

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**SOROPOSITIVO DAS ENFERMIDADES REPRODUTIVAS, FATORES
CLIMÁTICOS E HORMONAIS EM RECEPTORAS BOVINAS.**

JEFFERSON VIANA ALVES DINIZ

Botucatu, São Paulo
Novembro/2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**SOROPOSITIVO DAS ENFERMIDADES REPRODUTIVAS, FATORES
CLIMÁTICOS E HORMONAIS EM RECEPTORAS BOVINAS**

JEFFERSON VIANA ALVES DINIZ

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus Botucatu, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eunice Oba

**Co-orientador: Prof. Dr. Rodolpho
Satrapa**

Botucatu, São Paulo

Novembro/2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Diniz, Jefferson Viana Alves.

Soropositivo das enfermidades reprodutivas, fatores climáticos e hormonais em receptoras bovinas : influências da soropositividade para enfermidades reprodutivas, das concentrações plasmáticas de cortisol e de p4 e de fatores bioclimáticos nos protocolos em receptoras bovinas / Jefferson Viana Alves Diniz. - Botucatu, 2013

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Eunice Oba

Coorientador: Rodolpho Satrapa

Capes: 50504002

1. Bovino - Reprodução. 2. Progesterona. 3. Embrião. 4. Hidrocortisona. 5. Hormônios esteroidianos. 6. Biotecnologia animal.

Palavras-chave: Cortisol; Embrião; Influência térmica; Inquérito imunossorológico; Progesterona.

JEFFERSON VIANA ALVES DINIZ

08 de Novembro de 2013.

**SOROPOSITIVO DAS ENFERMIDADES REPRODUTIVAS, FATORES
CLIMÁTICOS E HORMONAIS EM RECEPTORAS BOVINAS.**

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Eunice Oba

Presidente da banca examinadora
- Orientadora -

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária UNESP – FMVZ
Botucatu

Prof. Dr. Sony Bicudo

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária UNESP – FMVZ
Botucatu

Prof. Dr. Rodolpho Satrapa

Membro

Pesquisador bolsista da FAPAC

Dedico este trabalho

A minha querida família, minha esposa **Renata Angelim**, meus filhos **Fillipi Angelim** e

Giovanni Angelim,

por todo amor incondicional,

por superarem a minha ausência durante as minhas viagens e

pelo companheirismos de todas as horas durante toda essa jornada.

Ao meu Pai **Jeová Alves Diniz**,

à minha Mãe **Maria das Neves Viana de Andrade Diniz**,

aos meus irmãos **Jeová Alves Diniz Júnior**, **José Cirilo Carlos Neto** e **Jeovana Viana** e

ao meu sobrinho **Bruno Viana**.

Agradeço aos meus familiares e dedico-lhes esta dissertação, pois vocês são o motivo da minha vida; a alegria do meu dia e a força que preciso.

Ao eterno amigo,

Rodolpho Satrapa, por todos os ensinamentos que tem sempre me passado e por seu pleno compromisso e amor para com o trabalho.

*Deus nos conceda, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo.
Aquilo que colocamos nela, corre por nossa conta.*

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS:

*A **Deus**, primeiramente, pois sem Ele nada é possível.*

A minha querida esposa, filhos e sogra.

Aos meus pais, irmãos e sobrinhos, mesmo tão distante,; o apoio emocional da família é fundamental para seguirmos em frente.

*Especialmente, à minha orientadora professora, **Dr^a Eunice Oba**, exemplo de profissionalismo e ética científica. Ensinou-me a questionar, a procurar a resposta para a dúvida; mas, sobretudo, ensinou-me a ter paixão pela pesquisa. Agradeço a senhora por ter aberto as portas para um mundo novo que é o mundo da pesquisa.*

*Aos amigos de trabalho **Marcos Luckner, Rosano Ramos, Neilton Vasconcelos, Luis dos Anjos, Mauricélio da Silva, Katia Simone e Maria Bernardete**, por todo apoio e compromisso para com o projeto de pesquisa.*

*Ao amigo **Dr. Rodolpho Satrapa**, que tornou esse sonho possível; portanto, sou eternamente grato por ter possibilitado a minha incursão na área da pesquisa.*

*Ao pesquisador da EMABRAPA – Acre, **Dr. José Marques Carneiro Júnior**, pelo relevante auxílio na tabulação, na formatação e na análise estatística de todos os dados desse projeto.*

*Ao Presidente do Conselho Federal de Medicina Veterinária, **Dr. Benedito Fortes de Arruda**, pela inestimável colaboração complementar a essa dissertação.*

*À Secretaria de Estado de Agropecuária, especialmente o Ilmo. Secretário **Mauro Jorge Ribeiro**, por todo apoio institucional.*

*Aos pesquisadores do Instituto Biológico de São Paulo, sobretudo a **Dr^a Maristela Pituco** e a sua diretora técnica **Dr^a Josete Garcia Bersano***

*Ao amigo **Luís Eduardo Vergara**, companheiro, leal, honesto e íntegro; amigo de todas as horas, nos bons e maus momentos, que sempre me deu apoio no desenvolvimento do projeto de pesquisa.*

*Ao amigo **Dr. Paulo Ricardo de Oliveira Bersano**, por todo apoio, pelos ensinamentos e pelo companheirismo durante toda essa jornada; você faz parte desse projeto.*

*À **Fundação de Tecnologia do Acre - FUNTAC** - por conceder o apoio financeiro necessário para a execução desta dissertação de mestrado.*

SUMÁRIO:

	Página
Lista de abreviaturas.....	ix
Lista de figuras.....	xi
Lista de tabelas.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	04
2.2. Geral.....	04
2.1. Específicos.....	04
3. Revisão de literatura.....	05
3.1. Doenças infectocontagiosas e parasitárias.....	06
3.2. Influências bioclimáticas.....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1. Coleta de sangue e preparação das amostras de soro e de plasma.....	25
4.2. Imunossorologia.....	26
4.3. Dosagem de homônios.....	27
4.4. Transferência de embriões em tempo fixo.....	27
4.5. Avaliação do volume do corpo lúteo.....	28
4.6. Avaliação bioclimática.....	29
4.7. Análise estatística.....	29
4.8. Aspectos éticos e origem do material em estudo.....	30
5. RESULTADOS E DICUSSÃO.....	31
5.1. Imunodiagnóstico.....	31
5.2. Imunodiagnóstico: Doenças bacterianas.....	35
5.3. Imunodiagnóstico: Virais.....	37
5.4. Imunodiagnóstico: Parasitárias.....	40
5.3. Cortisol e progesterona e parâmetros reprodutivos.....	41
5.4. Volume do corpo lúteo e concentração plasmática de P4.....	42
5.5. Cortisol e temperatura ambiente, umidade relativa e temperatura retal.....	43
6. CONCLUSÕES.....	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
ANEXOS:	67
Normas para publicação na revista, carta de apresentação e atestado (CEUA)	
Confirmação do envio e o artigo para publicação na revista	

Lista de Abreviaturas:

- ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico
- AAT – Antígeno acidificado tamponado
- BVDV – Vírus da diarreia viral bovina
- CL – Corpo lúteo
- DG – Diagnóstico de gestação
- DVB – Diarreia viral bovina
- eCG – Gonadotrofina coriônica equine
- EMDGA – Estação de melhoramento e difusão de genética animal
- ET – Estresse térmico
- GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofina
- IBR – Rinotraqueíte infecciosa bovina
- Nresp.P. – Não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal
- P4 – Progesterona
- PGF2 α – Prostaglandina
- Resp.P. – Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal
- Resp.PE. – Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal e emprenhou
- Resp.PNE. – Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal e não emprenhou

- TE – Transferência de embrião
- TEMPA – Temperatura ambiente
- TEMR – Temperatura retal
- TETF – Transferência de embriões em tempo fixo
- VCL – Volume do corpo lúteo
- FC – Fixação de complemento

Lista de Figuras:

	Página
Figura 1: Protocolo de sincronização de cio, Transferência de embrião em tempo fixo e diagnósticos.	28
Figura 2: Titulação das amostras de receptoras, reagentes no teste qualitativo pela vírusneutralização para DVB. Rio Branco, 2012.	37
Figura 3: Titulação das amostras de receptoras, reagentes no teste qualitativo pela virusneutralização para IBR. Rio Branco, 2012.	38
Figura 4: Teste de médias entre as concentrações plasmáticas de cortisol e P4 em receptoras de embriões.	41

Lista de Tabela:

	Página
Tabela 1: Resultados de pesquisa de anticorpos relacionados a cinco doenças de acordo com o modo de sororreação em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.32
Tabela 2: Resultados de pesquisa de sorovares em 128 receptoras de embriões soropositivas para leptospirose. Rio Branco, 2013.33
Tabela 3: Registro de ocorrência simultânea de sororreação para 2 ou mais doenças em receptoras de embrião. Rio Branco, 2013.34
Tabela 4: Estratificação de resultados para ocorrência simultânea de 1 a 5 soropositivos em receptoras de embrião. Rio Branco, 2013.35
Tabela 5: Associação entre os desempenhos reprodutivos avaliados e o modo de sororreação para anticorpos anti- <i>Brucellaabortus</i> em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.36
Tabela 6: Associação entre os desempenhos reprodutivos avaliados e o modo de sororreação para anticorpos anti- <i>Leptospira</i> sp. em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.36
Tabela 7: Associação entre os desempenhos reprodutivos avaliados e o modo de sororreação para anticorpos anti-DVB em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.38
Tabela 8: Associação entre os desempenhos reprodutivos avaliados e o modo de sororreação para anticorpos anti-IBR em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.39
Tabela 9: Associação entre os desempenhos reprodutivos avaliados e o modo de sororreação para anticorpos anti- <i>Neospora</i> sp. em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.40
Tabela10: Correlação entre as concentrações plasmáticas de cortisol e P4 (Media \pm Desvio padrão), em receptoras de embriões.41
Tabela 11: Teste de média e de correlação entre o VCL e a concentrações plasmáticas de P4 em receptoras de embriões.43
Tabela 12: Correlação entre as concentrações plasmáticas de cortisol e os fatores bioclimáticos em receptoras de embriões.44

DINIZ, J. V. A. **SOROPOSITIVO DAS ENFERMIDADES REPRODUTIVAS, FATORES CLIMÁTICOS E HORMONAIS EM RECEPTORAS BOVINAS.** [POSITIVE SERUM OF REPRODUCTIVE DISEASES, CLIMATIC FACTORS AND HORMONE RECEPTOR IN BOVINE]. 2013. 83f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2013.

