do BoHV-1 é sua capacidade de permanecer em estado latente nos gânglios nervosos sensoriais, em particular nos gânglios trigêmeo e sacral (JONES, 2003). A reativação do vírus ocorre quando o animal é submetido a estados de estresse, provocando uma diminuição da resistência imunológica (COLODEL et al., 2002). A partir deste momento haverá a excreção de partículas virais, que são responsáveis pela prevalência da doença dentro do rebanho (VIEIRA et al., 2003; VOGEL et al., 2003). Uma vez infectado, o animal será portador e uma fonte de infecção por toda sua vida, e irá manter o vírus dentro do rebanho (JONES, 2003).

As principais vias de transmissão do vírus são através de secreções nasais e oculares, aerossóis, sêmen, secreções genitais, fluídos e tecidos fetais de animais portadores do vírus, ou por contato com fômites (NANDI et al., 2009). Há também transmissão vertical, onde a vaca prenhe infectada pelo vírus do BoHV-1 transmite

para o conceito intrauterino, em qualquer fase da gestação (PITUCO et al., 2009)

A IPV geralmente se desenvolve de um a três dias após a cobertura. A erosão da vagina e a micção frequente é o sinal mais característico. Os animais afetados apresentam febre, depressão e anorexia. A vulva apresenta-se inchada e hiperêmica com pequenas pústulas, as quais coalescem para formar membranas fibrinosas amareladas, que gradualmente se descolam formando úlceras (TURIN; RUSSO, 2003; ADREW, 2008).

A infecção bacteriana secundária é comum e possui graus variados de corrimentos purulentos. As lesões normalmente desaparecem de 10 a 14 dias após o estabelecimento da doença, mas alguns animais apresentam corrimento vaginal que persiste durante várias semanas (TURIN; RUSSO, 2003). Inseminações artificiais com sêmen contaminado podem causar IPV, cervicite com corrimento mucopurulento e endometrite em vacas. Os abortos normalmente ocorrem dentro de quatro a sete meses da gestação após infecção natural ou vacinação (WEIBLEN et al., 1989). A Balanopostite Pustular Infecciosa também se desenvolve após um período de incubação de um a três dias e lesões similares àquelas do IPV que se desenvolvem na mucosa peniana e prepúcio. As infecções secundárias também são frequentes. A resolução de casos não complicados ocorre dentro de 10 a 14 dias. No entanto, alguns animais podem perder a libido, ter dores durante a ereção e ejaculação e só se recuperam várias semanas após a infecção (WEIBLEN et al., 1992).

O controle e erradicação da infecção pelo BoHV-1 pode-se estabelecer por meio da identificação e remoção dos animais soropositivos (que são portadores da infecção latente), e que podem estar associados ou não ao uso de vacinas (ACKERMANN; ENGELS, 2006). O diagnóstico é realizado pela detecção do vírus ou componentes virais, ou pela presença de anticorpos específicos em animais não vacinados (VIEIRA et al., 2003).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi determinar a prevalência de anticorpos contra Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), Herpesvírus Bovino Tipo 1(BoHV1), *Leptospira* spp. e determinar a prevalência gênero *Mollicutes* em vacas criadas nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, SP. Também avaliou-se a associação destes microrganismos como a presença de alterações reprodutivas e condições de manejo e instalações da propriedade.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar por meio da técnica de vírusneutralização a presença de anticorpos contra o Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), Herpes Vírus Bovino Tipo 1 (BoHV1) em vacas criadas nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema.
- Avaliar por meio da técnica de micro-soroaglutinação a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e suas sorovariedades em vacas criadas nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema.
- Avaliar por meio de PCR em Tempo Real (qPCR) a presença da classe *Mollicutes* em vacas criadas nos assentamentos de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema.
- Relacionar os sinais apresentados pelas vacas durante o exame específico do sistema reprodutor com os dados obtidos na vírusneutralização, micro-soroaglutinação e PCRs.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O Pontal do Paranapanema é formado por 32 municípios (Figura 2), onde se concentram o maior número de assentamentos rurais do estado, com 1,85 milhões de hectares (7,4% do total estadual), dos quais 91,2% estão ocupados por unidades de produção agropecuária, conforme o levantamento censitário de unidades de produção agrícola do estado de São Paulo, realizado no biênio 2007/2008. Os assentamentos criados no período 1984-1990 são resultados de lutas de movimentos sociais isolados e de posseiros. Na década de 90 o Movimento Sem Terra (MST) foi o principal movimento camponês que realizou ocupações no Pontal do Paranapanema (SÃO PAULO, 2009).

Figura 2 - Mapa do Pontal de Paranapanema e seus municípios

Fonte: <http://sit.mda.gov.br/>

4.2 AMOSTRAGEM

A fim de determinar o número de vacas a serem amostradas, fez-se um desenho amostral foi realizado em dois estágios, sendo o primeiro relacionado ao número de propriedades que foram visitadas e o segundo, ao número de animais amostrados em cada propriedade, com utilização da ferramenta EpiTool: Epidemiological Calculator (SERGEAT; ESG, 2015). Para o cálculo, definiu-se como parâmetros de desempenho dos testes diagnósticos a serem utilizados: sensibilidade e especificidade de no mínimo 70 %. Assumiu-se em animais e nas propriedades uma prevalência esperada de no mínimo 47% e 10% respectivamente, com um nível de confiança de 95%. De esta maneira, foram visitadas quarenta e duas propriedades distribuídas proporcionalmente nas regiões, com a coleta de amostras provenientes de quatro animais em cada propriedade.

Na tabela a seguir encontra-se o número de propriedades visitadas em cada município e o total de amostras colhidas (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição de propriedades visitadas e amostras colhidas nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema – São Paulo, Brasil - 2016

Município	Nº de Propriedades visitadas. N (%)	Nº de Amostras Coletadas. N(%)
Presidente Epitácio	12 (28,57)	48 (28,57)
Mirante de Paranapanema	30 (71,43)	120 (71,43)
Total	42 (100)	168 (100)

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

4.3 AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE E DO EXAME ESPECÍFICO DO SISTEMA GENITAL DA FÊMEA

4.3.1 Avaliação da propriedade

Em todas as propriedades visitadas, aplicou-se um questionário

epidemiológico (RIZZO, 2011), para caracterizar a propriedade e a saúde geral e reprodutiva do rebanho (ANEXO A).

4.3.2 Exame específico do sistema genital da fêmea

A fim de avaliar os animais, foram utilizados os métodos descritos por Rosenberger (1993) para avaliação do estado geral do animal e para o exame do sistema reprodutor, com posterior compilação dos dados em ficha clínica (ANEXO B).

4.4 AMOSTRAS

4.4.1 Soro

As amostras foram obtidas por venipunção da veia jugular externa, com coleta de 8mL de sangue utilizando sistema a vácuo (BD vacutainer® seco). Os tubos foram centrifugados a 600 x g durante quinze minutos para obtenção do soro, que posteriormente foram adicionados em microtubos e congelados até o momento do processamento no Laboratório de Viroses de Bovideos e Laboratório de Doenças Bacterinas Reprodutivas, no Instituto Biológico do Estado de São Paulo.

4.4.2 Secreções vaginais

As secreções vaginais foram coletadas com a utilização de um swab estéril que foi introduzido por via vaginal e posteriormente acondicionados em criotubos contendo 500 µl de meio de transporte para micoplasma (ANEXO C) e 500 µl de crioprotetor (glicerol), com acondicionamento em nitrogênio líquido até o momento do processamento no Laboratório de Micoplasmas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo.

4.5 PROCESSAMENTO LABORATORIAL

4.5.1 Detecção de anticorpos contra BVDV e BoHV-1

4.5.1.1 Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV).

Para a reação de vírusneutralização, foram utilizadas placas de micro titulação com 96 cavidades de fundo chato (TPP - Techno Products AG, Switzerland) com os seguintes objetivos: reação, controle de soro, controle de doses e retrotitulação.

Nas placas onde acontece a reação, adicionou-se 100µL de MEM (Meio Essencial Mínimo, Cultilab, Campinas, Brasil) na coluna um – corresponde ao controle de células – e 160 µL nas fileiras A e E - que correspondem ao local onde as amostras são adicionadas. Após a adição de 40 µL de cada amostra, 50 µL de cada poço da fileira A foram passados para a fileira B, repetindo o procedimento até a fileira H. A esta reação, outras duas placas foram adicionadas: a correspondente ao controle do soro e a outra, às doses. Na primeira placa, 100 µL de meio MEM foram adicionados na coluna um, e 40 µL dos soros controle em duplicata na seguinte ordem: forte positivo, médio positivo, fraco positivo e negativo. Na segunda placa, 100 µL de meio MEM foram adicionadas às colunas onze e doze, e nas demais, 40 µL das doses virais correspondentes 1,56 DICTs (dose infectante em cultura de tecido), 3,125 DICTs, 6,25 DICTs, 12,5 DICTs, 25 DICTs, 50 DICTs, 100 DICTs, 200 DICTs, 400 DICTs e 500 DICTs, respectivamente nas colunas um a dez.

Todas as placas foram incubadas em estufa, com 5% de CO₂ a 37°C por uma hora. Em seguida, todas as placas receberam 50 µL de células MDBK na concentração de 2x10⁵ células/mL, exceto nas colunas de controle de soro das placas de reação e nas colunas cinco e dez da placa controle, as quais ficaram vazias. Ao final, as placas foram novamente incubadas à 37°C em estufa com 5% de CO₂ por quatro dias.

As placas foram analisadas por meio de microscópio invertido, buscando a presença do efeito citopático padrão (ECP) para pestivírus. As amostras que não apresentaram ECP foram consideradas reagentes. A presença ECP indica a

ausência de ligação antígeno-anticorpo e a amostra, por tanto, foi considerada não reagente. O título de anticorpos foi obtido pelo inverso da maior diluição no qual o efeito citopático não foi observado.

4.5.1.2 Herpesvírus bovino Tipo 1 (BoHV-1)

Semelhante ao teste para BVDV, placas de micro titulação com 96 poços de fundo chato (TPP - Techno Plastic Products AG, Switzerland) foram utilizadas com os seguintes objetivos: reação, controle de soro, controle de doses e retrotitulação.

A primeira coluna da placa teste foi destinada para o controle de células, a coluna dois para controle da toxicidade de cada soro e nas colunas três até doze, as amostras foram diluídas em série, na base logarítmica 2, a partir da diluição 1:2 até 1:1024, utilizando-se meio MEM. Feita a diluição das amostras, foi adicionada à placa 2000 DICT₅₀/mL do vírus, exceto no controle de células e de soro. Uma placa controle de DICT₅₀ (de 1,98 a 1000 DICT₅₀/mL) e uma placa para retitulação do mesmo vírus utilizando na diluição das doses infectantes, em ambas as placas as colunas 11 e 12 serviram como controle negativo, recebendo somente meio MEM.

Todas as placas foram incubadas com 5% de CO₂ a 37°C por uma hora. Em seguida, todas as placas receberam 100 µL de suspensão de células MDBK na concentração de 3x10⁵ células/mL, em cada poço. As placas foram analisadas por meio de microscópio invertido, após quatro dias de incubação a 37°C e 5% de CO₂. Procurando-se a presença do efeito citopático padrão (ECP) para pestivírus. As amostras que não apresentaram ECP foram consideradas reagentes. A presença de ECP indica a ausência de ligação antígeno-anticorpo e a amostra, portanto, foi considerada não reagente. O título de anticorpos foi obtido pelo inverso da maior diluição no qual o efeito citopático não foi observado.

Os testes foram validados por meio do controle de células, do controle de soros, do resultado dos soros controle, doses de vírus e da retrotitulação, pelo método de Reed e Muench (1938).

4.5.2 Soroaglutinação microscópica para *Leptospira* spp.

As amostras de soro foram processadas pelo teste de soroaglutinação microscópica, teste padrão-ouro recomendado pela Organização Mundial de Saúde com antígenos vivos e leitura em microscópio equipado com condensador de campo escuro (FAINE, 1972). Utilizou-se vinte e dois antígenos pertencentes ao Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo correspondente as seguintes sorovariedades de leptospira: *icterohemorrhagiae*, *canicola*, *pomona*, *grippotyphosa*, *wolffi*, *hardjo*, *australis*, *autumnalis*, *batavica*, *bratislava*, *butembo*, *castellonis*, *copenhageni*, *cynopteri*, *hebdomadis*, *javanica*, *panama*, *pyrogenes*, *shermani*, *tarassovi*, *whitcombi* e *senot*. As Leptospiras foram cultivadas em meios específicos para seu crescimento e desenvolvimento.