O desempenho reprodutivo bovino pode sofrer interferência de diversos fatores, dentre os quais os relacionados à fisiologia, à patologia, à genética, à nutrição e ao manejo zootécnico-sanitário dos rebanhos, os quais, direta ou indiretamente podem comprometer o embrião, o feto e o trato reprodutivo das fêmeas. O propósito desse estudo foi estabelecer em receptoras de embriões (n=235), se e em qual proporção a resposta aos protocolos de sincronização hormonal, as taxas de prenhez e de perda embrionária foram, negativamente, afetadas devido à constatação de soropositividade para enfermidades reprodutivas, das concentrações plasmáticas de cortisol e de P4, das temperaturas ambiente, retal e umidade relativa do ar. Avaliou-se, ainda, o volume do CL e sua relação com a produção de P4. As taxas de soropositividade para brucelose, leptospirose, diarreia viral bovina (BVD), rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e neosporose foram 2,89% (n=7), 54,47% (n=128), 43,83% (n=98), 74,04% (n=174) e 63,82% (n=150), respectivamente. Com respeito às enfermidades, as diferenças entre as taxas de receptoras reagentes e não reagentes mostraram-se estatisticamente significantes ($p < 0,05$) para as associações da leptospirose e da neosporose, com a taxa de aproveitamento e da brucelose e IBR com a taxa de perda embrionária. Nas avaliações sobre cortisol e P4, observou-se que as diferenças entre suas respectivas concentrações plasmáticas não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) entre as receptoras que resultaram prenhas ($17,24 \pm 7,59$; $13,58 \pm 6,41$) e as não prenhas ($17,78 \pm 5,54$; $14,15 \pm 7,16$), mas apresentaram correlação positiva ($p < 0,05$). Desse modo, essas concentrações plasmáticas de cortisol observadas, presumivelmente, não interferiram com a capacidade de resposta das receptoras aos protocolos, mas, nos grupos de animais "Resp.P." e "N.Resp.P." suas concentrações diferiram estatisticamente ($p < 0,05$). Em relação ao VCL e à concentração de P4, não se constatou diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre os seus valores médios. Para todas as situações analisadas, observou-se apenas correlação entre o volume do CL e a produção

de P4 ($p < 0,05$) no grupo “pequeno”. Em relação às temperaturas em ambiente, retal e à umidade relativa do ar, os valores, em médias, foram $30,07^{\circ}\text{C}$, $39,38^{\circ}\text{C}$ e $69,23$, respectivamente. Observou-se que os grupos "protocolo", "Resp.P.", "Res.PNE." e "Nresp.P." identificaram correlação negativa entre a concentração de cortisol e a temperatura ambiente ($p < 0,05$). A umidade do ar foi a variável que não se correlacionou com a concentração de cortisol para nenhum dos grupos de desempenho reprodutivo analisado ($p > 0,05$). Sobre a TEMPR e a concentração de cortisol, verificou-se que não existiu diferença significativa entre os grupos “Resp.P.” e o “Nresp.P.” em relação à TEMPR ($p > 0,05$), e em relação à concentração de cortisol a diferença foi significativa ($p < 0,05$).

Palavras - chave: Inquérito Imunossorológico, cortisol, progesterona, Influência Térmica, embrião e receptoras.

DINIZ, J.V.A. **POSITIVE SERUM OF REPRODUCTIVE DISEASES, CLIMATIC FACTORS AND HORMONE RECEPTOR IN BOVINE.** [SOROPOSITIVO DAS ENFERMIDADES REPRODUTIVAS, FATORES CLIMÁTICOS E HORMONAIIS EM RECEPTORAS BOVINAS]. 2013. 83f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2013.

Beef cattle reproductive performance is under the interference of several factors among which those related to physiology , pathology , genetics , nutrition and management of health - livestock herds , which directly or indirectly may affect the embryo , fetus and reproductive tract of females . The purpose of this study was to establish in recipient embryos (n=235), if and in some extent, the response to synchronization protocols hormone, pregnancy and embryonic loss rates were negatively affected due to the finding of reproductive diseases seropositivity, of cortisol and P4 serum levels and of ambient and rectal temperatures and air relative humidity; it was also evaluated the CL volume and its relation to P4 production. Brucellosis, leptospirosis, bovine viral diarrhea (BVD), infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and neosporosis seropositivity rates were 2.89% (n=7), 54.47% (n=128), 43.83% (n=98), 74.04% (n=174) and 63.82% (n=150), respectively. Correlations of leptospirosis and neosporosis with responsive cows to protocols and of brucellosis and IBR with embryonic loss rate were all statistically significant ($p < 0.05$). Pregnant and non- pregnant recipient cows cortisol and P4 respective serum levels (17.24 ± 7.59 , 13.58 ± 6.41 ; 17.78 ± 5.54 , 14.15 ± 7.16) did not differ statistically ($p > 0.05$), but were positively correlated ($p < 0.05$), thus this cortisol serum level, presumably, did not interfere with recipient cows responsiveness to the protocols, but in groups "Resp.P." and "N.Resp.P." their concentrations differed significantly ($p < 0.05$). Regarding the VCL and the concentration of P4 , no difference was found statistically significant ($p > 0.05$) between the mean values. For all cases studied, only correlation was observed between the amount of CL and P4 production ($p < 0.05$) in group "small". In relation to environmental temperatures, rectal and relative humidity values in averages were 30.07°C , 39.38°C and 69.23, respectively. Was observed for the groups "protocol", "Resp.P.", "Res.PNE." and "Nresp.P." found a negative correlation between cortisol concentration and temperature ($p < 0.05$). The humidity was the variable that is not correlated with the concentration of cortisol for any of the groups

analyzed reproductive performance ($p > 0,05$). About TEMPR and cortisol concentration, it was found that there was no significant difference between groups "Resp.P." and "Nresp.P.". About TEMPR ($p > 0,05$) and in relation to the concentration of cortisol difference was significant ($p < 0,05$).

Key words: Survey Imunosorologia, cortisol, progesterone, thermal influence, embryo and recipients.

1. INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva de bovinos, em suas diversas abordagens, exerce papel preponderante no desempenho da produção pecuária (OLIVEIRA, 2007). Fatores como os relacionados à fisiologia, à patologia, à genética, à nutrição, ao ambiente e ao manejo zootécnico-sanitário dos rebanhos (ROYAL et al., 2000) interferem, diretamente, na cadeia de eventos fisiológicos responsáveis pela reprodução e na sanidade do aparelho reprodutivo (TAKIUCHI et al., 2005).

Doenças como brucelose, leptospirose, diarreia viral bovina (BVD), rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e neosporose, que afetam não só o trato reprodutivo animal (DEL FAVA, 2003; 2007), estão disseminadas no rebanho nacional e são responsáveis por expressivas perdas econômicas, além de representarem um problema de saúde pública, e que estão sendo descritas pela primeira vez e, portanto, associadas aos parâmetros reprodutivos em receptoras de embriões.

Cumprir destacar, inicialmente, que foi constatado que de 8 a 10% dos problemas reprodutivos, respectivamente, em vacas, em geral, estão relacionados, principalmente, às doenças bacterianas, virais e aos protozoários. (DEL FAVA, 2007)

Insta ressaltar, também, que outra condição associada ao desempenho reprodutivo diz respeito às influências exercidas pelo binômio temperatura ambiente - umidade relativa do ar. Sabe-se que 50% do rebanho bovino mundial está nos trópicos, e tendo o Brasil a maior parte do seu território situada nessa região, as suas altas temperaturas e umidade devem ser consideradas como fatores que podem induzir distúrbios reprodutivos imputados ao estresse térmico (ET). Em ambientes tropicais, a alta temperatura do ar, associada à umidade e à radiação elevadas, reduz a eficiência da perda de calor, e, com isso, contribui para o aumento do estresse do animal, limitando o seu desenvolvimento bem como a sua produção e a

reprodução, respectivas (VASCONCELOS et al., 2006; TORRES-JÚNIOR et al., 2008).

A capacidade do animal para se ajustar fisiologicamente às alterações bioclimáticas em virtude das altas temperaturas e umidade tem sido avaliada, também fisiologicamente, por variações, principalmente, da temperatura retal (MORAIS et al., 2008).

O clima tropical e suas consequências no desempenho reprodutivo de bovino têm sido pouco estudados no Brasil, e, em uma situação de manejo específico, como o observado em programas de transferência de embriões (TE), os fatores climáticos podem ter impacto ainda maior (VASCONCELOS et al., 2006).

Os processos reprodutivos em mamíferos são muito sensíveis e sujeitos a interferências provocadas pela elevação da temperatura dos trópicos, que se evidenciam pela elevação da produção de cortisol e queda de concentração plasmática de progesterona (P4), que, quando associadas, provocam queda da fertilidade nas fêmeas e aumento da mortalidade embrionária (HANSEN et al., 2001; CUNNINGHAM, 2004).

Durante o ciclo estral, os níveis de progesterona (P4) refletem o crescimento, a manutenção e a regressão luteal (SPANNO & SILVA, 1992), e sua avaliação permite a associação das características morfológicas do corpo lúteo (CL) ao ultrassom com o seu estado funcional. A concentração de progesterona (P4) circulante depende diretamente de sua produção, da liberação pelo tecido luteal e da taxa de clearance (VIANA et al., 1999). Já os elementos estressores estimulam atividades hipotálamo-hipófise-adrenal, causando uma marcante elevação nas concentrações séricas de cortisol (KOMESAROFFET et al., 1998) e diminuição da pulsatilidade de LH. O pico de LH foi atrasado e de menor intensidade em vacas com níveis plasmáticos de cortisol elevado, propiciando ausência de ovulação ou ovulação tardia, e, por consequência, atraso na formação do CL (DOBSON SMITH, 2001).

A concentração plasmática de progesterona e de cortisol são fatores importantes para obtenção de êxito na transferência de embriões. Em trabalhos recentes, observaram-se valores médios maiores tanto para cortisol quanto para P4, em receptoras bovinas avaliadas no décimo sexto dia do protocolo sincronização hormonal para animais trabalhados nos trópicos. (COSTA e SILVA et al., 2010).

O presente trabalho tem como objetivo testar a hipótese de que as respostas aos protocolos hormonais, empregados para transferência de embriões em tempo fixo (TETF) em receptoras mestiças, podem ter sido afetadas negativamente em fêmeas sororreagentes para uma ou mais das enfermidades infectocontagiosas, brucelose, leptospirose, DVB, IBR e neosporose; como também avaliar o perfil hormonal de cortisol e de P4 nas taxas de aproveitamento de protocolos de sincronização hormonal, de prenhez e de perdas embrionárias (desempenhos reprodutivos), que poderão ter sido influenciados pelas condições bioclimáticas no estado do Acre.

2. OBJETIVOS:

2.1. Geral:

Estabelecer correlações entre taxas de aproveitamento de protocolos de sincronização hormonal, de prenhez e de perdas embrionárias (desempenho reprodutivos) com a condição de as receptoras de embriões bovinos serem ou não sororreagentes para as enfermidades da reprodução citadas e determinar se as correlações sobre o perfil hormonal de cortisol e de P4 no desempenho reprodutivo foram influenciadas pelas condições bioclimáticas no estado do Acre.

2.2. Específicos:

- Estabelecer um protocolo eficiente, de sincronização, com dois dias de manejo para tratamento hormonal e com a utilização de eCG no D(8), de prenhez e de taxa reduzida de perda embrionária em receptoras bovinas trabalhadas no Acre (Amazônia Ocidental).

- Determinar o primeiro inquérito imunossorológico para as enfermidades reprodutivas brucelose, leptospirose, DVB, IBR e neosporose, em receptoras bovinas trabalhadas no Acre.

- Determinar, em que proporção, a condição de as receptoras de embriões bovinos serem ou não sororreagentes para as doenças citadas afetará os desempenhos reprodutivos.