4.5.3 Detecção de micoplasmas

4.5.3.1 Cultivo e isolamento

Foi utilizado o meio SP4 (TRULLY, 1995) (ANEXO D) com pH variando entre 7,4 a 7,6. Foram utilizadas placas contendo 5 mL do meio sólido e tubos de ensaio contendo 2 mL do meio líquido. As amostras foram filtradas utilizando filtro estéril para seringa Nylon 30 mm 0,45 µm (JetBiofil, Shanghai, China) (Figura 3). Alíquotas de 25 µL de cada amostra foram plaqueadas em meio sólido (Figura 1) e 100 µL adicionados em meio líquido. As placas e os tubos foram encubados em estufa em aerofilia à 37°C com acompanhamento diário durante 15 dias.

Durante o tempo de leitura das placas em microscópio observou-se a mudança de coloração do indicador de pH do meio líquido (vermelho fenol) e a presença de colônias com aspecto de “ovo frito” no meio sólido. Os isolados foram obtidos a partir de dois repiques consecutivos de colônias isoladas e a identificação da espécie foi realizada pelo teste de PCR convencional.

4.5.4 Extração de DNA

O material genético foi obtido por meio do método de extração por fervura descrita por Fan et al. (1995). Utilizou-se 1 mL da amostra e que posteriormente foi filtrada e centrifugada a 220 x g por 10 minutos em centrífuga refrigerada (Boeco, Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi descartado e o sedimento lavado duas vezes com 200 µL de PBS 1X (2,6 mM NaH₂PO₄, 7,4 mM NaHPO₄, 10 mM NaCl, pH 7.2) e centrifugou-se a 220 x g por 5 minutos. Após que a segunda lavagem, o sedimento obtido foi ressuspensionado em 20 µL do mesmo tampão e colocado em banho-maria seco (Nova Instruments, Piracicaba, Brasil) à 100°C por 10 minutos e em seguida, foi colocado em gelo por 5 minutos. Após estes procedimentos, centrifugou-se novamente a 220 x g por 10 minutos e o sobrenadante foi colocado em microtubos de 0,6 mL (Quiagen, Limburgo, Países Baixos) à -4°C até o momento do processamento.

4.5.5 Reação Cadeia da Polimerase Convencional.

4.5.5.1 PCR para detecção da classe *Mollicutes*

A PCR para determinação da classe *Mollicutes*, também denominada PCR “genérica” tem como iniciadores, *primers* complementares a sequência de oligonucleotídeos do gene 16S do RNA ribossômico dos gêneros pertencentes à Classe *Mollicutes*, descrito por Van Kuppeveld et al. (1992) A reação foi feita para um volume final de 50 µL, constituída por: 5 µL do tampão para PCR (KCL 500 mM, Tris 200 mM em pH 8,4); 2,0 µL MgCl₂(50 mM); 8 µL de solução de desoxirribonucleotídeo (1 mM); 0,8 µL de cada oligonucleotídeo iniciador (50 pmol), 0,2 µL de Ampli Taq DNA Polimerase (Invitrogen TM) e 2 µL de DNA cromossomal. O ciclo de amplificação foi estabelecido por Van Kuppeveld et al. (1992) e é descrito por: 1 ciclo por 5 minutos à 94°C; 34 ciclos à 94°C por 30 segundo e 72°C por 30 segundos e 1 ciclo final à 72°C por 10 minutos. O material amplificado foi acondicionado à 4°C até o momento da eletroforese.

5 ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada com auxílio do programa SAS 9.3 (SAS Institute, USA). Criaram-se grupos de variáveis para obter maior significância nos dados. Estes grupos de variáveis são: Alteações reprodutivas (aborto, Má formação, natimorto, distocia) e Alterações na vagina. (Secreção, Vesículas, Nódulos, Postulas). Foi considerada uma propriedade positiva aquela que tinha pelo menos 1 animais reagente ou com sorologia positiva para os agentes infecciosos estudados. Foi usado o procedimento PROC FREQ, para estabelecer a frequências das variáveis e posteriormente foi usado o teste de Q-quadrado para mostrar diferença na relação a porcentagem das diferentes variáveis estudadas. Se o numero de unidades experimentais fossem igual ou menor a 15k, (onde k é o número de respostas estudadas) foi utilizado o Q-quadrado. Quando a frequências foi menor o que 20, o quando a frequências total estiver entre 20 e 40, mais com a frequência esperada mínima fosse menor que 5, utilizou-se o teste exato de Fisher. Para todos os testes realizados foi adotado o nível de significância de 5%.

6 RESULTADO

Os resultados da análise descritiva referente aos quatro agentes relacionados a enfermidades do sistema reprodutivo dos bovinos: BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp. e *Mollicutes*, encontram-se nas tabelas abaixo.

6.1 VIRUSNEUTRALIZAÇÃO PARA BOHV-1 E BVDV

O teste de virusneutralização para BoHV-1 e BVDV foi realizada em 168 amostras coletadas nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema. Das amostras analisadas, 69,05% (116/168) foram reagentes para BoHV-1 e 57,74% (94/168) para BVDV (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição de animais reagentes e não reagentes ao teste de vírus-neutralização BoHV-1 e BVDV em amostras de soro de vacas criadas nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Vírus	Reagente % (N/Total)	Não Reagente % (N/Total)
BoHV -1	69,05 (116/168)	30,95 (52/168)
BVDV	57,74 (94/168)	42,46 (74/168)

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

A prevalência de anticorpos contra BoHV-1 foi maior nos assentamentos localizados nos municípios de Mirante de Paranapanema. No entanto, a prevalência de BVDV se mostrou mais elevada em Presidente Epitácio (Tabela 3).

Tabela 3 - Prevalência de anticorpos contra BoHV-1 e BVDV no rebanho após virusneutralização em amostras de soro de vacas criadas nos assentamentos dos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

Município	BoHV -1	BVDV
	Positivos/Total % (N/Total)	Positivo/Total % (N/Total)
Presidente Epitácio	75 (9/12)	83,33 (10/12)
Mirante de Paranapanema	90 (27/30)	63,33 (19/30)

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

6.2 MICROSOROAGLUTINAÇÃO PARA *LEPTOSPIRA* SPP.

O teste mostrou que 58,93% (99/168) das amostras processadas foram reagentes para *Leptospira* spp. (Tabela 4). Foi observado, também, maior prevalência de anticorpos contra os seguintes sorovariedades Wolfii 61,62% (61/99), Hardjo 53,54 (53/99) e Icterohemorragie 51,52% (51/99).

Tabela 4 - Descrição das amostras reagentes e não reagentes ao teste de microsoroaglutinação para detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp. e as sorovariedades do Instituto Biológico de São Paulo em amostras de soro de vacas criadas nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Sorovariedades	Reagente % (N/Total)	Não Reagente % (N/Total)
<i>Leptospira</i> spp.	58,93% (99/168)	41,07 (69/168)
L.sorovariedade Wolffi	61,62% (61/99)	
L. sorovariedade Hadjo	53,54% (53/99)	
L.sorovariedade Icterohemorragie	51,52 % (51/99)	
L.sorovariedade Pomona	10,10% (10/99)	
L.sorovariedade Bratislava	09,09% (9/99)	
L.sorovariedade Pyrogenes	06,06% (6/99)	
L.sorovariedade Australis	01,01% (1/99)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

6.3 PCR CONVENCIONAL PARA IDENTIFICAÇÃO DA CLASSE *MOLLICUTES*

Após a PCR convencional para a detecção de bactérias da classe *Mollicutes*, observou-se que das 108 amostras analisadas, 54 (50%) foram positivas (Tabela 5).

Tabela 5 - Descrição dos animais positivos no teste de PCR convencional para detecção de bactérias da classe *Mollicutes* em amostras de swab vaginais de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Classe	Positivo	Negativo
	% (N/Total)	% (N/Total)
Mollicutes	50 (54/108)	50 (54/108)

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

6.4 BoHV -1

6.4.1 Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas

Foi observado uma tendência de associação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e o número de partos ($p=0,0556$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes e não reagentes com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Nº partos	BoHV-1		Valor P
	Positivo	Negativo	
	% (N)	% (N)	
Primípara	36,21 (42/116)	51,92 (27/52)	0,0556
Múltípara	63,79 (74/116)	48,08 (25/52)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e o ECC ($p=0,8605$) (Tabela 7).

Tabela 7 - Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes e não reagentes com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

ECC	BoHV-1		Valor P
	Positivo	Negativo	
	% (N)	% (N)	
≤ 2,5	14,66 (17/116)	11,54 (6/52)	0,8605
2,75 a 3,5	67,24 (78/116)	69,23 (36/52)	
3,75 ≥	18,10 (21/116)	19,23 (10/52)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e prenhez ($p=0,8620$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Prevalência de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável prenhes em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016.

Prenhes	BoHV-1		Valor P
	Positivo	Negativo	
	% (N)	% (N)	
Prenhe	69,83 (81/116)	71,15 (37/52)	0,8620
Não prenhes	30,17 (35/116)	28,85 (15/52)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e data do último parto ($p=0,4901$) (Tabela 9).

Tabela 9 - Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes e não reagentes com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Data do último parto	BoHV-1		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
≤3 meses	33,62 (39/116)	36,54 (19/52)	0,4901
3 a 9	47,41 (55/116)	51,92 (27/52)	
10 ≥ meses	18,97 (22/116)	11,54 (6/52)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e alterações pós-parto ($p=0,1653$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações pós parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Alterações do pós-parto	BoHV-1		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	12,93 (15/116)	5,87 (3/52)	0,1653
Ausente	87,7 (101/116)	94,23 (49/52)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

* Alterações reprodutivas como aborto, natimorto, malformações e distocias

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e retenção de placenta ($p=0,6521$) (Tabela 11).

Tabela 11 - Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável retenção de placenta em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Retenção de placenta	BoHV-1		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	4,31 (5/116)	1,92 (1/52)	0,6521
Ausente	95,69 (111/116)	98,08 (51/52)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e o alterações em vagina ($p=0,6766$) (Tabela 12).

Tabela 12 - Relação entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações na vagina em de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Alterações na vagina	BoHV-1		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	11,21 (13/116)	13,46 (7/52)	0,6766
Ausente	88,79 (103/116)	86,54 (45/52)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

*Alterações na vagina (edema, secreção, traumas, vesículas, nódulos e pústulas)

6.4.2 Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e presença de áreas alagadiças ($p=0,2509$), tamanho do criatório ($p=0,4332$) e tipo de criação ($p=0,7317$) (Tabela 13).

Tabela 13 - Relação entre a presença para BoHV-1 comparadas ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	BoHV-1		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Tamanho do criatório			
≤ 12 hectares	83,33 (30/36)	83,33 (5/6)	0,4332
> 13 hectares	16,67 (6/36)	16,67(1/6)	
Tipo de criação			
Semi e Intensivo	94,44 (34/36)	100 (6)	0,7317
Extensivo	5,56 (2/36)	0 (0/6)	
Presença de áreas alagadiças			
Presente	2,78 (1/36)	16,67 (1/6)	0,2509
Ausente	97,22 (35/36)	83,33(5/6)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e o tipo de alimentação ($p=0,3827$) (Tabela 14).

Tabela 14 - Relação entre as propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil- 2016

Tipo de alimentação	BoHV-1		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Pastagem	91,67 (33/36)	83,33 (5/6)	0,3827
Silagem	8,33 (3/36)	16,67 (1/6)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e o número de bovinos ($p=0,1869$), total de vacas ($p=0,1404$), total de bezerros ($p=0,8605$) e manejo reprodutivo ($p=0,4243$) (Tabela 15).

Tabela 15 - Relação entre propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	BoHV-1		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Nº total de bovinos			
≤ 50 animais	41,67 (15/36)	66,67 (4/6)	0,1869
> 50 animais	58,33 (21/36)	33,33 (2/6)	
Nº total de vacas			
≤ 40 vacas	69,44 (25/36)	100 (6/6)	0,1404
> 40 vacas	30,56 (11/36)	0 (0/6)	
Nº total de bezerros			
≤ 25 bezerros	75 (27/36)	83,33 (5/6)	0,3839
> 25 bezerros	25 (9/36)	16,67 (1/6)	
Manejo reprodutivo			
IA	19,44 (7/36)	16,67 (1/6)	0,4243
touro	80,56 (29/36)	83,33 (5/6)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e outras espécies domésticas ($p=0,5263$) (Tabela 16).