- Determinar se a correlação entre a concentração plasmática de Cortisol e de P4 afetará a condição de a receptora responder ou não ao protocolo de sincronização hormonal.

- Determinar o tamanho do volume do corpo lúteo no dia da transferência do embrião através da ultrassonografia, correlacionando-o com a concentração plasmática de P4.

- Determinar a correlação da temperatura ambiental, umidade relativa e temperatura retal com a concentração plasmática de cortisol relativa ao momento da transferência do embrião.

3. DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS E PARASITÁRIAS:

Nos rebanhos bovinos do Brasil, doenças como brucelose, leptospirose, IBR, BVD e neosporose são responsáveis por 30% das mortes embrionárias e, por sua ocorrência endêmica, representam as principais causas com impacto negativo na eficiência reprodutiva (DEL FAVA et al., 2003; 2007).

Dentre as citadas acima, cumpre destacar que a brucelose é uma das mais importantes doenças infectocontagiosas do aparelho reprodutor de bovinos (DEL FAVA et al., 2007). A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) a classifica como uma doença transmissível, de importância socioeconômica e/ou de saúde pública, com consequências significativas e restritivas para o comércio internacional de animais e de seus produtos (OIE, 2008), por estar distribuída, mundialmente, nas populações animal e humana, respectivamente. Excetuam-se os países que, após programas rigorosos, conseguiram erradicá-la ou, pelo menos, reduzir, significativamente, sua taxa de prevalência, e que, ainda, constitui-se em um problema a ser solucionado, sobretudo, nos países mais pobres (MATHIAS et al., 2007).

A doença é causada por microrganismos do gênero *Brucella*, constituído por sete espécies: *Brucella melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*, *B. maris* e *B. abortus*, sendo esta quase sempre a responsável por infecções nos bovinos e associados, frequentemente a problemas reprodutivos (RADOSTITS, 2002).

São bactérias Gram-negativas, com formato de cocobacilos pequenos, que medem 0,5-0,7 X 0,6-1,5 µm, imóveis, aeróbicos estritos, não esporulados, parasita intracelular facultativo, multiplicando-se em macrófagos e neutrófilos em seus hospedeiros, bastante resistentes, quando são encontrados em produtos de origem animal e em determinados ambientes, onde sobrevivem por períodos prolongados, sob circunstâncias favoráveis como umidade, abrigo da luz solar e pH neutro (NICOLETTI, 1998). Tais bactérias penetram no organismo pelas mucosas oro-naso-faríngeas, conjuntivais, pela mucosa genital ou pelo contato direto com a pele, e são levadas aos linfonodos regionais, onde proliferam no interior das células retículo - endoteliais (JONES

et al., 2000; RIET-CORREA et al., 2007) disseminando-se, daí, para outros tecidos linfóides como o baço e os linfonodos mamários e ilíacos (RADOSTITS et al., 2002). O estabelecimento da infecção depende do inóculo, da virulência da bactéria e da resistência do hospedeiro, que é determinada por mecanismos imunológicos inatos e específicos (KREUTZ et al., 2004).

A bactéria tem predileção pelo útero prenhe, úbere, testículo, glândulas sexuais masculinas acessórias, linfonodos, cápsulas articulares e membranas sinoviais (BEER, 1988). A afinidade das bactérias pela placenta e feto, em particular pelos trofoblastos corioalantóicos, foi correlacionada à presença de eritritol nesses tecidos (JONES et al., 2000). Entretanto, placentas de diversos roedores de laboratório, que carecem de eritritol detectável, ainda sustentam a replicação da bactéria (SMITH, 2006). Eritritol é um álcool polihídrico que age como fator de crescimento (QUINN et al., 2005).

Nos tecidos invadidos, sua localização intracelular constitui-se em um dos mecanismos de evasão frente ao sistema imune porque ficam protegidas da ação do complemento e de anticorpos específicos. Quando internalizada por fagócitos, pode tanto ser destruída no interior de fagolisossomos como sobreviver nestes compartimentos, ou, ainda, multiplicar-se em sítios intracelulares de replicação (GORVEL et al., 2006).

O período de incubação tem uma duração variável, geralmente situado entre 14 e 180 dias ou entre 193 a 251 dias (BEER, 1988). Os achados clínicos dependem do estado imune do animal. A maior incidência é em fêmeas primíparas, e no gado prenhe não vacinado, altamente susceptível, o abortamento após o quinto mês de gestação é uma característica da doença nos bovinos. Nas gestações subsequentes, o feto normalmente é gerado a termo, embora um segundo ou até um terceiro abortamento possa ocorrer na mesma vaca, além de nascimento de animais mortos ou fracos (RADOSTITS et al., 2002; RIET-CORREA et al., 2007).

No que concerne às complicações da doença, é importante registrar que as características ocorrentes são a retenção de placenta, metrite e, ocasionalmente, subfertilidade e/ou esterilidade permanente (FUCK & MORAES, 2005; RIET-CORREA et al., 2007).

O principal reservatório do agente continua sendo o bovino infectado, que elimina o agente por meio de fetos abortados, anexos fetais, secreções vaginais, fezes, urina. A bactéria é também eliminada pelo leite e pelo colostro, importante via de contaminação para bezerros que não se infectaram pela via transplacentária. Além do contato direto com materiais infectados, a transmissão pode se dar indiretamente, também através da água, pastagem e fômites contaminados bem como pelo sêmen. Na monta natural, o sêmen é depositado na vagina, onde existem defesas inespecíficas que dificultam o processo de infecção. Entretanto, na inseminação artificial, o sêmen é introduzido diretamente no útero, possibilitando a ocorrência da infecção, ainda que com pequenas quantidades se o material for contaminado.

A transferência de embriões, realizada segundo os protocolos, internacionalmente preconizados, de lavagem e tratamento para a redução de agentes infecciosos, não apresenta risco de transmissão de brucelose entre doadoras infectadas e receptoras livres da doença (BRASIL, 2006).

Nos Estados Unidos, onde a doença está bem controlada na maioria dos estados, reservatórios silvestres desempenham importante papel na cadeia de transmissão daquela, reintroduzindo-a em rebanho livres. Essa via de disseminação da doença, provavelmente, assumirá caráter relevante, principalmente, na região amazônica, pela proximidade da fauna silvestre com os rebanhos (BRASIL, 2006).

O diagnóstico da brucelose é uma das bases de um programa de controle ou vigilância epidemiológica da brucelose bovina. Pode ser feito indiretamente através da detecção de anticorpos contra a *B. abortus* por métodos sorológicos ou pela identificação do agente por meios diretos como isolamento da bactéria, imuno-histoquímica, PCR (Poester, 2005).

Embora um diagnóstico definitivo e incontestável de brucelose possa ser obtido com o isolamento do agente etiológico, esse procedimento é dispendioso, demorado e exige recursos laboratoriais nem sempre disponíveis, o que inviabiliza o seu uso em larga escala, como requer um programa de controle da enfermidade (MATHIAS et al., 2007). Em decorrência de maior praticidade, menor custo e menor tempo para obtenção do diagnóstico, a

pesquisa de anticorpos é o procedimento de escolha para a rotina do diagnóstico (RIET-CORREA et al., 2007).

O diagnóstico indireto da brucelose pode ser realizado por meio de vários testes; dentre eles, o de rosa de bengala, prova de soroaglutinação lenta com 2-mercaptoetanol (SAL-2ME), teste presuntivo rápido automatizado (rap test), ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA), ensaio homogêneo de fluorescência polarizada (FPA) e a fixação de complemento (FC) (ALMEIDA et al., 2004).

No Brasil, o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) definiu como oficiais os testes do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Teste do Anel em Leite (TAL), 2-Mercaptoetanol (2-ME) e Fixação de Complemento (FC). Os dois primeiros como testes de triagem, os dois últimos como confirmatórios. Células inteiras da amostra de *B. abortus* 1119-3 são utilizadas como antígenos na preparação de vacinas, o mais eficiente método de controle da doença (BRASIL, 2006).

Outra doença bacteriana prevalente, que acomete os bovinos, é a leptospirose, doença infecciosa aguda, de caráter zoonótico, sendo os animais os hospedeiros primários, essenciais para a persistência dos focos de infecção, enquanto os seres humanos são hospedeiros acidentais, terminais, pouco eficientes na perpetuação dos referidos focos.

A leptospirose distribui-se mundialmente e afeta mais de 160 espécies de animais domésticos e silvestres, com maior incidência em locais de clima quente, condição favorável para aquela doença, encontrada, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais (ZUNINO & PIZARRO, 2007).

Causada por espiroquetas do gênero *Leptospira*, a Leptospirose, classicamente, compreendia duas espécies: *Leptospira interrogans* e *Leptospira biflexa*, sendo a primeira patogênica e a segunda saprófita. (SEGHAL, 2006; ZUNINO & PIZARRO, 2007).

Estudos recentes de DNA estabelecem algumas mudanças taxonômicas em relação à sua classificação, de modo que o gênero *Leptospira* compreende três espécies não-patogênicas. Quais sejam: a *Leptospira biflexa*, a *Leptospira*

meyerii, a *Leptospira wolbachii* e sete espécies patogênicas; a saber, portanto: a *Leptospira borgpetersenii*, a *Leptospira inadai*, a *Leptospira interrogans*, a *Leptospira kirschneri*, a *Leptospira noguchii*, a *Leptospira santarosai* e a *Leptospira weili*, distribuídas em 24 sorogrupos e 237 sorovares. (SEGHAL, 2006; ZUNINO & PIZARRO, 2007).

As leptospirosas são bactérias helicoidais, flexíveis, delgadas e filamentosas, com 0,1 a 0,2 cm de largura por 6 a 12 cm de comprimento e extremidades em forma de anzol. São aeróbicas obrigatórias, móveis, possuem ainda dois flagelos periplásmicos, que conferem intensa motilidade, fazendo movimentos e flexões enquanto rotaciona em seu eixo (ZUNINO & PIZARRO, 2007).

A temperatura ambiente, que favorece um ótimo ambiente para a sobrevivência e a replicação da leptospira está entre 28° - 30°C, respectivamente, e, no solo, a condição ideal é de pH neutro ou levemente alcalino. As leptospirosas resistem por longos períodos em solos úmidos e água parada, onde apresentam uma viabilidade de até seis meses. No leite, onde são encontradas, durante a fase de leptospiremia, resistem por poucas horas e na urina de ruminantes, onde o pH é geralmente alcalino, sobrevivem por várias horas (ADLER et al., 2009).

A invasão do organismo pelas leptospirosas ocorre pelas mucosas ocular, nasal, genital e, principalmente, pela oral e pela pele, mesmo íntegra. Uma vez na circulação sanguínea, multiplicam-se ativamente e, por volta do 4° dia, após a infecção, ocorre uma leptospiremia, e, por conseguinte, monócitos liberam quantidades expressivas de Fator de Necrose Tumoral (FNT), que provocam, por sua vez, danos vasculares generalizados, comprometendo as funções renais e hepáticas, além de causar distúrbios respiratórios e de coagulação sanguínea. Em decorrência das lesões hepáticas e da hemólise intravascular, o animal pode apresentar icterícia. Nesta fase, pode ocorrer a morte do animal (RIET-CORREA et al., 2007).

Logo após a fase de leptospiremia, inicia-se, entre o 5° e o 7° dias, a produção de anticorpos. A partir deste período, portanto, as leptospirosas instalam-se em sítios livres da ação dos anticorpos como, por exemplo, nos

rins, onde se multiplicam e passam a ser eliminadas na urina por períodos variáveis, fase denominada de leptospirúria. Animais em lactação podem eliminar espiroquetas pelo leite durante a fase aguda da doença. (ACHA & SZYFRES, 2006; RIET- CORREA et al., 2007).

A leptospirose consiste, basicamente, em um quadro de polivascularite associado a transtornos embólicos, provocados por êmbolos de leptospiras presentes nos capilares terminais. Acredita-se, ainda, no envolvimento de reação de hipersensibilidade produzida pela deposição de imune-complexos no endotélio vascular no fígado, rins, pulmões e sistema nervoso central (RIET-CORREA et al., 2007).

O abortamento é a principal manifestação clínica da leptospirose crônica e, frequentemente, constitui-se no único sinal observado no rebanho, podendo ser observado no decorrer do quarto mês de gestação, após a infecção com *L. hardjo* e esta sorovar, também; o que pode ocasionar comprometimento no desempenho reprodutivo como subfertilidade e esterilidade em detrimento das lesões gonadais (ACHA & SZYFRES, 2006).

As taxas de abortamento provocadas pela *L. Hardjobovis* são da ordem de 10% enquanto que pela *L. Hardjoprajitno* atingem a 30%. A sorovar *Hardjo*, também encontrado no trato genito urinário de fêmeas prenhas ou vazias, sugere a possibilidade de transmissão horizontal sexual da infecção. O abortamento pode ocorrer mais de uma vez no mesmo animal (ANDREWS et al., 2004; ACHA & SZYFRES, 2006).

Já o sorogrupo *Serjoe* é responsabilizado pela “síndrome da queda do leite”, caracterizada por úbere flácido, abortamento ou nascimento de bezerros fracos. A doença em bezerros, geralmente, manifesta-se com maior morbidade em animais adultos, às vezes em até 100% e com letalidade variando entre 5 e 15%, sendo caracterizada por anorexia, apatia, hipertermia, hemoglobinúria, anemia e icterícia.

Bovinos adultos raramente apresentam outros sinais clínicos, que não sejam as disfunções reprodutivas e, eventualmente, a ocorrência de mamites hemorrágicas (ARDUINO et al., 2004). Alguns animais apresentam certo grau de imunidade devido à presença de anticorpos séricos em níveis

intermediários. Assim, a leptospiremia que se instala é a de menor amplitude e, conseqüentemente, as lesões são mais brandas, e com a infecção ocorrendo de forma subclínica (ARAÚJO et al., 2005).

Os reservatórios são os animais sinantróticos, doméstico e silvestre, sendo estes essenciais para a persistência dos focos de infecção. Dentre as espécies silvestres, que podem funcionar como reservatórios de leptospiras para os animais domésticos e os seres humanos, os murídeos sinantróticos (ratos, ratazanas e camundongos) são de grande importância. Os seres humanos são hospedeiros acidentais terminais na cadeia de transmissão (BRASIL, 2005).

A infecção em bovinos tem sido classificada em dois grupos principais: o primeiro consistindo de cepas adaptadas aos bovinos como *Hardjo*, independente da região e pluviometria, e o segundo, por infecção acidental, produzida por cepas introduzidas por outros animais domésticos e/ou animais silvestres de vida livre. Sabe-se que muitas outras sorovares, como *Canicol*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona* e *Wolffi*, podem infectar bovinos. Este fato ocorre devido à proximidade da convivência entre animais silvestres e domésticos, situação já apontada como prevalente, na região amazônica (LANGONI et al., 2000; FARIA et al., 2008).

Na cadeia de transmissão das leptospiras, nas diversas espécies susceptíveis, frequentemente, verifica-se um elo hídrico entre o reservatório e o animal susceptível. Relata-se, ainda, a possibilidade de transmissão pelo sêmen. Touros contaminados podem apresentar as leptospiras nos testículos, nas glândulas anexas do sistema reprodutor ou as albergam na uretra distal, parte comum ao sistema reprodutivo e urinário, eliminando o agente pelo sêmen. A ocorrência de touros infectados em centrais de inseminação artificial pode contribuir consideravelmente para a disseminação da doença entre rebanhos distantes (ANDREWS et al., 2004; ACHA & SZYFRES, 2006).

Técnicas sorológicas como fixação de complemento, imunofluorescência indireta, hemaglutinação, imuno-histoquímica, testes de aglutinação e teste ELISA podem ser empregadas para o diagnóstico e monitoramento da leptospirose no rebanho. Os testes sorológicos apresentam a vantagem do

custo reduzido e a possibilidade de massificação, tendo limitação na fase aguda da doença, quando os anticorpos estão ausentes ou em baixas concentrações séricas (GENOVEZ, 2006).

Em se tratando de doenças virais, o herpes vírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) são importantes patógenos que acometem os bovinos, estando amplamente disseminados no mundo e responsáveis por problemas sanitários, perdas produtivas para produtores e empresas que comercializam animais, sêmen ou embriões, principalmente em âmbito internacional (DIAS & SAMARA, 2003; KATHOLM & HOUE, 2006).

O BoHV-1 pode causar doença respiratória, conhecida como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), além de conjuntivite, vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), balanopostite pustular infecciosa (IPB), reabsorção embrionária, aborto, infertilidade temporária, nascimento de animais fracos e infecções sistêmicas, que podem resultar em meningoencefalite (CERQUEIRA et al., 2000; VIEIRA et al., 2003). A doença pode, ainda, ser caracterizada por repetições de estros em intervalos regulares / irregulares (RUFINO et al. 2006).

O herpesvírus bovino tipo 5 (BHV-5) é o agente etiológico de meningoencefalite, enfermidade de curso, geralmente fatal, que atinge, principalmente, animais jovens (GOMES et al., 2002). Ocasionalmente, o BHV-5 pode estar relacionado, também, com doença respiratória. (SALVADOR et al., 1998).

O BHV-1 e o BHV-5 são semelhantes entre si nos aspectos morfológicos, biológicos e moleculares, porém são antigenicamente relacionados, o que pode ser demonstrado por testes de neutralização cruzada e por reatividade, com uma variedade de anticorpos monoclonais (VOGEL et al., 2002; KUNRATH et al., 2004). Desta forma, técnicas sorológicas ou imunológicas de rotina são incapazes de distinguir o BHV-1 do BHV-5. Essa relação sorológica entre os dois herpes vírus bovino reflete-se, também, em proteção cruzada in vivo e tem sido responsabilizada, em parte, pela baixa ocorrência da enfermidade neurológica pelo BHV-5 em regiões, onde a infecção pelo BHV-1 é endêmica; e/ou utiliza-se vacinação (CASCIIO et al., 1999; KUNRATH et al., 2004).

No Brasil, vários trabalhos regionalizados já sugeriam uma ampla distribuição do BoHV-1 pelos plantéis bovinos, quer seja pelo isolamento do agente, quer sejam por inquéritos sorológicos, uma vez que já foram realizados isolamentos do BHV em diversas regiões. (KUNRATH et al., 2004). Em trabalhos recentes, desenvolvidos por Junqueira (2006), observaram-se taxas de soropositividades de 68,3% para BoHV-1 de um total de 1.331 fêmeas trabalhadas.

O BoHV-1 pertence à família *Herpesviridae*, subfamília *Alfaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus*. Os vírus dessa subfamília apresentam um espectro amplo de hospedeiros, ciclo replicativo curto (de 9 a 11 horas) e se disseminam, rapidamente, em células de cultivo, resultando em lise celular. Outra característica relevante desta subfamília é a capacidade de estabelecer infecções latentes, que podem ser reativadas, periodicamente, com a liberação de partículas virais. Os sítios principais de latência são os núcleos dos neurônios dos gânglios sensoriais e autonômicos, sendo esta característica vital para a perpetuação desses vírus na natureza (ICTV, 2000).

Os membros da família *Herpesviridae* caracterizam-se pela arquitetura do virion, que possui peso molecular de 95-150x10⁶ (Da) Daltons (FENNER et al. 1993), constituindo-se em um núcleo, que contém DNA linear de cadeia dupla (PEDRAZA & ALESSI, 2004).

Os herpes vírus são sensíveis aos solventes lipídicos (ANDREWES et al., 1978) e algumas enzimas proteolíticas, citado por (QUINCOZES, 2007). Relataram que os herpes vírus são relativamente termolábeis (ANDREWES et al. 1978) e sensíveis a choques osmóticos e extremos de pH, citado por (QUINCOZES, 2007). O BoHV-1 é estável a uma faixa de pH entre 6.0-9.0 (GUSTAFSON, 1981), mas lábil a pH 4.5-5.0 citado por (QUINCOZES, 2007).

A disseminação perpetua-se na população bovina pelo contato direto entre animais infectados e suscetíveis por infecções subclínicas e infecções latentes que, ocasionalmente, são reativadas, acompanhadas de eliminação de vírus. Após infecção natural e/ou uso de vacina atenuada, o vírus pode permanecer de forma latente, indefinidamente (KAHRS, 1978).

A porta de entrada do BoHV-1 no bovino é representada, normalmente, pelas mucosas respiratória, ocular ou genital, e está, também, associada à inseminação artificial com material contaminado. (CALDERON et al., 2003). A infecção viral pode comprometer não somente o feto em qualquer estágio do seu desenvolvimento como, também, oócitos e, portanto, embriões produzidos in vitro ou in vivo (MAKAREVICH et al. 2007).

Com relação à sorologia para a detecção de anticorpos, as técnicas mais utilizadas incluem a soroneutralização e o ELISA (RIET-CORREA et al. 1996). O diagnóstico virológico, principalmente para diferenciar infecções por BHV-1 e BHV-5, é a detecção do tipo do agente específico, que se baseia no isolamento viral através de técnicas usuais (ROEHE, 1997). Também relacionado a transtornos reprodutivos em bovinos, bastante comum na maioria dos países e de grande importância econômica, destaca-se a DVB (BROWNLIE, 2005).

A DVB, também conhecida como doença das mucosas, é produzida por um agente viral, que apresenta predileção por infectar, primeiramente, ruminantes, portanto um dos principais causadores de doença nos bovinos (VOGEL et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003; NORONHA et al., 2003). Atualmente, são reconhecidas quatro espécies do gênero *Pestivirus*: CSFV, BDV, BVDV 1 e BVDV 2 (ICTV, 2007), pertencentes à família *Flaviviridae*, e são classificados junto com *Flavivirus* humanos e o vírus da hepatite C (NETTLETON & ENTRICAN, 1995). É um vírus RNA, com dimensões de 40 a 60 nm, esférico, e possui um envoltório lipoproteico derivado das membranas das células hospedeiras. O nucleocapsídeo tem como genoma uma fita única em uma molécula de, aproximadamente, 12,3 kb, com predisposição a altas taxas de mutação (RIDPATH, 2005). Essas mutações levam à heterogeneidade do BVDV, que propicia à evasão do sistema imunológico do hospedeiro (KELLING, 2004).