Tabela 16 - Relação entre as propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas com a variável presença de espécies domésticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

		BoHV-1		Valor de P
		Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Espécies domésticas				
Presente	88,89 (32/36)	100 (6/6)	0, 5263	
Ausente	11,11 (4/36)	0 (0/6)		
Cavalo				
Presente	75 (27/36)	66,67 (4/6)	0, 3299	
Ausente	25 (9/36)	33,33 (2/6)		
Cão				
Presente	61,11 (22/36)	50(3/6)	0, 2981	
Ausente	38,89 (14/36)	50 (3/6)		
Gato				
Presente	8,33 (3/36)	0 (0/6)	0, 6220	
Ausente	91,67 (33/36)	100 (6/6)		
Aves domésticas				
Presente	22,22 (8/36)	22,22 (2/6)	0, 3085	
Ausente	77,78 (28/36)	66,67 (4/6)		
Suíno				
Presente	19,44 (7/36)	16,67 (1/6)	0, 4243	
Ausente	80,56 (29/36)	83,83 (5/6)		
Caprino				
Presente	2,78 (1/36)	0 (0/6)	0, 8571	
Ausente	97,22 (35/36)	100 (6/6)		
Ovino				
Presente	19,44 (7/36)	33,33 (2/6)	0, 2808	
Ausente	80,56 (29/36)	66,67 (4/6)		

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BoHV-1 e casos de abortamento ($p=0,2537$), repetição de cio ($p=0,6448$) e natimortos ($p=0,2837$) (Tabela17).

Tabela 17 - Propriedades positivas e negativas para BoHV-1 comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	BoHV-1		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Aborto			
Ausente	66,67 (24/36)	50 (3/6)	0,2537
Presente	33,33 (12/36)	50 (3/6)	
Repetição de cio			
Ausente	36,11 (13/36)	16,67 (1/6)	0,6448
Presente	63,29 (23/36)	83,33 (5/6)	
Natimortos			
Ausente	52,78 (19/36)	66,67 (4/6)	0,2837
Presente	47,22 (17/36)	33,33 (2/6)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

6.5 BVDV

6.5.1 Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e o número de partos ($p=0,7899$) (Tabela 18).

Tabela 18 - Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	BVDV		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Nº partos			
Primípara	40,21 (39/97)	42,25 (30/71)	0,7899
Múltipara	59,79 (58/97)	57,75 (41/71)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e o ECC ($p=0,2657$) (Tabela 19).

Tabela 19 - Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

ECC	BVDV		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
≤ 2,5	10,31 (10/97)	18,31 (13/71)	0,2657
2,75 a 3,5	72,16 (70/97)	61,97 (44/71)	
3,75 ≥	17,53 (17/97)	19,72 (14/71)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e a prenhez ($p=0,327$) (Tabela 20).

Tabela 20 - Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável prenhes em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Prenhes	BVDV		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Prenha	26,80(26/97)	33,80 (24/71)	0,327
Não prenha	73,20 (71/97)	67,20 (47/71)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e a data do último parto ($p=0,5103$) (Tabela 21).

Tabela 21 - Relação entre presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Último parto	BVDV		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
≤3 meses	38,14 (37/97)	29,58 (21/71)	0,5103
3 a 9	46,39 (45/97)	52,11 (37/71)	
10 ≥ meses	15,46 (15/97)	18,31 (13/71)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016).

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e alterações pós-parto ($p=0,188$) (Tabela 22).

Tabela 22 - Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável alteração pós parto em soros de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Alterações do reprodutivas	BVDV		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	13,40 (13/97)	7,04 (5/71)	0,188
Ausente	86,60 (84/97)	92,96 (66/71)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e retenção de placenta ($p=0,6521$) (Tabela 23).

Tabela 23 - Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável retenção de placenta em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Retenção de placenta	BVDV		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	4,12 (4/97)	2,82 (2/71)	0,6521
Ausente	95,88 (93/97)	97,18 (69/71)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e alterações de vagina ($p=0,4554$) (Tabela 24).

Tabela 24 - Relação entre a presença de anticorpos contra BVDV em animais reagentes e não reagentes com a variável alterações na vagina em de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – Brasil - 2016

Alterações na vagina	BVDV		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	10,31 (10/97)	14,08 (10/71)	0,4554
Ausente	89,69 (87/97)	85,92 (61/71)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

*Alterações na vagina (edema, secreção, vesículas, nódulos e pústulas)

6.5.2 Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e tamanho do criatório ($p=0,0968$), tipo de criação ($p=0,5285$) e presença de áreas alagadiças ($p=0,4679$) (Tabela 25).

Tabela 25 - Relação entre as propriedades positivas e negativas para BVDV comparada ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	BVDV		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Tamanho do criatório			
≤ 12 hectares	89,66 (26/29)	69,23 (9/13)	0,0968
> 13 hectares	10,34 (3/29)	30,77 (4/13)	
Tipo de criação			
Semi e Intensivo	96,55 (28/29)	92,31 (12/13)	0,5285
Extensivo	3,45 (1/29)	7,69 (1/13)	
Presença de áreas alagadiças			
Presente	3,45 (1/29)	7,69 (1/13)	0,4679
Ausente	96,55 (28/29)	92,31 (12/13)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e tipo de alimentação ($p=0,2829$) (Tabela 26).

Tabela 26 - Relação entre as propriedades positivas e negativas para BVDV comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	BVDV		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Tipo de alimentação			
Pastagem	93,10 (27/29)	84,62 (11/13)	0,2829
Silagem	6,9 (2/29)	15,38 (2/13)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e o número total de animais ($p=0,453$), número de vacas ($p=0,608$), número de bezerros ($0,2275$) e manejo reprodutivo ($p=0,2878$) (Tabela 27).

Tabela 27 - Relação entre a presença de propriedades positivas e negativas para BVDV comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	BVDV		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Nº total de animais			
≤ 50 animais	41,38 (12/29)	53,85 (7/13)	0,453
> 50 animais	58,62 (17/29)	46,15 (6/13)	
Nº total de vacas			
≤ 40 vacas	65,52 (19/29)	92,31 (12/13)	0,608
> 40 vacas	34,48(10/29)	7,69 (1/13)	
Nº total de bezerros			
≤ 25 bezerros	27,59 (8/29)	84,62(11/13)	0,2275
> 25 bezerros	72,41(21/29)	15,38 (2/13)	
Manejo reprodutivo			
IA	17,24 (5/29)	23,08 (3/13)	0,2878
Natural	82,76 (24/29)	76,92 (10/13)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e a presença de espécies domésticas ($p=0,4244$) (Tabela 29).

Tabela 28 - Relação entre as propriedades positivas e negativas para BVDV comparadas com a variável presença de espécies domésticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

		BVDV		Valor de P
		Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Espécies domésticas				
	Presente	89,66 (26/29)	92,31 (12/13)	0,4244
	Ausente	10,34(3/29)	7,69(1/13)	
Cavalo				
	Presente	72,41 (21/29)	76,92 (10/13)	0,2868
	Ausente	27,5 (8/29)	23,08 (3/13)	
Cão				
	Presente	65,52 (19/29)	46,15 (6/13)	0,2372
	Ausente	34,48 (10/29)	53,85 (7/13)	
Gato				
	Presente	10,34 (3/29)	0/13	0,3183
	Ausente	89,66 (26/29)	100 (13/13)	
Aves domésticas				
	Presente	24,14 (7/29)	23,08 (3/13)	0,3034
	Ausente	75,86 (22/29)	76,92 (10/13)	
Suíno				
	Presente	20,69(6/29)	15,38 (2/13)	0,3139
	Ausente	79,31 (23/29)	84,62 (11/13)	
Caprino				
	Presente	3,45 (1/29)	0 (0/13)	0,6905
	Ausente	96,55 (28/29)	100 (13/13)	
Ovino				
	Presente	20,69 (6/29)	23,08 (3/13)	0,3047
	Ausente	79,31 (23/29)	76,96 (10/13)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra BVDV e a presença de aborto ($p=0,2613$), presença de cio ($p=0,2709$) e natimortos (0,9364) (Tabela 29).

Tabela 29 - Relação entre a presença de propriedades positivas e negativas a BVDV comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - Brasil, 2016

	BVDV		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Aborto			
Ausente	65,52 (19/29)	61,54 (8/13)	0,2613
Presente	34,48 (10/29)	38,46 (5/13)	
Repetição de cio			
Ausente	34,48 (10/29)	30,77 (4/13)	0,2709
Presente	65,52 (19/29)	69,23 (9/13)	
Natimortos			
Ausente	55,17 (16/29)	53,85 (7/13)	0,9364
Presente	44,83 (13/29)	48,15 (6/13)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

6.6 LEPTOSPIRA SPP.

6.6.1 Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e o numero de partos ($p=1$) (Tabela 30).

Tabela 30 - Relação entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais reagentes e não reagentes (negativo) com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	<i>Leptospira</i> spp.		Valor de P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Nº partos			
Primípara	58,6 (41/99)	41,4 (29/69)	1,000
Múltipara	59,2 (58/99)	40,8 (40/69)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. BVDV e o ECC ($p=0,1594$) (Tabela 31).

Tabela 31 - Relação entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais reagentes e não reagentes com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

ECC	<i>Leptospira</i> spp.		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
$\leq 2,5$	13,13 (13/99)	14,49 (10/69)	0,1594
2,75 a 3,5	63,64 (63/99)	73,91 (51/69)	
$3,75 \geq$	23,23 (23/99)	11,59 (8/69)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e a prenhez ($p=0,1198$) (Tabela 32).

Tabela 32 - Relação entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais reagentes e não reagentes com a variável prenhez em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

Prenhes	<i>Leptospira</i> spp.		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Prenhe	34,34 (34/99)	23,19 (16/69)	0,1198
Não prenhe	65,66 (65/99)	76,81 (53/69)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e a data do último parto ($p=0,2819$) (Tabela 33).

Tabela 33 - Relação entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Data do último parto	<i>Leptospira</i> spp.		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
≤3 meses	31,31 (27/99)	39,13 (27/69)	0,2819
3 a 9	48,48 (34/99)	49,28 (34/69)	
10 ≥ meses	20,20 (20/99)	11,59 (8/69)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e alterações reprodutivas ($p=0,2264$) (Tabela 34).

Tabela 34 - Relação entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações pós parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema São Paulo, Brasil - 2016

Alteração reprodutivas	<i>Leptospira</i> spp.		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	13,13 (13/99)	7,25 (5/69)	0,2264
Ausente	86,87 (86/99)	92,75 (64/69)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e a retenção de placenta ($p=0,0373$) (Tabela 35).

Tabela 35 - Relação entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais reagentes e não reagentes com a variável alteração no útero em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Retenção de placenta	<i>Leptospira</i> spp.		Valor P	OR (I.C. 95%)
	Positivo % (N)	Negativo % (N)		
Presente	6,06 (6/99)	0 (0/69)	0,0373	0,574 (0,503-0,655)
Ausente	93,94 (93/99)	100 (69/69)		

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e alterações na vagina ($p=0,3872$) (Tabela 36).

Tabela 36 - Relação entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais reagentes (positivo) e não reagentes (negativo) com a variável alterações na vagina em de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

Alterações na vagina	<i>Leptospira</i> spp.		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	10,10 (10/99)	14,49 (10/69)	0,3872
Ausente	89,90 (89/99)	85,51 (59/69)	

*Alterações na vagina (edema, secreção, vesículas, nódulos e pústulas)

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

6.6.2 Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e o tamanho da propriedade ($p=0,5701$), tipo de criação ($p=0,8606$) e presença de áreas alagadiças ($p=0,8606$) (Tabela 37).

Tabela 37 - Relação entre propriedades positivas e negativas para *Leptospira* spp. comparada ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

	<i>Leptospira</i> spp.		Valor de P
	Propriedade Positiva	Propriedade Negativa	
	% (N)	% (N)	
Tamanho do criatório			
≤ 12 hectares	82,05 (32/39)	100 (3/3)	0,5701
> 13 hectares	17,95 (7/39)	0 (0/3)	
Tipo de criação			
Semi e Intensivo	94,87 (37/39)	100 (3/3)	0,8606
Extensivo	5,13 (2/39)	0 (0/3)	
Presença de áreas alagadiças			
Presente	5,13 (2/39)	0 (0/3)	0,8606
Ausente	94,87 (37/39)	100 (3/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e o tipo de alimentação ($p=0,7348$) (Tabela 38).

Tabela 38 - Relação entre propriedades positivas e negativas para *Leptospira* spp. comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

Alimentação	<i>Leptospira</i> spp.		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Pastagem	89,74 (35/39)	100 (3/3)	0,7348
Silagem	10,26 (4/39)	0 (0/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e a presença de número total de animais ($p=0,3426$), número de vacas (0,3916), número de bezerros (0,4321) e o manejo reprodutivo ($p=0,3909$) (Tabela 39).

Tabela 39 - Relação entre propriedades positivas e negativas para *Leptospira* spp. comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

	<i>Leptospira</i> spp.		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Nº Total de animais			
≤ 50 animais	43,59 (17/39)	66,67 (2/3)	0,3426
> 50 animais	56,41 (22/39)	33,33 (1/3)	
Nº de vacas			
≤ 40 vacas	71,79 (28/39)	100 (3/3)	0,3916
> 40 vacas	28,21 (11/39)	0 (0/3)	
Nº de bezerros			
≤ 25 bezerros	76,92 (30/39)	66,67 (2/3)	0,4321
> 25 bezerros	23,08 (9/39)	33,33 (1/3)	
Manejo reprodutivo			
IA	17,95 (7/39)	33,33 (1/3)	0,3909
Touro	82,05 (32/39)	66,67 (2/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e a presença de espécies domésticas ($p=0,7348$) (Tabela 40).

Tabela 40 - Relação entre as propriedades positivas e negativas para *Leptospira* spp. comparadas com a variável presença de espécies domésticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Leptospira spp.			
	Propriedade Positiva	Propriedade Negativa	Valor de P
	% (N)	% (N)	
Espécies domésticas			
Presente	89,74 (35/39)	100(3/3)	0,7348
Ausente	10,26 (4/39)	0 (0/3)	
Cavalo			
Presente	71,79 (28/39)	100 (3/3)	0,3916
Ausente	28,21 (11/39)	0 (0/3)	
Cão			
Presente	56,41 (22/39)	100 (3/3)	0,2003
Ausente	43,49 (17/39)	0 (0/3)	
Gato			
Presente	7,69 (3/39)	0 (0/3)	0,7961
Ausente	92,31 (36/39)	100 (3/3)	
Aves domésticas			
Presente	23,08 (9/39)	33,33 (1/3)	0,4321
Ausente	76,92 (30/39)	66,67(2/3)	
Suíno			
Presente	20,51 (8/39)	0 (0/3)	0,5213
Ausente	79,49 (31/39)	100 (3/3)	
Caprino			
Presente	2,56 (1/39)	0 (0/3)	0,9286
Ausente	97,44 (38/39)	100 (3/3)	
Ovino			
Presente	23,08 (9/39)	0 (0/3)	0,4753
Ausente	76,92 (30/39)	100 (3/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. e o aborto ($p=0,247$), repetição de cio ($p=0,461$) e natimortos ($p=0,4187$) (Tabela 41).

Tabela 41 - Relação entre as propriedades positivas e negativas para *Leptospira* spp. comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	<i>Leptospira</i> spp.		Valor de P
	Propriedade Positiva	Propriedade Negativa	
	% (N)	% (N)	
Aborto			
Ausente	66,67 (26/39)	33,33 (1/3)	0,247
Presente	33,33 (13/39)	66,67 (2/3)	
Repetição de cio			
Ausente	33,33 (13/39)	33,33 (1/3)	0,461
Presente	66,67 (26/39)	66,67 (2/3)	
Natimortos			
Ausente	53,85 (21/39)	66,67 (2/3)	0,4187
Presente	46,15 (18/39)	33,33 (1/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

6.7 CLASSE *MOLLICUTES*

6.7.1 Relação entre o micro-organismo e as manifestações clínicas

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e o número de partos ($p=0,4411$) (Tabela 42).

Tabela 42 - Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe *Mollicutes* comparado com a variável número de partos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor P
	Positivo	Negativo	
Nº partos	% (N)	% (N)	
Primíparas	44,44 (24/54)	51,85 (28/54)	0,4411
Múltiparas	55,56 (30/54)	48,15 (26/54)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e o ECC ($p=0,4627$) (Tabela 43).

Tabela 43 - Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe *Mollicutes* comparado com a variável escore de condição corporal (ECC) em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

ECC	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
≤ 2,5	16,67 (9/54)	12,96 (7/54)	0,4627
2,75 a 3,5	61,11 (33/54)	72,22 (39/54)	
3,75 ≥	22,22 (12/54)	14,71 (8/54)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e a prenhez (p=0,3107) (Tabela 44).

Tabela 44 - Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe *Mollicutes* comparado com a variável prenhes em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

Prenhes	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Prenhe	29,36 (16/54)	38,89 (21/54)	0,3107
Não prenhe	70,37 (38/54)	61,11 (33/54)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e a data do último parto (p=0,4389) (Tabela 45).

Tabela 45 - Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe *Mollicutes* comparado com a variável data do último parto em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Data do último parto	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
≤3 meses	35,19 (19/54)	29,63 (16/54)	0,4389
3 a 9	51,85 (28/54)	48,15 (26/54)	
10 ≥ meses	12,96 (7/54)	22,22 (12/54)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e Alterações reprodutivas ($p=1,00$) (Tabela 46).

Tabela 46 - Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe *Mollicutes* comparado com a variável alterações reprodutivas em vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016.

Alterações do Reprodutivas	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	9,26 (5/54)	9,26 (5/54)	1,00
Ausente	90,74 (49/54)	90,74 (49/54)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Houve significância entre a presença de *Mollicutes* e a retenção de placenta ($p=0,022$) (Tabela 47).

Tabela 47 - Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe *Mollicutes* comparado com a variável Retenção de placenta de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016.

Retenção de Placenta	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor de P	OR (I.C. 95%)
	Positivo % (N)	Negativo % (N)		
Presente	0 (0/54)	9,26 (5/54)	0,022	0,476 (0,388-0,583)
Ausente	100 (54/54)	90,74 (49/54)		

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e alterações na vagina ($p=1,00$) (Tabela 48).

Tabela 48 - Relação entre a presença de animais positivos ao teste de PCR para detecção da classe *Mollicutes* comparado com a variável alteração na vagina em soros de vacas das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016.

Alterações na Vagina	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor P
	Positivo % (N)	Negativo % (N)	
Presente	11,11 (6/54)	11,11 (6/54)	1,00
Ausente	88,89 (48/54)	88,89 (48/54)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

6.7.2 Relação entre o micro-organismo e as características das propriedades

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e tamanho da propriedade ($p=0,3897$), tipo de criação ($p=0,8889$) e presença de áreas alagadiças ($p=0,8889$) (Tabela 49).

Tabela 49 - Relação de propriedades positivas e negativas para a classe *Mollicutes* comparadas ao tamanho do criatório, tipo de criação e presença de área alagadiça nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016.

	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor de P
	Propriedade Positiva	Propriedade Negativa	
	% (N)	% (N)	
Tamanho do criatório			
≤ 12 hectares	70,83(17/24)	100 (3/3)	0,3897
> 13 hectares	29,17 (7/24)	0 (0/3)	
Tipo de criação			
Semi e Intensivo	95,83 (23/24)	100 (3/3)	0,8889
Extensivo	4,17 (1/24)	0 (0/3)	
Presença de áreas alagadiças			
Presente	4,17 (1/24)	0 (0/3)	0,8889
Ausente	95,83(23/24)	100 (3/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e tipo de alimentação ($p=0,6055$) (Tabela 50).

Tabela 50 - Relação de propriedades positivas e negativas para a classe *Mollicutes* comparadas ao tipo de alimentação nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo – 2016

Tipo de alimentação	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Pastagem	83,33 (20/24)	100 (3/3)	0,6055
Silagem	16,67 (4/24)	0 (0/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e o número total de animais ($p=0,4650$), número de vacas ($p=0,2215$), número de bezerros ($p=0,4547$) e manejo reprodutivo ($p=0,6055$) (Tabela 51).

Tabela 51 - Relação de propriedades positivas e negativas para a classe *Mollicutes* comparadas com o número total de animais, número de vacas, número de bezerros e manejo reprodutivo nos municípios de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo - 2016

	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Nº Total de Animais			
≤ 50 animais	30,50 (9/24)	33,33 (1/3)	0,465
> 50 animais	62,50 (15/24)	66,67 (2/3)	
Nº de vacas			
≤ 40 vacas	70,83 (17/24)	33,33 (1/3)	0,2215
> 40 vacas	29,17 (7/24)	66,67 (2/3)	
Nº de bezerros			
≤ 25 bezerros	75 (18/24)	100 (3/3)	0,4547
> 25 bezerros	25 (6/24)	0 (0/3)	
Manejo reprodutivo			
IA	16,67 (4/24)	0 (0/3)	0,6055
Touro	83,33 (20/24)	100 (3/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e a presença de espécies domésticas ($p=0,8889$) (Tabela 52).

Tabela 52 - Relação de propriedades positivas e negativas para a classe *Mollicutes* comparadas com a variável presença de espécies domésticas: cavalo, cão, gato, aves domésticas, suíno, caprino e ovino das propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema – São Paulo, Brasil, 2016.

(continua)

	Classe <i>Mollicutes</i>		Valor de P
	Propriedade Positiva % (N)	Propriedade Negativa % (N)	
Espécies domésticas			
Presente	95,83 (23/24)	100 (3/3)	0,8889
Ausente	4,17 (1/24)	0 (0/3)	
Cavalo			
Presente	70,83 (17/24)	100 (3/3)	0,3897
Ausente	29,17 (7)	0 (0/3)	
Cão			
Presente	66,67 (16/24)	66,67 (2/3)	0,4708
Ausente	33,33 (8/24)	33,33 (1/3)	

Classe <i>Mollicutes</i>			(conclusão)
	Propriedade Positiva	Propriedade Negativa	Valor de P
	% (N)	% (N)	
Gato			
Presente	8,33 (2/24)	0 (0/3)	0,7863
Ausente	91,67 (22/24)	100 (3/3)	
Aves domésticas			
Presente	25 (6/24)	0 (0/3)	0,4547
Ausente	75 (18/24)	100 (3/3)	
Suíno			
Presente	25 (6/24)	33,33 (1/3)	0,4547
Ausente	75 (18/24)	66,67 (2/3)	
Caprino			
Presente	4,17 (1/24)	0 (0/3)	0,8889
Ausente	95,83 (23/24)	100 (3/3)	
Ovino			
Presente	29,17 (7/24)	33,33 (1/3)	0,4677
Ausente	70,83 (17/24)	66,67 (2/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

Não houve significância entre a presença de *Mollicutes* e a presença de aborto ($p=3897$), repetição de cio ($p=0,4547$) e natimorto ($p=0,8385$) (Tabela 53).

Tabela 53 - Relação de propriedades positivas e negativas a classe *Mollicutes* comparadas com a presença ou ausência de abortos, repetição de cio, natimortos nas propriedades de Presidente Epitácio e Mirante de Paranapanema, São Paulo, Brasil - 2016

Classe <i>Mollicutes</i>			
	Propriedade Positiva	Propriedade Negativa	Valor de P
	% (N)	% (N)	
Aborto			
Ausente	70,83 (17/24)	100 (3/3)	0,3897
Presente	29,17 (7/24)	0 (0/3)	
Repetição de cio			
Ausente	25 (6/24)	33,33 (1/3)	0,4547
Presente	75 (18/24)	66,67 (2/3)	
Natimortos			
Ausente	41,67 (10/24)	66,67 (2/3)	0,8385
Presente	58,33 (14/24)	33,33 (1/3)	

Fonte: (REYES, M. A., 2016)

7 DISCUSSÃO

Diversos agentes etiológicos podem estar presentes em rebanhos bovinos com histórico de problemas reprodutivos como mumificação fetal, aborto, retenção de placenta, reabsorção embrionária, morte fetal, maceração fetal, partos prematuros, natimortos ou nascimento de bezerros fracos (GUIMARÃES JUNIOR; ROMANELLI, 2006). Entre eles estão o BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp. ou algumas espécies da classe *Mollicutes* como *Mycoplasma* e *Ureaplasma*. Estes podem estar presentes na mucosa vaginal, na mucosa do prepúcio, no sêmen, na saliva, expulsos no espirro, nos fomites do confinamento (coxo de alimentação, nos bebedouros, na cama, na máquina de ordenha). (ROSENBERGER, 1983).

Neste estudo avaliaram-se 42 propriedades que foram coletadas da seguinte forma 12 propriedades no município de Presidente Epitácio e 30 propriedades no município de Mirante de Paranapanema obtendo 4 amostras por propriedade dando um total de 168 amostras.

7.1 BoHV-1 - CHECAR SE FOI NUMÉRICO OU REALMENTE FOI DIFERENTE

Neste estudo, das 42 propriedades avaliadas obteve-se 69,05% de animais reagentes para o vírus de BoHV-1. No estado de Pernambuco foi encontrado 79,05% (DOS SANTOS SILVA et al., 2015), oeste de Santa Catarina 57,54% (PASQUALOTTO et al., 2015) e em assentamentos do Corumbá, Mato grosso do Sul, 50,85% (TOMICCH, 2004). Na comparação dos estudos anteriores nota-se que a prevalência encontrada é alta. As diferenças entre os resultados apresentados são justificadas, por exemplo, pelo tipo de criação, manejo dos animais, idade, fatores climáticos e geográficos (DE FREITAS et al., 2014).