O virion é resistente às variações de pH de 5,7 a 9,3, ao contrário dos demais vírus da família *Flaviviridae*, e consegue sobreviver no meio ambiente até duas semanas, mas são rapidamente inativados pelo calor por solventes orgânicos, detergentes e desinfetantes comuns como fenóis e clorexidina (RIDPATH, 2005).

A infecção pelo BVDV provoca um complexo de síndromes (DEREGT, 2005), que assumem três formas: a de infecção adquirida durante a vida (diarreia viral bovina), a de infecção fetal (animal persistentemente infectado) e a de doença das mucosas, que resultam em grande variabilidade de sinais clínicos, e que incluem doença reprodutiva, respiratória ou digestiva (VOGEL et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003).

O consenso atual é de que o agente causador das enfermidades é similar, e a diferença entre elas está na forma pela qual o bovino entra em contato com o vírus. Assim, estabeleceu-se que a síndrome que ocorre nos bovinos, que foram infectados durante sua vida, após o nascimento, deverá ser chamada de DVB, e que apresenta expressiva morbidade e letalidade variável. A forma que surge devido às infecções durante a vida uterina estabelece-se como infecção persistente, com morbidade de caráter esporádico, mas com altíssima letalidade, e que, portanto, deverá ser chamada de doença das mucosas (VOGEL et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003).

Em termos gerais, a infecção transplacentária é particularmente prejudicial durante os primeiros 180 dias de gestação, e pode resultar em morte e reabsorção embrionária, morte e mumificação fetal, abortamento, deformidades congênitas, imunotolerância (GROOMS, 2004).

A disseminação do agente da BVD/DM pode ser dividida em duas situações: o bovino pode ser infectado durante sua vida fetal ou pode ser infectado após o nascimento. Na primeira hipótese, poderá ser originado um produto persistentemente infectado, dependendo da idade gestacional em que ocorreu a infecção enquanto que na segunda possibilidade, poderá originar três fatos: A amostra viral envolvida ser pouco patogênica e/ou o bovino ser muito resistente (o animal apenas soroconverte sem apresentar sintomas), amostra viral ser muito patogênica e/ou o bovino pouco resistente (acarretando a morte do animal) ou no caso da amostra viral ser muito patogênica e o animal apresentar alguma resistência, desenvolve-se os sintomas da DVB, mas ocorre recuperação e apenas soroconversão (FLORES et al., 2000; DEL FAVA et al., 2007).

A porta de entrada da DVB no organismo, por vias direta ou indireta são as mucosas oral, nasal e genital a partir de material de animais infectados (NISKANEN & LINDBERG, 2003; MOEN et al., 2005) ou de medicamentos contaminados (KATHOLM & HOUE, 2006). A disseminação pelo organismo ocorre pelas células linfoides presentes na corrente circulatória (THURMOND, 2005; GARD et al., 2007).

O vírus pode ser transmitido, também, através do soro fetal bovino contaminado, comumente utilizado nas biotécnicas reprodutivas como na fertilização in vitro e na transferência de embriões; além disso, os embriões oriundos de doadoras infectadas podem transmitir o vírus para as receptoras (GIVENS & WALDROP, 2004; GARD et al., 2007).

Os métodos de diagnósticos empregados para a detecção da DVB são baseados em sorologia, que incluem teste imunoenzimático, vírus neutralização e ELISA, principalmente (RIET-CORREA et al. 1996; NORONHA et al., 2003). Na detecção de antígenos virais e na caracterização de fragmentos de genoma específicos do vírus em amostras, é empregado o isolamento viral. (ROEHE, 1997; RIDPATH, 2005).

Dentre as várias enfermidades causadas por protozoários, destaca-se a neosporose. De ocorrência mundial, essa protozoose está associada a prejuízos substanciais na exploração pecuária devido aos abortamentos que provoca, seu principal impacto negativo (BARR et al., 1995).

Nos Estados Unidos, 20% a 43%, e na Nova Zelândia, 17% a 30% dos abortamentos estão diretamente relacionados a infecções produzidas por esse agente, provocando prejuízos estimados em 35 milhões de dólares. Na Austrália, estima-se que a neosporose cause um prejuízo anual de 85 milhões de dólares à indústria de leite (ANDERSON et al, 2000).

No Brasil, encontra-se, também, amplamente distribuída (OLIVEIRA, 2007). Bjorkman et al. (2000) realizou um estudo, envolvendo 565 vacas Holandesas e descreveu taxa de 3 a 4% de decréscimo da produção de leite, levando-se em consideração 305 dias de lactação, e que aquele percentual representa uma perda aproximada de 128 dólares por vaca. Portanto, a doença gera perdas econômicas diretas como também despesas e custos indiretos,

associadas a consultorias veterinárias para o diagnóstico, repetição de inseminação artificial ou monta, aumento do intervalo entre partos e custos com a reposição dos animais descartados (RAGOZZO et al., 2007).

O parasita pertence ao filo *Apicomplexa*, classe *Sporozoa*, ordem *Coccida*, família *Sarcocystidae*, gênero *Neospora* e espécie *Neospora caninum*. Apresenta um ciclo de vida semelhante ao do *Toxoplasma gondii*, sendo causa de abortamentos em bovinos em todos os continentes (DUBEY, 2003; VALENZUELA, 2005).

O ciclo de vida de *N. caninum* é dividido em três estágios infectantes: taquizoítos, bradizoítos, e esporozoítos. O primeiro corresponde ao estágio de proliferação lenta durante o qual os parasitos formam cistos teciduais, principalmente no sistema nervoso central. Sob certas circunstâncias, como prenhez e imunodeficiência, os bradizoítos podem converter-se em taquizoítos, que proliferam assexuadamente, promovendo infecção fetal ou causando lesões nestes animais imunossuprimidos. Os estágios de taquizoítos e cistos teciduais são intracelulares, onde formam vacúolos parasitófagos em células como neurônios, macrófagos, fibroblastos, miócitos de animais hospedeiros intermediários (DITTRICH, 2002). Os bradizoítos são as formas encontradas em tecidos de bovinos e cães naturalmente infectados, mas não foram descritos em cães infectados experimentalmente (DITTRICH, 2002). Os oocistos de *N. caninum* esporulam fora de seu hospedeiro e são sua forma infectante (URQUHAT et al., 1998; FORTES, 2004). Seus hospedeiros definitivos são o cão e o coiote (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004), e os intermediários são os bovinos, eqüinos, caprinos, ovinos e cervos; camundongos, ratos, cães, raposas, caprinos, gatos, ovinos, suínos, gerbils e coelhos, que se infectam da mesma forma que os definitivos, ingerindo alimentos contaminados por fezes contendo oocistos esporulados (ANDERSON et al., 2000; AGUIAR et al., 2006).

Além de ser diagnosticado no coiote, um animal silvestre, inquéritos sorológicos apontam que o parasita está disseminado, também, em muitos outros representantes da fauna: alpacas (*Vicugna pacos*), lhamas (*Lama glama*), gambá (*Didelphis marsupialis*), lobo-guará (*Chysocyon brachyurus*),

cachorro do mato/raposa/graxaim (*Cerdocyon thous*) e graxaim do campo (*Lycalopex gymnocercus*). O papel dessas espécies na epidemiologia do *N. caninum* precisa ser investigado, pois elas podem estar contribuindo para a transmissão do parasita para animais de produção e de companhia (ANDERSON et al., 2000; JESUS, 2003; AGUIAR et al., 2006).

Em bovinos, os dois mecanismos de transmissão conhecidos são a transmissão vertical ou congênita (transferência do parasito da mãe para o feto), e transmissão horizontal ou infecção pós-natal (ingestão de oocistos eliminados com as fezes de cães ou de coiote (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004). O papel do oocisto na epidemiologia natural de *N. caninum* ainda é incerto, pois a infecção mantém-se no rebanho por várias gerações por meio da transmissão vertical (DITTRICH, 2002).

Os sinais clínicos são abortamentos que ocorrem, principalmente, na metade do período da gestação, infertilidade, nascimento de bezerros natimortos ou doentes (ANDERSON et al., 2000, DITTRICH, 2002).

O aborto associado à neosporose segue dois modelos. Um, o epidêmico, menos comum, caracterizando-se por várias ocorrências em um período de tempo curto (um a três meses). Geralmente, 80% ou mais, das vacas que abortam, são sorologicamente positivas (ANDERSON et al., 2000). O outro, endêmico, ocorre na maioria dos rebanhos, com vacas infectadas congenitamente, caracterizado por uma taxa elevada de abortos, que persiste durante anos. Em alguns rebanhos, podem ocorrer os dois modelos, nos quais, em períodos mais curtos, ocorrem vários abortos, e em outros períodos os casos de abortos são mais esporádicos (DITTRICH 2002).

Embora a patogenia da neosporose bovina não esteja totalmente elucidada, tem-se avançado substancialmente no que tange ao conhecimento dos mecanismos envolvidos na morte fetal e na transmissão vertical do *N. caninum*. Na parasitemia originada da reativação de um cisto tecidual em latência ou resultado de uma infecção oral, os taquizoítos não somente atravessam a placenta, provocando necrose e inflamação como, ainda, atingem o tecido fetal por via sanguínea, onde provocam lesões

histopatológicas ou formam cistos teciduais capazes de persistir durante a vida do animal (AGUIAR et al., 2006).

A patogênese do aborto não é bem compreendida, pois existem vacas soropositivas que não abortam. Há alguns fatores que influenciam no resultado da infecção por *N. caninum*, como a capacidade de infecção do feto, o momento da parasitemia durante a gestação, a intensidade e duração da parasitemia e a eficiência da resposta imune materna (HEMPHILL et al., 2000).

As vacas infectadas congenitamente apresentam maior número de abortos na primeira gestação do que as não infectadas por essa via; e essa situação também aparece nas gerações subsequentes (DITTRICH, 2002). Nas infecções congênitas, os abortos podem ocorrer em bovinos leiteiros ou de corte, com maior prevalência em rebanhos leiteiros (ANDERSON et al., 2000, DITTRICH, 2002).

Nas exposições ou nas infecções primárias de animais adultos não gestantes, provavelmente, não ocorre infecção permanente, mas pode resultar em uma resposta imune efetiva, que previne a transmissão congênita e que garante uma gestação futura. (McALLISTER, 2001; AGUIAR et al., 2006).

Os testes sorológicos, como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), teste de aglutinação de Neospora (TAN) e, atualmente, vários ELISAs, foram desenvolvidos para os diagnósticos em cães, bovinos e outros animais potencialmente hospedeiros (OLIVEIRA et al., 2007).

3.1 - Influências bioclimáticas

A produção pecuária do Brasil tem participação relevante no comércio mundial de alimentos, sendo o país que detém o segundo maior rebanho bovino do mundo, atrás apenas da Índia, porém tem o maior rebanho comercial do mundo (FERRAZ & FELÍCIO, 2010), em que 80% tem a presença de sangue zebuino como seu componente racial (ACNB, 2011). A pecuária leiteira, também de fundamental importância, participa na formação da renda de grande número de produtores, além de ser responsável por elevada absorção de mão de obra rural (CAMPOS & PIACENTI, 2007).