As vacas multíparas foram mais reagentes que as primíparas, resultado semelhante ao descrito por Chaves et al. (2010), que mencionaram que fêmeas com maior número de partos são mais susceptíveis ao vírus, pois possuem maior probabilidade de contato com infectados que estão excretando o vírus. O autor relata também que o maior número de partos e lactações submetem os animais a

maiores estresses causando imunossupressão e predispondo a infecção.

Em relação a variável escore de condição corporal, verificou-se que houve maior número de animais reagentes cujo escore estavam entre 2,75 e 3,5 (67,24%), que são os escores esperados em uma produção leiteira, logo, nota-se que uma boa condição corporal não é um fator limitante para ocorrer a infecção pelo vírus.

A frequência de animais positivos foi maior em vacas gestantes (69,83%). Segundo Flores (2007), os fatores de disseminação do vírus BoHV-1 são devido a erros no manejo reprodutivo como reutilização de luva de palpação, monta natural ou inseminação artificial sem controle do sêmen.

De acordo com esta pesquisa não se encontrou relação entre as variáveis alterações reprodutivas, retenção de placenta e alteações na vagina e a presença do anticorpo contra BoHV-1. Santana et al. (2014) mencionaram que as manifestações clínicas podem sugerir a presença de anticorpos contra BoHV-1, o que não foi encontrado nesta pesquisa já que os resultados obtidos sugerem que os animais não apresentam manifestações clínicas.

Neste estudo observou-se que 83,33% das propriedades positivas para BoHV-1 eram menores ou iguais a 12 hectares, conhecidas como agricultores familiares. Nos estudos conduzidos por Lemaire et al. (1994); Mars et al. (1999) e Muylkens et al. (2007) foram observado que áreas menores que 25 hectares geram maior lotação do rebanho e por este motivo maior contato entre as vacas, aumentando a chance da disseminação do BoHV-1 na propriedade. Esta disseminação pode ocorrer por aerossóis a curta distância, contato com animais infectados, por fômites (comedouros ou coxos e bebedouros). Dos Santos Silva et al. (2015) mencionaram que a alimentação em cochos coletivos é um fator predisponente importante para a propagação do vírus dentro da propriedade.

Observou-se em criações intensivas ou semi-intensivas uma porcentagem alta 94,44%, de animais positivos, pois estes estão em constante estresse pela alta densidade animal/área. Este dado é confirmado por Lemaire et al. (1994) e Boelaert et al. (2005) que referem que o manejo intensivo induz a um estresse e promove a liberação do vírus que estava latente.

Assim do mesmo modo foi observado que 58,33% das propriedades visitadas positivas para BoHV-1 possuíam mais de 50 animais. Miller (1991) e McDermott et al. (1997) mencionaram que rebanhos maiores, ou com alta densidade de animais, estão associados à alta probabilidade de infecção pelo vírus de BoHV-1. Esta

associação entre a densidade do rebanho e a soro prevalência do vírus, deve-se também a frequência de compra de animais e participação em eventos agropecuários, assim como a presença de trabalhadores temporários ou irregulares, ou visita do veterinário (VAN SCHAIK et al., 1998). Também no estudo observou-se que 80,56% das propriedades positivas tinham como forma de reprodução a monta natural confirmando o mencionado por Dos Santos Silva et al. (2015) que relataram que a monta natural através de touro infectado pode trazer um alto risco de infecção para o rebanho. Melo et al. (2002) referem que o manejo reprodutivo intensivo do touro reprodutor ou o de repasse são fontes de infecção importante nos rebanhos, pois o estresse causado por este tipo de manejo provoca a reativação do vírus que pode ser eliminado pelo sêmen destes.

Thorsen et al. (1977) e Van Schairk et al. (2001) mencionaram que a transmissão inter espécie não tem um papel importante na disseminação do vírus mas podem atuar como reservatórios pois contaminam o ambiente. Não houve diferença na pesquisa entre o contato e a presença de outras espécies e animais reagentes.

Bezerra et al. (2012) verificaram que a prevalência de animais reagentes foi mais elevada entre os animais das propriedades que apresentavam histórico de alterações reprodutivas (68,69%) demonstrando que o BoHV-1 pode estar relacionado a ineficiência reprodutiva. Entre as propriedades positivas para BoHV-1 no último ano 66,67% não apresentaram aborto. Embora não houve diferença, em 63,29% nas propriedades positivas houve vacas com histórico de repetição de cio no último ano, logo, pode-se sugerir que animais reagentes ao vírus nos assentamentos da região estudada possam ter uma maior ineficiência reprodutiva, mas deve-se realizar mais pesquisas para comprovar tal fato.

7.2 BVDV

No presente estudo, a prevalência de animais positivos foi de 57,74%. No oeste de Santa Catarina a prevalência foi de 28,5% (PASQUALOTTO et al., 2015). Já no Estado de Maranhão, foi detectado 65,66% de animais reagentes (CHAVES et al., 2012). Em São Paulo, 51,34% dos animais estudados eram reagentes (PITUCO

et al., 2004 comunicação pessoal)¹. Esta pesquisa foi realizada em uma região de assentamento, logo pequenas propriedades, em que ainda não há estudos, sendo pioneiro esta pesquisa. Comparando-se com as pesquisas citadas nota-se que a porcentagem de anticorpos contra BVDV em relação ao oeste de Santa Catarina foi maior e menor no estado de Maranhão. No estado de São Paulo houve similaridade de resultados, sendo que a diferença foi a característica das propriedades, provando que em áreas onde há o desenvolvimento da agricultura familiar não influencia no aumento da prevalência de anticorpos anti-BVDV.

Neste estudo, a porcentagem de anticorpos contra BVDV foi numericamente maior nas vacas multíparas (59,79%), quando comparada com vacas primíparas (40,21%). Mainar-Jaime (2001) encontrou maior prevalência de BVDV-1 nos animais mais velhos. Souza et al. (2013) mencionaram que vacas multíparas apresentaram maior percentual de animais reagentes, já que estes animais encontram-se no pico das atividades produtivas e reprodutivas e são mais susceptíveis a agentes etiológicos promotores da doença. Discordando com o observado por Quincozes et al. (2007) no Rio Grande do Sul, onde as primíparas apresentaram um percentual de 78,26%.

A frequência de anticorpos contra BVDV em animais prenhes ou não prenhes foi avaliada. Foi observado que a prevalência foi numericamente maior em animais não prenhes, concordando com os dados obtidos por Del Fava et al. (2003).

Neste estudo observou-se que animais reagentes a BVDV não apresentaram alterações como aborto, malformações, presença de natimorto e distocia, assim como anormalidades no útero (retenção de placenta) e na vagina (edema, secreção, vesículas, nódulos). Estes resultados não estão de acordo com os descritos por Flores et al. (2005) e Lazzari et al. (2008) pois mencionaram que a presença de anticorpos para BVDV está altamente relacionada a presença de alterações clínicas reprodutivas.

Pode-se observar que 96,55% das propriedades positivas apresentaram criação semi-intensiva ou intensiva, discordando com o descrito por Quincozes et al. (2007) que em estudo conduzido no Rio Grande do Sul, observou maior frequência de animais sororeagentes em rebanhos criados de forma extensiva.

¹ PITUCO, E. M. 2004. Comunicação pessoal (Laboratório de Virose de Bovídeos, Instituto Biológico de São Paulo. E-mail: pituco@biologico.sp.gov.br).

Das propriedades positivas, 58,62 %, tinham uma quantidade maior que 50 animais na propriedade, logo a maioria dos assentamentos possuíam uma relação de animais por hectares superior a dois. De acordo com Santana et al. (1993) a lotação de animais na propriedade influencia na disseminação do vírus pelo constante contato de susceptíveis com portadores.

Na presente pesquisa 82,76% das propriedades positivas para anticorpos contra BVDV utilizavam a monta natural. Fray (2000) observou que o sêmen é uma fonte importante de transmissão da enfermidade. Chaves et al. (2010) num estudo na Amazônia Maranhense observou que propriedades onde se utilizava somente a monta natural como forma de reprodução tiveram maior número de animais sororeagentes para BVDV.

A presença de espécies domésticas na propriedade não teve influência na positividade de animais sororeagentes para BVDV. A literatura menciona que a presença de ovinos na criação pode ser um fator importante para aumentar a frequência de sororeagentes para BVDV. Quando avaliamos somente a espécie ovina, pode-se observar que 79,31%(23/29) das propriedades positivas não apresentavam ovinos, discordando com o descrito por Quincozes et al. (2007) que menciona que e, o contato de bovinos com ovinos pode ser um fator de maior ocorrência de anticorpos contra BVDV. Celedón et al. (2001) e Pescador et al. (2004), mencionam que os ovinos são susceptíveis à infecção pelo BVDV, assim estes animais podem ter um papel importante na epidemiologia das infecções em bovinos.

Não foram encontrados animais reagentes com alterações clínicas reprodutivas discordando do descrito por Del Fava et al. (2003).

7.3 *LEPTOSPIRA* spp.

A prevalência de sororeagentes para *Leptospira* spp. foi de 58,93%. No estudo conduzido em Uberlândia, Minas Gerais, de Souza et al. (2016) detectaram 68,75% de bovinos reagentes. Em assentamentos em Corumbá, Mato Grosso do Sul, encontrou-se 35,8% de reagentes (TOMICICH et al., 2009). Já em Zona de Huertar no norte da Costa Rica, Soto et al. (2016) detectaram 49,3%. Os resultados

do presente trabalho discordam daqueles obtidos nos assentamentos de Corumbá já que há diferenças nas criações. No Mato grosso do Sul, a criação é extensiva, o que dificulta o contato direto entre os animais e a transmissão do agente. Já nas propriedades estudada na presente pesquisa, a criação é semi-intensiva, permitindo o contato direto entre os animais. Em relação as sorovariedades *wolffi*, *hardjo* e *icterohaemorrhagiae* foram as mais prevalentes. Em propriedades rurais de Uberlândia, Minas Gerais, De Souza et al. (2016) observaram com maior frequência, *hardjo* (54.54%), *icterohaemorrhagiae* (27.27%), e *autumnalis* (18.18%) nos bovinos. Em São Carlos, município do estado de São Paulo, Santana et al. (2013) detectou maior prevalência, das sorovariedades *pomona* (63,3%), *hardjo* (45,5%), *tarassovi* (27,3%) e *wolffi* (9,1%). Analisando os resultados, podemos observar a presença de *hardjo* em todos os estudos, confirmando os dados da literatura que destaca esta sorovariedade como a mais comum nos bovinos, embora não seja a mais frequente.

Neste estudo observou-se que a frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi numericamente maior nas vacas multíparas (58,6%) em comparação com vacas primíparas (59,2%). Os resultados do presente trabalho concordam com o descrito por Del Fava et al. (2003), sugerindo que este fato ocorre devido a maior probabilidade de animais mais velhos entrarem em contato com o agente.

Não houve relação entre a presença de *Leptospira* spp. e prenhez o que concorda com Del Fava et al. (2003) que mencionaram que a prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. não interfere na prenhez.

Foi observado maior frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais que não apresentaram alterações na vagina e com retenção de placenta. Este dado discorda dos encontrados por Konrad (2003) o qual observou maior percentual de animais reagentes entre aqueles que apresentaram abortos e /ou retenção de placenta.

Pode-se observar que 82,05%, das propriedades positivas eram menores ou iguais a 12 hectares e que 94,87% das propriedades positivas apresentavam criação semi-intensiva ou intensiva. Estes dados estão relacionados já que criações pequenas são obrigadas a ter criação semi-intensiva ou intensivas. Niang et al. (1994) referem que a prevalência da *Leptospira* spp. dentro da propriedade dependerá da presença de animais portadores que eliminem o agente pela urina. Estando o ambiente contaminado com leptospirosas vivas, a probabilidade de contato entre os animais e o agente é maior em propriedades pequenas. *Leptospira* spp.

podem permanecer no ambiente por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e tempos de sombreamento. (HASHIMOTO et al., 2012). O tipo de alimentação é um fator importante na eliminação da *Leptospira* spp. pela urina. Leonard et al. (1992,1993) observaram que os animais alimentados com suplemento como ensilado de grãos apresentavam urina baixo- com pH, o qual proporciona a diminuição das leptospiros na urina.

No presente estudo, observou-se que 56,41 % das propriedades positivas tinham uma quantidade maior que 50 animais na propriedade. Martins et al. (2005) concluiu que propriedades com mais de 21 animais no rebanho é um fator de risco para a presença de animais sororeagentes para quaisquer sorovar de *Leptospira* spp. Em um estudo desenvolvido na região centro-sul, Hashimoto et al. (2012) observaram que propriedades com 43 ou mais fêmeas possuíam maiores chances de serem positivas para a *Leptospira* spp.

Em 82,05% das propriedades positivas a monta natural era realizada. Sabe-se que os touros estão em constante contato com animais silvestres que são reservatórios naturais de algumas sorovariedade de *Leptospira* spp. (RIZZO et al., 2011)

Neste estudo observou-se que 89,74% das propriedades positivas tinham outras espécies domésticas. Gerritsen (1994) mencionou que a presença de suínos, cães, equinos e animais silvestres (como cervídeos) no criatório, predispõe fortemente à presença do serovar hardjo no criatório, considerando estas espécies hospedeiras da *Leptospira* spp.

7.4 CLASSES MOLLICUTES

Das 108 amostras analisadas, 50% foram positivas para a Classe *Mollicutes*. Os resultados do presente estudo são menores que os obtidos, na Paraíba, por Dos Santos et al. (2013), o qual observou 65,6% (21/32) de prevalência de bactérias da classe *Mollicutes*. São menores também quando comparado aos resultados obtidos por Rizzo et al. (2011), o qual, detectou 75% (45/60) de prevalência em ovinos criados em Piedade, estado de São Paulo, por meio da PCR. Entretanto, a prevalência encontrada no presente trabalho foi maior que o descrito por Santos

(2013), o qual observou prevalência de 39% (39/100) no estado de Pernambuco, por meio da PCR.

Neste estudo foi observada maior frequência de *Mollicutes* de 55,56% para as vacas multíparas. Este resultado pode ter ocorrido devido as vacas multíparas terem tido maior chance de contato com animais portadores através do coito. (GREGORY et al., 2003; RIZZO et al., 2011)

Neste estudo observou-se maior frequência de alterações na vagina em animais positivos para a classe *Mollicutes*. Estes resultados concordam com os descritos por Rizzo et al. (2011) em ovinos e Gregory et al. (2003) em bovinos.

Pode-se observar que 70,83% das propriedades positivas eram menores ou iguais a 12 hectares e apresentavam criação semi-intensiva (95,83%) E Animais que estão em sistemas semi-intensivos e em espaços reduzidos tem maior possibilidade de contato com animais portadores, e o coito é uma via importante para transmissão desta bactéria (GREGORY et al., 2004; RIZZO et al., 2006). Isso pode ser reafirmado observando os resultados do presente trabalho. 62,50 % das propriedades positivas tinham uma quantidade maior que 50 animais e 83,33% das propriedades positivas tinham a monta natural como manejo reprodutivo.

Observa-se que 95,83% (23/24) das propriedades positivas tinham outras espécies domésticas. Animais como o cães pode ser reservatório e disseminador do agente. (GRUNERT, 2005).

Após análise dos resultados deste trabalho, nota-se que a agricultura familiar da região do pontal de Paranapanema possui particularidades similares a criações normais no estado de São Paulo, mais estudos devem ser realizados para que se possa ter um mapeamento dos problemas da região e conjuntamente com as associações de criadores, ITESP, Universidades e APTAs haja o desenvolvimento de programas de políticas públicas para melhorar a produção e a qualidade de vida destes pequenos produtores.

8 CONCLUSÕES

A prevalência de BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp., e bactérias da classe *Mollicutes* nos municípios, Mirante do Paranapanema e Presidente Epitácio na região do Pontal do Paranapanema foi de: 69,05%, 57,74%, 58,93% e 50% respectivamente.

Foi observado uma relação entre vacas multíparas e a presença de BoHV-1 e *Leptospira* spp.

Foi observado relação entre animais que possuíam retenção de placenta e a presença de bactérias da classe *Mollicutes* e animais reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp.

Nos assentamentos da região do Pontal do Paranapanema estudados há presença de enfermidades da reprodução que devem ser monitorados através de programas de políticas públicas.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: bacterioses e micoses**. 3. ed. Washington: OPAS, 2001. 416 p.
- ACKERMANN, M.; ENGELS, M. Pro and contra ibr-eradication. **Veterinary Microbiology**, v. 113, n. 3/4, p. 293-302, 2006.
- ACLAND, H. M. Sistema reprodutor da fêmea. In: CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. p. 541-572.
- ADLER, B.; de la Peña MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis, **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 1-4, p. 287–296, 2010.
- ALICE, F. J. Isolamento do vírus da Rinotraqueite Infecciosa Bovina (IBR), no Brasil (nota previa). **Revista brasileira de biologia**, 1978. Disponível em: < <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302830977>>. Acesso em 12 abr. 2016.
- ARAÚJO, V. E. M.; MOREIRA, E. C.; NAVEGA L. A. B.; SILVA, J. A.; CONTRERAS, R. L. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v. 57, n. 4, p. 430-435, 2005.
- ARAÚJO, A. A.; BRASIL, A. F.; MOURA, A.A.; LIMA, A.C. Fetal mummification in a cow with twin gestation and retention of the fetuses in the vagina: a case report. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 1, p. 113-116, 2006.
- ALVES, A. C. G. Sinais abióticos: putrefação, autólise, maceração, fauna cadavérica, mumificação e saponificação. **Revista Jus Navigandi**, Teresina, ano 19, n. 4169, 30 nov. 2014. Disponível em: <<https://jus.com.br/artigos/33919>>. Acesso em: 1 jun. 2016.
- ARTHUR, G. H.; NOAKES, D. E.; PEARSON, H.; PARKINSON, T. J. *Veterinary reproduction and obstetrics*. 7th ed. London: W.B. Saunders company, 1996.
- AYALON, N. A review of embryonic mortality in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 54, n 2, p. 483-493, 1978,.
- BARRETT, D. C.; BOYD, H.; MIHM, M. Failure to conceive and embryonic loss. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; & EDDY, R. G. **Bovine medicine diseases and husbandry of cattle**. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 552-576.

BAKER J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **Veterinary Clinics North America: food animal practice**, v. 11, p. 425-445, 1995.

BERGEY, D. H.; HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H.; BERG, D. **Bergey's manual of determinate bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Wilkins & Wilkins, 1994. 787 p.

BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; DE SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; DE MORAIS PEREIRA, H. Prevalência e fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 19, n. 3, p.

BOELAERT, F.; SPEYBROEC, N.; KRUIFK, A.; AERTS, M.; BURZYKOWSKY, T.; MOLENBERGHS, G.; BERKVEN, D. L. Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. **Preventive Veterinary Medicine, Amsterdam**, v. 69, p. 285-295, 2005.

BOLIN, S. R.; GROOMS, D. L. Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity. **Veterinary Clinics North America: food animal practice**, v. 20, p. 51-68, 2004.

BONDURANT, R. H.; CAMPERO, C. M.; ANDERSON, M. L.; VAN HOOSEAR, K. A. Detection of *Tritrichomonas foetus* by polymerase chain reaction in cultured isolates, cervicovaginal mucus, and formalin- fixed tissues from infected heifers and fetuses. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 15, p. 579-584, 2003.

BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. **O encontro da agricultura familiar com a alimentação escolar**: cartilha. Brasília: FNDE, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Boas práticas de manejo, vacinação. Coordenação Mateus J. R. Paranhos da Costa; Luciandra Macedo de Toledo e Anita Schmidek. Brasília, DF, 2013. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Bemestar-animal/Manual%20Vacinacao%20WEB%20-%2009_05_2013.pdf. Acesso em: 12 abr. 2016.

BUZINHANI, M.; METIFFOGO, E.; TIMENETSKY, J. Detecção de *Mycoplasma* spp. E *Ureaplasma diversum* em vacas com distúrbios reprodutivos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1368-1375, 2007.

CANÁRIO, R.; SIMÕES, J.; MONTEIRO, M. H.; MIRA, J. C. Diarréia viral bovina: uma afecção multifacetada. **Veterinária. Com.pt**, v.1, n. 2, 2009. Disponível em: <http://www.veterinaria.com.pt/media/DIR_27001/VPC-I-2-e6.pdf>. Acesso em: 23 Jan 2011.

CARDOSO, M. V.; VASCONCELOS, S. A. Importância das micoplasmoses na infertilidade de touros. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 257-265, 2004.

KIRKBRIDGE, C. A. Bacterial agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, p. 64–68, 1993.

CELEDÓN, M.; SANDOVAL, A.; DROGUETT, J.; CALFIO, R.; PIZARRO, J.; NAVARRO, C. Pesquisa de anticuerpos seroneutralizantes para pestivirus y herpesvirus en ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 33, n. 2, p. 165-172, 2001

CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SOUSA, V. E. de; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região Amazônica Maranhense, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1448-1451, 2010.

CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; DE SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. D. M. Frequência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 4, p. 495-502, 2013.

CIUFFA, A. I.; JARDIM, A.; DIEGUEZ, E. M. **Regioes administrativas do estado de Sao Paulo**. Sao Paulo: IGC. 1999.

COLODEL, M. E.; NAKASATO, L.; WELBLEIN, R.; MELLO, R. M.; SILVA, R. P.; SOUZA, M. A.; OLIVERIRA, J. A.; CARON, L. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvirus bovino no Estado de Mato Grosso, Brasil. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 293-298, 2002.

COMMITTEE ON REPRODUCTIVE NOMENCLATURE. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. **Cornell Vet.**, v. 62, p. 216–237, 1972.

ANUALPEC 2005: anuário da pecuária brasileira. *São Paulo. Editora Argos Comunicação Consultoria*, F. N. P. Comércio, 2005.

CORREA, W. V.; NETO, L. Z.; BARROS, H. M. Nota clínico-patológica de uma enfermidade das mucosas em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 141-151, 1968.

DATA LUTA:- Banco de Dados da Luta pela Terra. Presidente Prudente: NERA, 2012.

DE FREITAS, E. J. P.; LOPES, C. E. R.; DE MOURA FILHO, J. M.; SÁ, J. S.; SANTOS, H. P.; DE MORAES PEREIRA, H. Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (bohv-1) em bovinos de corte não vacinados. **Semina: ciências agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1301-1310, 2014.

DE KRUIF, A. Störungen der Graviditätsdauer, in: RICHTER, J.; GÖTZE, R. (Ed.). **Tiergeburtschilfe**. Paul Parey, Berlin, 1993. p. 190–208.

DE SOUZA, M. A.; DE CASTRO, J. R.; MOREIRA, R. Q.; BOMBONATO, N. G.; SOARES, P. M.; LIMA, A. M. C. Anti-Leptospira spp. Antibodies in several animal species on the same farm= Anticorpos anti-Leptospira spp. Em diversas espécies animais em uma propriedade rural. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 1, p. 202-207, 2015.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; D'ANGELO, J. L. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1): revisão e situação atual no Brasil. **Revista de Educação Continuada, CRMV-SP**, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 300-312, 2002.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C.; FREITAS, J. C. D.; FERREIRA NETO, J. S.; MÜLLER, E. E. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 161-168, 2008

DONIS, R. O. Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interaction with host. **Veterinary Clinic North America: food animal practice**, v. 11, n. 3, p. 393–424, 1995.

DOS SANTOS SILVA, F.; DE OLIVEIRA, J. M. B.; FILHO, A. F. B. B.; RIBEIRO, C. P.; PITUCO, E. M.; JUNIOR, J. W. P. Análise soropidemiológica da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (bohv-1) em bovinos no Estado de Pernambuco. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, p. 1324, 2015.

DOS SANTOS, S. B.; JÚNIOR, J. W. P.; OLIVEIRA, A. A.; MOTA, A. D. R.; DE OLIVEIRA, J. M. B.; VERAS, G. A.; MOTA, R. A. Ocorrência de Mollicutes e Ureaplasma spp. Em surto de doença reprodutiva em rebanho bovino no Estado da Paraíba, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 315-318, 2013.

DUBOVI, E. J. Bovine viral diarrhea virus. In: ANAIS SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVIRUS BOVINO E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA, 1988, Santa Maria, RS, 1998. p. 1-19.

ELLIS W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinic North America: food animal practice**, v. 10, n. 3, p. 463-478, 1994.

FAINE, S. B.; ADLER, C.; BOLIN, P. **Perolat, Leptospira and leptospirosis**. 2nd ed. Melbourne: Medisci, 1999.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil - histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, p. 125-134, 2005.

FRANCISO, P.M.S.B.; DONALISIO, M.R.; BARROS, M.B.D.A.; CESAR, C.L.G.; CARANDINA, L.; GOLDBAUM, M. Medidas de associação em estudo transversal com delineamento complexo: razão de chaces e razão de prevalência. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n.3, p. 347- 355, 2008.

FLORES E. F. Virologia Veterinária. Santa Maria: Ed. UFMS, 2007. p. 435-462.

FRAY, M. D.; PATON, D. J.; ALENIUS, S. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p 615-627, 2000.

FREY, J. Mycoplasmas of animals. In: RAZIN, S.; HERRMANN, R. (Ed.). **Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas**. New York: Kluwer Academic, 2002. p.73-90.