Outra particularidade da pecuária no país diz respeito ao fato de que dois terços de seu território estão situados nessa região (AZEVEDO et al., 2005), onde fatores estressantes, como as altas temperatura e umidade, em certos períodos do ano, a subalimentação crônica, os riscos de doenças infecciosas e parasitárias são, notavelmente, maiores do que em regiões de clima temperado (HANSEN, 2004; BARROS et al., 2006). Assim, essas condições de calor e de umidade relativa do ar, quase sempre, ficam acima da zona de conforto térmico para os animais, demandando por parte desses, dispêndio de energia em termos de mecanismos fisiológicos termorreguladores como tentativa de dissipação de calor (BAÊTA & SOUZA, 1997, PIRES et al., 2004). No entanto, há ocasiões nas quais a perda de calor corporal torna-se ineficaz, sobrevivendo, então, o estresse térmico (ET) do animal (SILVA & GAUDIOSI, 1995) que, muitas vezes, constitui-se em um fator limitante ao desenvolvimento, à produção e à reprodução (CAMPOS et al., 2002).

Embora ocorram mudanças em quase todos os sistemas do organismo, frente a condições ambientais estressantes, é a córtex da adrenal que desempenha a função mais importante no mecanismo de resposta e de adaptação por meio da liberação de glicocorticoides. (BAGE et al., 2000; SAPOLSKY et al., 2000).

O agente estressor atua, desencadeando uma sequência de eventos com a participação do eixo hipotalâmico - hipofisário - adrenal, culminando com a liberação do cortisol na circulação sanguínea, cujas funções, entre outras, são

a de estimular a glicogenólise hepática e a de reduzir a liberação de insulina. Ambas as ações visam um maior aporte de energia para ajustes fisiológicos, requeridos em situações de estresse (RIVIER et al., 1991; CHROUSOS et al.; 1998).

Destarte, por ser considerado o hormônio do estresse, sua avaliação, embora dispendiosa, pelo aparato que necessita para realizá-la, vem se tornando de grande valia para o estabelecimento da condição de bem-estar animal (BENATTI, 2010). Porém, a maior produção de cortisol causa um feedback negativo no hipotálamo, diminuindo a síntese de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e, conseqüentemente, reduz a liberação das gonadotrofinas FSH e LH, fatos que, ao final, são responsáveis pela baixa produção dos hormonais gonadais (MENEZES, 2010). A redução desses últimos, por seu turno, provoca menor manifestação de estro, baixa taxa de concepção, mortalidade embrionária e abortos (FERRO et al., 2010). Além disso, os efeitos negativos, provocados pelo estresse, podem inibir o pico pré-ovulatório de LH, inibir a ovulação e, até mesmo, piorar a qualidade dos embriões produzidos (MACFARLANE et al., 2000; BREEN et al., 2005). Cabe destacar que está bem documentado sobre a exposição de fêmeas de mamíferos ao ET, que, por conseguinte, causa o aumento da mortalidade embrionária (THATCHER & HANSEN, 1993).

Outros autores relataram que a administração de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) foi capaz de inibir o estro em vacas devido à diminuição na secreção de estrógeno conseqüente ao aumento na secreção de glicocorticoides. Com isso, o pico de LH foi retardado e a ovulação ocorreu mais tardiamente. Esta baixa concentração de estradiol acarretou também uma diminuição na intensidade e ocorrência de estro (ROELOFS et al., 2010). Também para Reis et al. (2006), em situações de ET, o aumento do cortisol pode agir, negativamente, sobre a função lútea, e, conseqüentemente, nas concentrações de P4.

Esse retardo ou ausência na ovulação, influenciadas por níveis elevados de cortisol, acarretará, principalmente, na não luteinização ou formação do (Corpo Lúteo) CL, fenômeno resultante da queda no nível sérico de hormônio

luteinizante (LH), que foi reduzido por influência da diminuição da síntese de GnRH (WILTBANK, 1994; MENEZES, 2010).

É importante ressaltar, também, que em animais zebus, observou-se maior susceptibilidade ao estresse em condições de baixa temperatura, que induziram aumento de cortisol sanguíneo (OLIVEIRA et al., 2010).

Embora o momento da elevação de P4 seja essencial para o desenvolvimento embrionário, a concentração desse hormônio mostra-se também indispensável para prevenir a luteólise, e, portanto, manter a gestação. Mann e Lamming (1999).

Estudos demonstraram, ainda, que a produção de IFN- τ pelo concepto, é positivamente correlacionada com a concentração de P4 plasmática materna (KERBLER et al., 1997). Desse modo, o embrião tende a secretar menos IFN- τ em vacas, com baixas concentrações de P4, durante o início da gestação, tornando menos eficiente os mecanismos que bloqueiam a síntese e a secreção de prostaglandina (PGF 2α). Portanto, é possível evidenciar a redução na sua concentração plasmática, que pode retardar o desenvolvimento e afetar a sobrevivência dos embriões (SREENAN et al., 2001).

Segundo Costa e Silva et al. (2010), em novilhas mestiças, níveis plasmáticos mais elevados de P4, no momento da transferência ($35,78 \pm 19,07$ ng/ml), resultaram em maior taxa de prenhez nas receptoras gestantes do que nas não gestantes ($28,59 \pm 17,55$ ng/mL).

Com o foco na maior concentração plasmática de P4, Nogueira et al. (2004) induziram a formação de maior número de CLs, empregando gonadotrofina coriônica equina (eCG) em diferentes doses, em seu protocolo de sincronização de receptoras, porém não relataram influência na taxa de prenhez em razão do aumento da P4 sanguínea. O aumento da P4 se deve a um estímulo da função luteínica (BARUSELLI et al., 2004), e, também, pela sua secreção pelas adrenais, como observado por Willard et al., (2006).

Muito embora seja esperado que o tamanho do CL influencie a secreção de P4, são poucos os experimentos que fizeram uma avaliação crítica acerca dessa possível relação. Em trabalho recente, constatou-se a ausência de

correlação entre o tamanho do CL com a produção de progesterona e com a secreção de cortisol (CHACUR et al., 2009). Já, nos trabalhos desenvolvidos por Leal et al. (2009) e Nogueira et al. (2012), não foram relatadas diferenças significativas na concentração plasmática de P4, no momento da transferência, em receptoras prenhas comparadas com as não prenhas.

A progesterona exerce um papel fundamental na regulação da síntese e da secreção de proteínas específicas do fluido uterino e de fatores de crescimento, essenciais para o desenvolvimento inicial dos embriões (SILVA et al., 2002).

Baixas concentrações circulantes de P4 podem ocorrer, também, devido ao aumento no seu metabolismo. Assim, mudanças na ingestão de nutrientes, principalmente, no período em que os animais estão em estresse térmico pelo calor, poderiam influenciar seu metabolismo por meio de, pelo menos, três vias: mudança na massa do parênquima hepático, alteração na taxa de fluxo sanguíneo, através do fígado, e modificações na atividade da oxidase ou enzimas do P-450 hepático, que catalisam esteroides (ASHWORTH, 1995).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para a condução do experimento do qual participaram 11 propriedades rurais, distribuídas em 6 municípios do estado do Acre, foram utilizadas como receptoras de embrião 235 vacas mestiças (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*), autóctones do Acre, uni ou multíparas, com idades entre 03 e 06 anos, não lactantes, criadas em regime extensivo, com água e sal mineral *ad libitum* e com escore de condição corporal entre 3 e 4, em uma escala de 1 a 5 (FERREIRA & TORRES, 1993). O experimento foi desenvolvido em 15 meses, entre Agosto de 2011 e Novembro de 2012.

4.1. Coleta de sangue e preparação das amostras de soro e de plasma

Com o objetivo de obter material destinado ao inquérito sorológico para enfermidades do aparelho reprodutor e para dosagem hormonal de cada receptora e somente no dia da realização da transferência do embrião, foi colhida uma amostra de sangue por veno-punção da veia coccígea, sendo que, para obtenção de soro, em tubos com vácuo, sem anticoagulante e com gel separador enquanto que, para plasma, em tubos com anticoagulante (EDTA); após a coleta, foram mantidos inclinados e à temperatura ambiente por 10 minutos para, então, proceder-se à sua centrifugação a 900xG por 10 minutos, precavendo-se, cautelosamente, para mantê-los com tampa para evitar, assim, a evaporação, formação de aerossóis e para prevenção contra o risco de contaminação tanto da amostra como do técnico. O soro e o plasma obtidos foram fracionados em dois microtubos de 1,5 mL, devidamente identificados com o respectivo número dos animais e armazenados a -20°C até que pudessem ser enviados, acondicionados em caixas térmicas com gelo, aos laboratórios de destino.

4.2. Imunossorologia

Para o diagnóstico sorológico de brucelose, utilizou-se a técnica de fixação de complemento (FC), uma vez que todas as receptoras trabalhadas passaram por uma triagem prévia, que foi realizada com antígeno acidificado tamponado (AAT), tendo como valor mínimo de referência para reagentes o título $\geq 20\text{UI}$ para (FC), recomendado pelo Plano Nacional de Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNEBT) (BRASIL, 2006).

Para a leptospirose, as amostras de soro foram processadas por exames laboratoriais distintos para os quais foi considerado o agente patogênico e o método mais eficaz para o seu diagnóstico. Utilizou-se, portanto, a técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) na presença de, pelo menos, 18 sorovares de leptospiras cultivadas em laboratório, conforme preconizado por Faine et al. (1999). Considerou-se como reagente a amostra que apresentou aglutinação de, pelo menos, 50% na diluição de 1:100. As amostras reagentes foram tituladas em diluições crescentes, segundo técnica preconizada pela Fundação Nacional da Saúde (BRASIL, 1995), tendo como valor de referência reagentes $\geq 1:100$.

Em relação à pesquisa de anticorpos antivirais, as amostras foram processadas pela técnica de vírus neutralização sendo adotado como ponto de corte título igual ou superior a 10 para DVB e a 2 para IBR, ambos considerados reagentes.

Para a identificação imunossorológica da neosporose, empregou-se o teste imunoenzimático (ELISAAC) e a imunofluorescência indireta (RIFI), apenas para as receptoras que tiveram perdas embrionárias.

Os diagnósticos sorológicos foram realizados pelo Centro de P & D de Sanidade Animal, Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução e Laboratório de Virose de Bovídeos do Instituto Biológico de São Paulo.

4.3. Dosagem de hormônios

As dosagens plasmáticas de cortisol e de progesterona foram feitas por radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, utilizando-se *kits* comerciais (Coat A – Count DPC, USA).

O processamento das amostras foi realizado em dois ensaios, sendo os coeficientes de variação interensaio 6,31% e 6,50% e intraensaio 9,67% e 7,16% para progesterona e para cortisol, respectivamente. Esses procedimentos foram realizados pelo Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu, SP.

4.4. Transferência de embrião em tempo fixo

Os embriões foram obtidos pela técnica de produção *in vitro* (PIV), com oócitos obtidos por aspiração folicular de doadoras pertencentes à Estação de Melhoramento e Difusão de Genética Animal (EMDGA), em cujo laboratório todos os procedimentos foram efetuados. As doadoras e o sêmen dos touros utilizados na PIV foram da raça *Gir* leiteira.