GARCÍA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P; YÁNIZ, L. J.; NOGAREDA, C.; LÓPEZ-BÉJAR, M.; DE RENSIS, F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 65, p. 799-807, 2006.

GHADERSOHI, A.; COELEN, R. J.; HIRST, R. G. Development of a specific DNA probe and PCR for the detection of *Mycoplasma bovis*. **Veterinary Microbiology**, v. 56, n. 1, p 87-98, 1997.

GIVENS, M. D. A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle. **Theriogenology**, v 66, n. 3, p. 648-654, 2006.

GIVENS, M. D.; MARLEY, M. S. D.; Infectious causes of embryonic and fetal mortality. **Theriogenology**, 2008, v 70, n 3, p. 270-285, 2008.

GROENS, D. Historical evolution of our understanding of clinical and pathological manifestation of bovine viral diarrhea. **Canadian Veterinary Journal**, v. 43, p. -956-954, 2002.

GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; ROMANELLI, P. R. Neosporose em animais domésticos. **Semina Ciências Agrárias**, v. 27, p. 665-678, 2006.

GREGORY, L.; GENOVES, M. E.; CARNEIRO, P. S.; PACHECO, W.; OLIVEIRA, J. C. F. Avaliação das Patologias vulvo-vaginais Em Fêmeas bovinas nelores (*Bos Indicus*) e o Impacto na Performance Reprodutiva. **Revista Brasileira De Reprodução Animal** (Impresso), Brasil, v. 27, n. 3, p. 534-541, 2003.

GREGORY, L.; CARDOSO, M. V.; JUNIOR, E. B.; TEIXEIRA, S. R.; LARA, M. C. C. S. H.; RIZZO, H.; BENESI, F. J. Ocorrência de artrite em ovino causada por *Mycoplasma spp*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 233-235. 2004.

GROOMS, D. L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. **Theriogenology**, v. 66, p. 624-628, 2006.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G.; BIRGEL JUNIOR, E. H. (colaborador), Patologia e clínica da reprodução dos animais domésticos. São Paulo. Livraria Varela. 4º Edição. A. p 471, B. p 472, C. p 472. (a,b,c) 2005

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G. **Patologia e clínica da reprodução em animais e mamíferos doméstico – ginecologia**. Sao Paulo: Varela, 2005. 551p.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reproductive cycles. **Reproduction in farm animals**, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p 55-67.

HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. **Reprodução animal**: retenção das membranas fetais. 7. Ed. Barueri: Manole, 2004. p. 276-277.

HASHIMOTO, V. Y.; DIAS, J. A.; SPOHR, K. A.; SILVA, M. C.; ANDRADE, M. G.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. Em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32. n. 2, p. 99-105, 2012.

HIGGINS, R. J.; HARBOURNE, J. F.; LITTLE, T. W. A. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with *Leptospira* of the serotype hardjo. **Veterinary Record**, v. 107, p. 307-310, 1980.

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C.; CASTRO, A. E. Laboratory diagnosis. In: _____. **Veterinary microbiology**. [S.l.]: Blackwell Science Inc., 1999. p 15-27.

HIRSCH, C.; FIGUEIREDO, H. C. P. Diarreia bovina a vírus/ doenças das mucosas e rinotraqueíte infecciosa bovina. In: _____. Doenças transmissíveis na reprodução de bovinos. Lavras: UFLA/FAEPE, 2006. p. 66.

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. p. 360-361.

HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAES, Z. M.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 34, n. 2, p. 173-180, 2001.

HORTA, A. E. M. Etiopatogenia e terapêutica da retenção placentária nos bovinos. In: JORNADAS INTERNACIONALES DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, AERA, 7., 2000, Murcia. 2000. p. 181-192.

HUMBLOT, P.; DALLA PORTA, M. A.; SCHWARTZ, J. L., Etude de la mortalité embryonnaire. **Elevage et Insemination**, v. 194, p. 3-12, 1983

INSKEEP, E. KEITH; DAILEY, ROBERT A. Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v 21, no 2, p. 437-461, 2005.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. 1200 p.

JONES, C. Herpes simplex virus type 1 and bovine herpesvirus1 latency. **Clinical Microbiology Review**, v. 16, n. 1, p. 79-95, 2003.

KAHRS. R. F. Infectious bovine rhinotracheitis pustular vulvovaginitis, In: _____. (Ed.). **Viral disease of cattle**. 2th ed. Ames: Iowa State University Press, 2011. p

159-170.

KIMURA, K.; GOFF, J. P.; KEHRLI, M. E.; REINHARDT, T. A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. **American Dairy Science Association**, v 85, p. 544–550, 2002.

KIRKBRIDE, C. A. Mycoplasma, Ureaplasma and Ancholeplasma infection of bovine genitalia. **The Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v. 3, p. 575, 1987.

KNUDTSON, W. U.; KIRKBRIDGE, C. A Fungi associated with bovine abortion in the northern plain states (USA) **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, n 4, p. 181-185, 1992.

KONRAD, P. A. **Inquérito sorológico de agentes infecciosos que afetam a reprodução de bovinos leiteiros em Minas Gerais, 2001-2002**. 2003. 40 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

KUMMERFELD, H. L.; OLTENACU, A. B.; FOOTE, R. H. Embryonic mortality in dairy cows estimated by non-returns to service, estrus and cyclic milk progesterone patterns. **Journal Dairy Science**, v. 61, p. 1773-1777, 1978.

LANGONI, H.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; DA SILVA, A. V. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, n. 1, p. 37-41, 2000.

LAZZARI, F. C.; BARTHOLOMEI, L. F.; ADRIANA, P. I. C. C. I. N. I. N. Diarréia Viral Bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 10, p. 1-4, 2008

LEMAIRE, M.; PASTORET, P.; THIRY, E. Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. **Annales Médecine Vétérinaire**, v. 138, p. 167-180, 1994.

LEONARD F.; QUINN P. J.; ELLIS W. A. Possible effect of ph on the survival of leptospires in cattle urine. **Veterinary Record**, v. 131, p. 53-54, 1992.

LEONARD, F. C.; QUINN, P. J.; ELLIS, W. A. Association between cessation of leptospiuria in cattle and urinary antibody levels. **Resert Veterinary Science**, n. 55, p. 195-202, 1993.

MAINAR-JAIME, R. C.; BERZAL-HERRANZ, B.; ARIAS, P.; ROJO-VÉZQUEZ, F. A. Epidemioloical pattern and risk factors associated with bovine viral- diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, p. 63-73, 2001.

MARS, M. H.; BRUSCHKE, C. J. M.; VAN OIRSCHOT, J. T. Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions.

Veterinary Microbiology, v. 66, p. 197-207, 1999.

MARQUES, D. C. Criação de bovinos. 7. ed. Belo Horizonte: Consultoria Veterinária e publicações, 2003. p. 517-519.

MARQUES, L. M. **Estudo da variabilidade genética e dos fatores de virulência de isolados de *Ureaplasma diversum***. 2009. 102 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2009.

MARTINS, L. S. **Situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana na área rural do município de Pirassununga**. SP. 2005. 79 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

MATTOS, R.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. **Review Reproduction**, n. 5, p. 38-45, 2000.

MAZZINI, E. D. J. T.; MARTIN, E. S.; FERNANDES, B. M. Assentamentos rurais no pontal do Paranapanema-SP: uma política de desenvolvimento regional. **Formação**, (Online), v. 1, n. 14, 2011. Disponível em: <696-1921-PR(6).pdf>. Acesso em: 12 abr. 2016.

MCDERMOTT J. J.; KADOHIRA M.; O'CALLAGHAN C. H.; SHOUKRI M. M. A comparison of different models for assessing variations in the seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis by farm, area and district in Kenya. *Preventive Veterinary Medicine*, n. 32, p. 219-234, 1997.

FOSTER, R. A. Sistema reprodutor da fêmea e glândula mamária. In: MCGAVIN, D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 1088-1129.

MCNAUGHTON, A. P.; MUNRRAY, R. D. Structure and functions of bovine fetomaternal unit in relation to the causes of retained fetal membranes. **Veterinary Journal**, London, v. 165, p. 615-622, 2009.

MELO, C. B.; LOBATO, Z. I. P.; CAMARGOS, M. F.; SOUZA, G. N.; MARTINS, R. N. S.; LEITE, R. C. Distribuição de anticorpos para herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 6, p. 576-580, 2002.

METTENLEITER, T. C. Budding events in herpesvirus morphogenesis. **Journal Virus Research**, v. 106, p. 167-180, 2004.

MEYDAN, H.; YILDIZ, M. A.; AGERHOLM, J. S. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n. 1, p. 1, 2010.

MILLER, J. M. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle.

Veterinary Medicine, v. 86,n. 1, p. 95-98, 1991.

MILLER, R. B.; CHELMONSKA-SOYTA, A.; SRNITS, B.; FOSTER R.; ROSENDAL, S. U. *Diversum* as a cause of reproductive disease in cattle. **Veterinary Clinic North America**: food animal practice, n. 10, p. 479-490, 1994.

MOREIRA, E. C. **Avaliação de métodos para erradicação de leptospiroses em bovinos leiteiros**. 1994. 93 p. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1994

MOREIRA, E.C. importância do controle da sanidade animal sobre produtos de origem animal. 2003. Disponível em: < <http://pesquisa.bvs.br/brasil/resource/pt/lil-349915>>. Acesso em: 12 abr. 2016.

MONTANHA, F. P.; CORRÊA, C. S. S.; PARRA, T. C. Maceração fetal em gata em decorrência do uso de contraceptivos – relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 10, n. 9, p. 1- 6, 2012.

MUYLKENS, B.; THIRY, J.; KIRTEN, P.; SCHYNTS. F.; THIRY, E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**, v. 38, p. 181-209, 2007.

NANDI, S.; KUMAR, M.; MANOHAR, M.; CHAUHAN, R. S. Bovine herpes vírus infection in cattle. **Animal Health Research Reviews**, Cambridge, v.10, n. 1, p. 85–98, 2009.

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2003.

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**: retenção de placenta. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 80–81.

NIANG, M.; WILL, L. A.; KANE, M.; DIALLO, A. A.; HUSSAIN, M. Seroprevalence of leptospiral antibodies among dairy cattle kept in communal corrals in periurban areas of Bamako, Mali, West Africa. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 18, p. 259-265, 1994.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). Collection and processing of bovine, small ruminant and porcine semen. In: _____. **Terrestrial animal health code 2009**. 2009. chap. 4.5. Disponível em: <[Http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_1.8.3.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_1.8.3.htm)> Acesso em: 12 abr. 2016.

OLIVEIRA, D. A.; NEIVA, A. **Retenção de placenta**: fatores predisponentes, tratamento e controle. 2009. Disponível em: <www.rehagro.com.br/site/rehagro/printpublicacao.Docdnocia=1837.mht>. Acesso em: 10 out. 2009.

- OLIVEIRA FILHO, B. D.; PORTO, R. N. G.; GAMBARINI, M. L.; KUNZ, T. L.; FERRAZ, H. T.; VIU, M. A. O.; LOPES, D. T.; SOUSA, A. P. F. Isolamento do *Ureaplasma diversum* em muco vulvovaginal de vacas leiteiras repetidoras de estro no Estado de Alagoas, Brasil. **Archives Veterinary Science**, v. 10, m. 2, p. 151-156, 2005.
- OLIVEIRA, S. D.; PIRES NETO, J. A. S. Aspectos etiológicos e de diagnóstico nas leptospiroses. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 33, p. 36-46, 2004.
- PASQUALOTTO, W.; SEHNEM, S.; WINCK, C. A. Incidência de Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD) e Leptospirose em Bovinos Leiteiros da Região Oeste de Santa Catarina-Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 8, n. 2, p. 249, 2015.
- PETER, A. T. A review on morphology, components and defects from terminology and clinical perspectives. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 80, p. 693–705, 2013.
- PELLEGRIN, A. O.; SERENO, J. R. B.; LEITE, R. C.; COSTA, G. M. Campilobacteriose genital bovina em touros do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 21, n. 1, p. 43-46, 1998.
- PELLEGRIN, A. O.; GUIMARÃES, P. H. S.; SERENO, J. R. B.; FIGUEIREDO, J. P.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. **Prevalência da leptospirose em bovinos no Pantanal Mato-Grossense**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. p 10 (Comunicado Técnico, 22).
- PITUCO, E. M. **Aspectos clínicos, prevenção e controle da IBR**. São Paulo: Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, 1999. (Comunicado Técnico, n. 94).
- PESCADOR, C. A.; CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; GONÇALVES, R. K.; CRUZ, C. E. F. Neurological disorder associated with pestivirus infection in sheep in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 935- 938, 2004.
- PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. **Obstetrícia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 25-35.
- QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; DE OLIVEIRA HÜBNER, S.; VIDOR, T.; BROD, C. S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: ciências agrárias**, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; Carterr, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto alegre: Artmed, 2005. 512 p.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002. 1770 p.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10th ed. Edinburgh: Saunders-Elsevier, 2007. 2156 p.