No dia da transferência do embrião, todas as receptoras foram submetidas ao mesmo protocolo de indução/sincronização de estro, em lotes com 10 a 12 animais por vez a intervalos adequados à rotina dos procedimentos, e aquelas que estivessem aptas no dia pré-estabelecido, 16º dia após o início do protocolo (D16), receberiam um embrião transferido cada pela técnica transcervical. Foi considerada apta a receptora que apresentava a presença do CL e o mesmo veterinário foi quem realizou todas as transferências.

Com base na simplificação do protocolo P36 para TETF (BARROS et al., 2001), os protocolos desenvolveram-se como se segue: em dia aleatório do ciclo estral (D0), cada uma das receptoras recebeu 1g de P4 por um dispositivo intravaginal de liberação de P4 e 2,5 mg de Benzoato de Estradiol (BE) intramuscular (IM). No D8, retirou-se o dispositivo de P4 e administrou-se por

via IM 150µg de D-cloprostenol (PGF2α), 400 UI de eCG e 1mg de BE. No D16, cada receptora recebeu um embrião transferido (blastocisto, grau 1 ou 2) após, previamente, ser diagnosticado por US (Aloka SSD 500, Aloka, Japan) um CL em um dos ovários. No D41, fez-se o diagnóstico de gestação (DG), repetido no D71, ambos por US para confirmação da gestação ou da perda embrionária (figura 1).

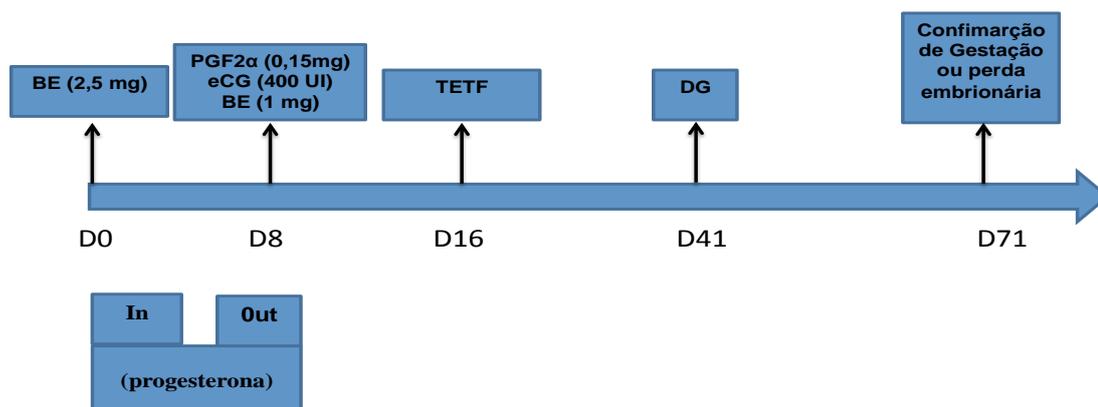


Figura 1: Protocolo de sincronização de cio, transferência de embrião em tempo fixo e diagnósticos.

4.5. Avaliação do volume do corpo lúteo

No referido D16 do protocolo, além de identificação da ipsilateralidade para efeitos de transferência, estimou-se por US, também, o VCL, com base na fórmula para cálculo de volume de uma esfera: ($V = 4/3\pi \times (D/2)^3$), em que D/2 é o valor obtido pela média entre os dois maiores eixos diametrais (SPELL et al. 2001). Considerou-se o volume calculado do CL como sendo o volume da massa luteal. Adotou-se, em relação aos tamanhos dos VCL, três classificações: pequeno ($\leq 200 \text{ mm}^3$), médio (entre 201 á 500 mm^3) e grande ($\geq 501 \text{ mm}^3$).

Convencionou-se adotar como desempenho reprodutivo as condições “respondeu ao protocolo de sincronização hormonal (Resp. P.)” e “não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal (N.resp. P.)”, e as taxas de prenhez e de perda embrionárias. Ainda, no grupo de receptoras (Resp. P.), estabeleceram-se as subdivisões entre “respondeu e não emprenhou (Resp. PNE.)” e “respondeu e emprenhou (Resp. PE.)”.

A ausência de CL ao exame no D16 qualificou a receptora na condição de “não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal (N.resp. P)”

4.6. Avaliação bioclimática

Previamente à realização da avaliação por US no D16, verificou-se a temperatura retal de cada uma das receptoras submetidas ao protocolo, utilizando-se um termômetro clínico digital (G-TECH, modelo: TH-169), e, também, no referido momento avaliou-se a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar, ambas com auxílio de equipamento digital próprio (Thermo-Higrômetro digital portátil, modelo HT-260, Instrutherm, São Paulo, Brasil).

4.7. Análise estatística

Para a avaliação de possíveis relações entre animais, com sorologia reagente para as doenças descritas e as taxas de aproveitamento de protocolo de sincronização hormonal, de prenhez e de perda embrionária, foram utilizados o teste de frequência e o teste Qui-Quadrado a um nível de significância de 5% (MAGALHÃES & LIMA, 2000) enquanto que para o estudo da correlação entre concentração plasmática de P4 e de cortisol, entre a concentração de P4 com o VCL e entre concentração plasmática de cortisol com a temperatura ambiente, umidade relativa do ar e temperatura retal,

empregou-se a correlação de *Pearson* a um nível de significância de 5%. As médias foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA), teste t de *Student*, e, nos casos necessários, o teste de *Duncan*, para um nível de significância de 5%. Utilizou-se, para análise dos dados, o sistema SAS, versão 9.1 (2009).

4.8. Aspectos éticos e origem do material em estudo

Todos os proprietários foram esclarecidos quanto aos procedimentos de estudo e autorizaram a publicação dos dados desta investigação, assinando o Termo de Consentimento Livre e Informado. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais da FMVZ – UNESP Campus de Botucatu (Processo n° 227/2011 – CEUA), estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONSEA) e Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de aproveitamento do protocolo, de Prenhez e de perda embrionária foram de 67,23% (158/235), de 34,18% (54/158) e 20,37% (11/54) respectivamente. Resultados semelhantes para aproveitamento de protocolos foram relatados por Barreiros et al. (2006) com taxas de 72,9% e por Rodrigues et al. (2010) com 65% (256/391) sem, e de 59% (232/393) com a utilização de eCG.

Os resultados para taxa de prenhez, também se mostraram próximos aos descritos por Baruselli et al. (2010), os quais alcançaram 36,60% (108/295), utilizando eCG do D8 aos relatados por Nasser et al. (2004), com 40,10% (61/150) também com eCG no D8, e ao estudo desenvolvido por Basso (2010), com nascimento de 3 mil bezerras de FIV de doadoras da raça Gir, cuja taxa aproximou-se de 40% (3.113/7.763).

Com relação às perdas embrionárias, os resultados assemelharam-se às taxas obtidas por Freitas et al. (2010), de 20,5% (432/2.109) e por Rodrigues et al. (2010), de 30,10% (28/93) sem, e de 26,90% (21/78) com a utilização do eCG no D8.

Segundo Grunert (2005) fatores maternos, sanitários e ligados ao próprio embrião, isolados ou em associação, também são apontados como responsáveis por essas perdas.

5.1. Imunodiagnóstico

Os resultados dos testes imunossorológicos para identificação de anticorpos relacionados às cinco doenças pesquisadas em receptoras de embriões estão representados na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados de pesquisa de anticorpos relacionados a cinco enfermidades de acordo com o modo de sororreação em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.

Doenças	Reagentes	Não reagentes
Brucelose	7 (2,98%)	228 (97,03%)
Leptospirose	128 (54,47%)	107 (45,53%)
IBR	103 (43,83%)	132 (56,17%)
DVB	174 (74,04%)	61 (25,96%)
Neosporose	150 (63,83%)	85 (36,17%)

Valores absolutos e em percentuais.

Observam-se altos percentuais de soroconversão para leptospirose, IBR, DVB e neosporose, contudo, para a brucelose um valor baixo de soroconversão, em razão, principalmente, dos critérios de trabalho exigidos pela EMDGA, isto é: que todas as receptoras trabalhadas devam, obrigatoriamente, passar por uma triagem prévia, o que pode explicar a baixa frequência de reagentes quando comparada às outras doenças para as quais não foi exigido o citado procedimento.

A taxa de 2,98% de soropositividade para pesquisa de anticorpos anti *B. abortus* foi, relativamente, semelhante às descritas nos trabalhos de Poletto et al. (2004), de 1,22%, e de Mendes et al. (2009), de 0,79%. Ainda que a seleção de receptoras tenha passado por uma triagem prévia, a constatação de uma taxa mais elevada, embora em pequena escala, pode ser o reflexo das peculiaridades existentes, em termos de orientação técnica e de logística, para o devido cumprimento das exigências dos planos de erradicação da doença nas pequenas propriedades do estado do Acre.

Com relação aos resultados obtidos para leptospirose, observou-se que a taxa de 54,47% de sororreação positiva, comparativamente, foi semelhante à relatada por Mesquita et al. (2010), de 49,9%, os quais, analisando 18.806

amostras de soro, durante 11 anos de trabalho, identificaram 9.385 animais soropositivos.

Tabela 2: Resultados de pesquisa de sorovares em 128 receptoras de embriões soropositivas para leptospirose. Rio Branco, 2013.

Tipo de Sorovar	128 receptoras
Hardjo	100/228 (43,8%)
Wolffi	85/228 (37,2%)
Icterohaemorrhagiae	33/228 (14,4%)
Pomona	9/228 (3,9%)
Butembo	1/228 (0,4%)

Valores absolutos e em percentuais.

Ao analisar os resultados para as diferentes sorovares, observou-se que *hardjo*, com 43,86% (100/228) e *wolffi*, com 37,28% (85/228) foram as mais prevalentes dentre todos os soropositivos.

Esses valores para a sorovar *hardjo* encontram semelhança com os resultados de 46,94%, de 39,5%, e de 44,7% relatados pela pesquisa de Mesquita et al. (2010), de Mineiro et al. (2007) e de Magajevski et al. (2007), respectivamente. Para Araújo et al., (2005), que também descrevem essa sorovar, como a de maior prevalência, esta constatação está em conformidade com a maioria dos inquéritos sorológicos realizados em bovinos.

Entretanto, com relação à positividade para a sorovar *wolffi*, os valores maiores diferenciaram-se daqueles descritos por Mesquita et al. (2010) e por Magajevski et al. (2007), que relataram 29,18% e 28,50%, respectivamente. Essa sorovar, também um achado comum em muitos autores, teve sua incidência reduzida em comparação com os resultados obtidos por pesquisas realizadas entre os anos 60 e 90 quando se observava a variação de 23 a 38,3% na incidência de sorologia positiva (BROD et al., 1995). O fato tem explicação em trabalho desenvolvido por Castro et al. (2006), que descreveram 21% (711/3.338) de reações cruzadas entre as sorovares *hardjo* e *wolffi*, as

quais, segundo Moreira, (1994) são devidas a semelhanças antigênica entre elas. Contudo, essa elevação na taxa da sorovare *wolffi* não se deu pela semelhança antigênica entre as sorovares *hardjo* e *wolffi*, e, sim, devido, possivelmente, à proximidade dos criatórios de bovinos com os animais silvestres.