FERRETI, R.; CAPANEMA, L. M.; FAIXINE, C.; TURCO, P. H. N.; FILHO, A. A. V. Análise de variáveis estratégicas para o desenvolvimento da agropecuária da região do pontal do Paranapanema. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 50, n. 1, p. 141-156, 2012.

RICHTZENHAIN, L. J.; BARBARINI, O.; UMEHARA, O.; DE GRACIA, A. S.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; FERREIRA, F. Rinotraqueíte infecciosa bovina: levantamento sorológico nos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 66, p. 83-88, 1999.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; Riet-Correa, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: Riet-Correa, F.; Schild, A. L.; Méndez, M. C.; Lemos, R. A. A. **Doenças de ruminantes e equídeos**. São Paulo: Varela, 2007. v. 2, p. 99-219.

RIZZO, H. **Estudo da ocorrência e avaliação clínica de enfermidades do trato genital de ovinos (*Ovis aries*, Linnaeus, 1758) criados no estado de São Paulo**. 2011. 217 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ROA, I.; SMOK, S. C.; PRIETO, G. R. Placenta: anatomía e histología comparada. **International Journal Morphology** [online], v. 30, n. 4, p. 1490-1496, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022012000400036>. Acesso em: 12 abr. 2016

ROSENBERGER, G. **Enfermedades de los bovinos**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1983. v. 2, p. 577.

RODRIGUES, R. O.; HERRMANN, G. P.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P.; LOPES L. B.; MOREIRA, E. C. Comparação entre a imunidade induzida em bovinos vacinados com bacterinas polivalentes comerciais e uma monovalente experimental. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Minas Gerais, Belo Horizonte, v. 31, n. 1, p. 10-16, 2011.

ROEHE, P. M.; OLIVEIRA, E. A. S.; OLIVEIRA, L. G.; MUNOZ, J. C. P. A. A situação do vírus da diarreia viral bovina no país. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVI- NO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, Laboratório de Virologia; UFSM, 1998. p. 30-48.

ROIZMAN, B.; DESROSIERS, R. C.; FLECKENSTEIN, B.; LOPEZ, C.; MINSON, A. C.; STUDDERT, M. J. Family Herpesviridae. **Archive Virology**, v 10, p 114-127, 1995.

SANTANA, J. D.; PEREIRA, J. M.; MORENO, M. A.; SPAIN, J. M. Persistência e qualidade proteica da consorciação *Brachiaria humidicola*-*Desmodium ovalifolium* cv. Itabela sob diferentes sistemas e intensidades de pastejo. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 15, n. 2, p. 2-8, 1993.

SANTANA, R. C. M.; MASSA, R.; ZAFALON, L. F.; MEGID, J.; LANGONI, H.; MATHIAS, L. A. Estudo epidemiológico sobre as perdas reprodutivas em bovinos leiteiros: ocorrência de *Neospora caninum*, *Brucella abortus*, herpesvírus bovino tipo-1 e *Leptospira Spp.* em uma propriedade do município de São Carlos-SP. **ARA Veterinária**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p.153-160, 2013.

SANTOS, J. E. P. Doenças uterinas em vacas de leite: prevalência, fatores de risco e tratamento. In: CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 14., 2010, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2010. p. 393-410.

SANTOS, S. B.; PINHEIRO-JÚNIOR, J. W.; MOTA, A. R.; SANTOS, A. S.; ALVES, B. H.; OLIVEIRA, J. M.; MOTA, R. A. Recuperação de Mollicutes do trato reprodutivo de bovinos leiteiros no Estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 491-496, 2015.

SÃO PAULO (Estado). Projeto LUPA 2007/2008: Levantamento censitário de unidades de produção agrícola do Estado de São Paulo. São Paulo: CATI/IEA/SAA, 2009. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/proyetolupa>>. Acesso em: 2009.

SIDNEY C.T. L, O Programa de Aquisição de Alimentos (PAA) no Pontal do Paranapanema/SP **Revista NERA**, ano 18, n. 26, p. 147-164, 2015. Edição especial.

SALIKI, J. T.; DUBOVI, E. J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v. 20, n. 1, p. 69-83, 2004.

SMITH, K. C.; BLUNDEN, A. S.; WHITWELL, K. E.; DUNN, K. A.; WALES, A. D. A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997 **Equine Veterinary Journal**, v. 35, p. 496–501, 2003.

STATISTICAL ANALITICAL SISTEM (SAS). **Guiade of personal computers**. Version 9.3. Inc. Cary, NC: SAS, 2011.

SOTO, J. S.; JIMENÉNEZ, M. D. L. Á. V.; SANCHEZ, L. N. A.; AVALOS, J. A. S.; Oviedo, M. Seroprevalencia de *Leptospira spp.* En ganado bovino lechero de la región Huetar Norte de Costa Rica. **Revista Ciencias Veterinarias**, v. 34. n. 1, p. 23-37, 2016.

STOESSEL, F. Las **Enfermedades Venereas de los Bovinos:trichomoniasis y**

vibriosis genital. Zaragoza: Acribia, 1982. p. 163.

SOUSA, V. E.; BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (bohv-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, p. 21-25, 2013.

SCHLAFFER, D. H.; FISHER, P. J.; DAVIES, C. J. The bovine placenta before and after birth: placental development and function in health and disease. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p.145-160, 2000.

THORSEN J.; KARSTAD L.; BARRET M. W.; CHALMERS G. A. Viruses isolated from captive and free-ranging wild ruminants in Alberta. *Journal Wildlife Diseases*, v. 13, p. 74-79, 1997.

TOMICH, R. G. P.; PELLEGRIN, A. O.; SERRA, C. V.; RIBEIRO, M. F. B.; PASSOS, L. M. F.; FIGUEIREDO, E.; PANTANAL, E. Estudo de doenças bovinas em assentamentos rurais do Município de Corumbá, MS—resultados iniciais. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL CORUMBÁ, MS, 4., 2004. Corumbá. [**Anais...**]. 2004.

TOMICH, R. G.; SERRA, C. V.; BOMFIM, M. R.; CAMPOS, F. S.; LOBATO, Z. I.; PELLEGRIN, A. O.; ... BARBOSA-STANCIOLI, E. F. Sorodiagnóstico de doenças da reprodução em rebanhos de bovinos leiteiros de assentamentos rurais de Corumbá, MS. **Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 61, n. 4, p. 986-991, 2009.

TONIOLLO, G. H.; VICENTE, W. R. R. **Manual de obstetrícia veterinária.** São Paulo: Varela, 2003.

TURIN, L.; RUSSO, S. "BHV-1 infection in cattle: an update." **Veterinary Bulletin**, v. 73, n. 8, p. 1-7, 2003.

VANROOSE, G.; DE KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 131-143, 2000.

VAN SCHAIK, G.; DIJKHUIZEN, A. A.; HUIRNE, R. B. M.; SCHUKKEN, Y. H.; NIELEN, M.; HAGE, H. J. Risk factors for existence of Bovine Herpes Virus 1 antibodies on nonvaccinating Dutch dairy farms. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 34, p125-136, 1998.

VENDRIG, A. A. A. Geiten gezond. Phonendus, Nederhorst ten Berg, The Netherlands. 2000. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432004000922>>. Acesso em: 13 jul. 2016.

VIEIRA, S.; BRITO, W. M. E. D.; SOUZA, W. J.; ALFAIA, B. T.; LINHARES, D. C. L.

Anticorpos para o herpesvírus bovino 1(BHV- 1) em bovinos do Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 4, n. 2, p. 131-137, 2003.

VOGEL, F. S.; CARON, L.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; WINKELMANN, E. R.; MAYER, S. V.; BASTOS, R. G. Distribution of bovine herpesvirus type 5 DNA in the central nervous system of latently, experimentally infected calves. **Journal Clinical Microbiology**, v. 41, n.10, p. 4512-4520, 2003.

WILTBANK M. C. Prevenção e tratamento da retenção de placenta. Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, p. 61-70, 2006.

WEIBLEN, R.; DE BARROS, C. S.; CANABARRO, T. F.; FLORES, I. "Bovine meningoencephalitis from IBR virus." **Veterinary Record**, n 124.25, p 666-667, 1989.

WEIBLEN, R. R. T. P.; CHARLES, J. F. "Doenças víricas que interferem na produção leiteira." CHARLES, T. P. F. **Doenças dos bovinos de leite adultos**. Coronel Pacheco: EMBRAPACNPGL, 1992.

ANEXO A - Ficha de Avaliação da Propriedade

Data: _____

Criatório _____ Proprietário _____

Endereço _____ Município _____

Tamanho Criatório _____ Clima da Região _____ Telefone _____

Presença de alagadiços Sim () Não () Animais tem acesso? Sim ()
Não ()

Alimentação Pastagem () Silo () Concentrado ()

Nº total de Animais _____

Vacas _____ Bezerros _____ Touros: _____

Sistemas de Criação:

Intensivo	()
Semi intensivo	()
Extensivo	()

Há presença de outras espécies

Domésticas	Sim ()	Não ()	Quais? _____
Silvestres	Sim ()	Não ()	Quais? _____
Tem contato entre elas?	Sim ()	Não ()	

Tipo de Monta

Natural	()
IA	()
Mista	()

Nº de Abortos no último ano _____ Vermifugação Sim () Não ()

Nº de Fertilidade no último ano _____ Vacinação Sim () Não ()

Nº de Natimorto no último ano _____ Quais? _____

ANEXO B - Ficha de Avaliação Reprodutiva da Vaca

	Data	_____
Proprietário	_____	
Criatório	_____	Identificação _____
Raça	_____	Idade _____
Material Colhido	Sangue ()	
	Swab ()	_____
	Outro ()	_____

Exame Clínico Geral

Temperatura	_____	
ICC	_____	
Mucosa	_____	Obs: _____
Ap Digestivo	_____	Obs: _____
Ap Respiratório	_____	Obs: _____
Ap Urinário	_____	
Gland Mamária	Mastite Sim () Não ()	
Ap Locomotor	_____	
Pele e anexos	_____	

Histórico Reprodutivo

Nº de Partos	_____	Parto Prematuro	Sim ()	Não ()
Data Último Parto	_____	Natimorto	Sim ()	Não ()
Nº de Aborto	_____	Malformação Fetal	Sim ()	Não ()
Período Gestação	_____	Morte Neonatal	Sim ()	Não ()
Prolapso	Sim () Não ()	IEP	_____	Não ()
Parto Distócico	Sim () Não ()	Retenção de placenta	Sim ()	Não ()
Respetição de Cio	Sim () Não ()	Infertilidade	Sim ()	Não ()

Exame Clínico Vaginal

Posição	Vertical ()	Horizontal ()	Secreção	_____
Lesões / Cicatrizes	Sim ()	Não ()	Cor	_____
Coloração	_____		Odor	_____
Edema	Sim ()	Não ()	Consistência	_____
Outros	_____		Obs:	_____

Exame Clínico Vulvar

ANEXO C – Meio de Transporte para mycoplasma e ureaplasma

Para preparo de 200 mL:

- Sacarose (Synth®)..... 8,0g
- Fosfato de sódio monobásico (Synth®)..... 0,2g
- Fosfato de sódio dibasico (Synth®)..... 0,4g

Autoclavar por 20 minutos a 121°C

Após autoclavagem, acrescentar os seguintes compostos:

- Soro fetal equino estéril (Vitrocell®)..... 100mL
- Acetato de tálio (Inlab®)..... 1mL
- Penicilina..... 100,0 µL

ANEXO D - Meio de cultivo para micoplasma e ureaplasma

Para preparo de 1000 mL

-Tryptone (DIFCO®)	10,0 g
-Peptona (Merck®)	5,3g
-Mycoplasma Broth Base (BBL®)	3,5g
-Água desionizada	750, mL
-Água nobre – para meio sólido (DIFCO®).....	10,0g

Ajustar pH entre 7.4 e 7.8

Autoclavar a 121°C por 20 minutos;

Adicionar o meio base, assepticamente, no momento de uso:

-Soro fetal equino estéril (Vitrocell®)	180 mL
-199	50 mL
-Extrato de levedura	35 mL
- Glicose 10%	10 mL
- Arginina 10 %	1 mL
- Yeastolate 20% (DIFCO®)	10 mL
-Vermelho de Fenol 0,05%	4 mL
-Acetato de Tálcio 1% (Inlab®)	10 mL
- Penicilina	1 mL