Quanto às viroses IBR e BVD, constatou-se que os resultados mantiveram-se de modo semelhante aos relatados por vários autores. Assim, Barbosa et al. (2005) e Guarino et al. (2008) descreveram 51,90 e 37%, respectivamente, de animais sororreagentes para anticorpos anti IBR.

Quadro similar foi descrito para BVD por Richtzenhain et al. (1999), os quais constataram 73,52% de positividade em pesquisa sorológica, realizada com material dos Estados de RS, PR, SP, RJ, MG e MS. Outrossim, segundo relatado por Alfaia et al. (2005) e por Mendes et al. (2009), respectivamente, 64 e 71,42% das análises feitas apresentavam-se positivas para essa virose.

De modo diferente ao encontrado em outros autores, a pesquisa imunossorológica para neosporose resultou em taxa mais elevada de amostras positivas do que as relatadas por Melo et al. (2006), por Mendes et al. (2009) e por Martins et al. (2011) para os quais os casos positivos descritos atingiram valores de 27,34, de 26,98 e de 25%, respectivamente.

Tabela 3: Registro de ocorrência simultânea de sororreação para 2 ou mais enfermidades em receptoras de embrião. Rio Branco, 2013.

Doenças por receptoras	Reagentes (%)
Nenhuma	8 (3,40%)
Uma	38 (16,17%)
Duas	76 (32,34%)
Três	81 (34,47%)
Quatro	31 (13,19%)
Cinco	1 (0,43%)

Valores absolutos e em percentuais.

Quando comparados os resultados dos imunodiagnósticos para ocorrência simultânea das doenças, observou-se que ocorreu apenas um caso de uma receptora com as 5 doenças, e que houve maior índice de receptoras com duas e três doenças (Tabela 3).

Em relação à brucelose, verificou-se a sua associação com 03 ou mais diagnósticos para soropositividade simultânea. Já, para leptospirose, DVB, IBR e neosporose, à soropositividade associou-se, em maior porcentagem, a ocorrência de 3 sororreagentes, simultaneamente (Tabela 4).

Ao analisar os resultados das 11 perdas embrionárias, observou-se que 5 (5/11) receptoras apresentaram soropositividade para 03 doenças simultâneas, 4 (4/11) para 4 doenças, 1 (1/11) para 02 doenças e 1 (1/11) para 01 doença.

Tabela 4: Estratificação de resultados para ocorrência simultânea de 1 a 5 soropositivos em receptoras de embrião. Rio Branco, 2013.

Soropositividade	1	2	3	4	5	Total
Brucelose	-	-	3(1,2%)	3(1,2%)	1(0,4%)	7(2,9%)
Leptospirose	7(2,9%)	32(13,6)	59(25,1%)	28(12,3%)	1(0,4%)	128(54,4%)
DVB	12(5,1%)	59(25,1%)	69(30,2%)	31(13,1%)	1(0,4%)	172(74%)
IBR	8(3,4%)	20(8,5%)	44(18,7%)	30(12,7%)	1(0,4%)	103(43,8%)
Neosporose	11(4,6%)	41(17,4%)	66(28,0%)	31(13,1%)	1(0,4%)	150(63,8%)

Valores absolutos e em percentuais.

5.2. Imunodiagnóstico: doenças bacterianas

De acordo com a Tabela 5 e 6, o número de receptoras com “sorologia reagente” e “não reagente” para as doenças pesquisadas está distribuído em conformidade com os desempenhos reprodutivos, anteriormente propostos no estudo.

Tabela 5: Associação entre os desempenhos reprodutivos e o modo de sororreação para anticorpos anti-*Brucella abortus*, em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.

Desempenho Reprodutivo	Brucelose		Total de Animais
	Reagentes	Não Reagentes	
Protocolos	7 (2,9%)	228 (97%)	235
Resp.P.	3 (1,9%)	155 (98,1%)	158
Nresp.P.	4 (5,2%)	73 (94,8%)	77
Taxa de prenhez	3 (5,5%)	51 (94,4%)	54
Taxa de perda * embrionária	2 (18,1%)	9 (81,8%)	11

Resp.P: Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; **Nresp.P:** Não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; * $p < 0,05$.

Dentre as 11 receptoras que tiveram perdas embrionárias, 2 (2/11) apresentaram títulos positivos para brucelose, apresentando titulação de 640UI para cada uma das receptoras. Assim, foram verificadas elevadas titulações para os animais que tiveram perdas embrionárias. Observou-se que a taxa de perda embrionária apresentou frequências diferentes, logo dependentes da soropositividade da receptora frente à presença da *Brucella abortus* ($p < 0,05$) (tabela 5).

Tabela 6: Associação entre os desempenhos reprodutivos e o modo de sororreação para anticorpos anti-*Leptospira sp.*, em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.

Desempenho Reprodutivo	Leptospirose		Total de Animais
	Reagentes	Não Reagentes	
Protocolos	128 (54,4%)	107 (45,5%)	235
Resp.P.*	72 (45,5%)	86 (54,4%)	158
Nresp.P.	56 (72,7%)	21 (27,2%)	77
Taxa de prenhez	27 (50%)	27 (50%)	54
Taxa de perda embrionária	3 (27,2%)	8 (72,7%)	11

Resp.P: Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; **Nresp.P:** Não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; * $p < 0,05$.

Já para leptospirose, 3 (3/11) encontram-se com títulos positivos para os seguintes sorovares (acompanhados do valor da titulação): *L. icterohaemorrhagiae* (200), *L. wolffi* (200) e *L. hardjo* (400), um animal; *L. wolffi* (400) e *L. hardjo* (400), um animal; *L. wolffi* (1600) e *L. hardjo* (1600), um animal. Portanto, foram verificadas elevadas titulações para os animais que tiveram perdas embrionárias.

Ao teste estatístico, observou-se que a taxa de aproveitamento de protocolos de sincronização hormonal apresentou variáveis dependentes, sendo, por este turno, a resposta ao protocolo hormonal, que, por sua vez, dependeu se a receptora era ou não reagente para a presença de sorovares para leptospirose ($p < 0,05$) (Tabela 6).

5.3. Imunodiagnóstico: doenças virais

Constatou-se um alto número de receptoras reagentes, com elevado título no teste qualitativo para DVB e IBR (Figura 2 e 3).

Figura 2: Titulação das amostras receptoras, reagentes no teste qualitativo pela vírus neutralização para DVB. Rio Branco, 2013, (Reagente \geq 10).

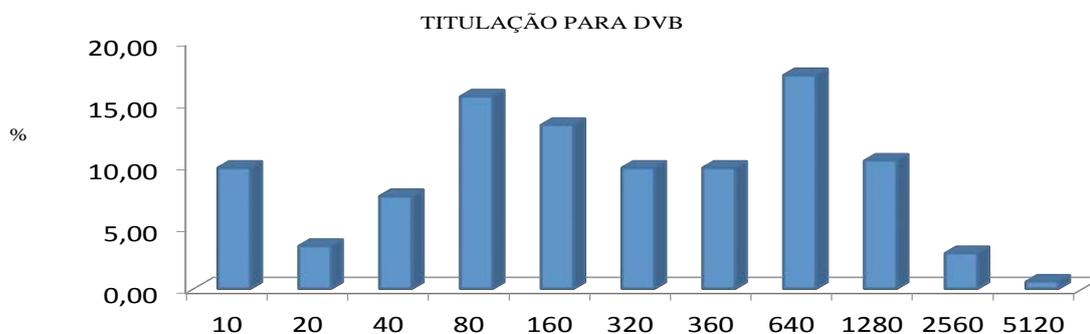


Tabela 7: Associação entre os desempenhos reprodutivos e o modo de sororreação para anticorpos anti-DVB em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.

Desempenho Reprodutivo	DVB		Total de Animais
	Reagentes	Não Reagentes	
Protocolos	174 (74%)	61 (25,9%)	235
Resp.P.	116 (73,4%)	42 (26,5%)	158
Nresp.P.	58 (75,3%)	19 (24,6%)	77
Taxa de prenhez	42 (77,7%)	12 (22,2)%	54
Taxa de perda embrionária	9 (81,8%)	2 (18,1%)	11

Resp.P: Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; *Nresp.P:* Não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; * $p < 0,05$.

Evidenciaram-se altas concentrações de anticorpos nessas receptoras, 138 (138/174), que apresentavam título entre (80-5120), no caso da DVB (Figura 2). No entanto, não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$) para nenhum dos parâmetros reprodutivos em relação sororreação para anticorpos anti-DVB (Tabela 7). Em relação às perdas embrionárias a DVB, constatou-se 9 receptoras (81,82%) reagentes, com titulação no teste qualitativo pela virusneutralização, na seguinte proporção: 2560 (11,11%), 1280 (22,22%), 320 (11,11%), 80 (22,22%), 40 (11,11%) e 10 (22,22%).

Figura 3: Titulação das amostras receptoras, reagentes no teste qualitativo pela virusneutralização para IBR. Rio Branco, 2013, (Reagente ≥ 2).

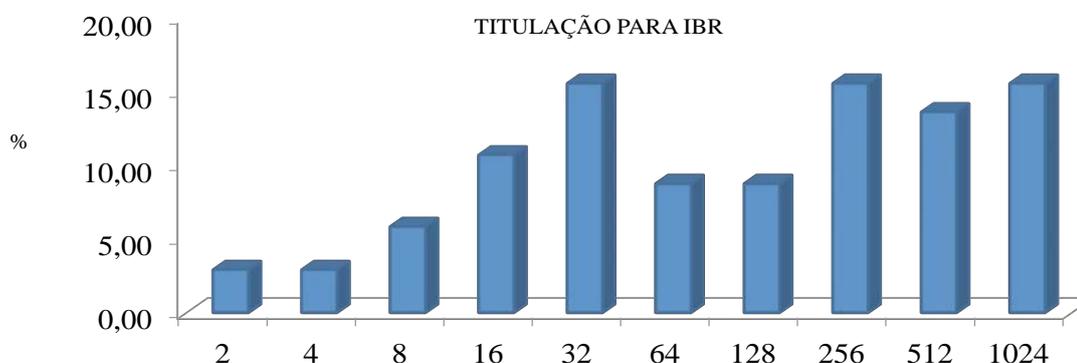


Tabela 8: Associação entre os desempenhos reprodutivos e o modo de sororreação para anticorpos anti-IBR em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.

Desempenho Reprodutivo	IBR		Total de Animais
	Reagentes	Não Reagentes	
Protocolos	103 (43,8%)	132 (56,1%)	235
Resp.P.	70 (44,3%)	88 (55,7%)	158
Nresp.P.	33 (42,8%)	44 (57,1%)	77
Taxa de prenhez	20 (37%)	34 (62,9%)	54
Taxa de perda * embrionária	8 (72,7%)	3 (27,2%)	11

Resp.P: Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; **Nresp.P:** Não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; * $p < 0,05$.

Já para IBR, evidenciaram-se altas concentrações de anticorpos nessas receptoras, 91 (91/103), que apresentavam título entre (16-1024), no caso da IBR (Figura 3). Ao realizar o teste estatístico para taxa de perda embrionária, observou-se que as variáveis eram dependentes. Desse modo, as perdas que ocorreram dependeram da soropositividade das receptoras para a presença de, pelo menos, uma das espécies de vírus ($p < 0,05$), de acordo com a Tabela 8. Ainda para a IBR, observou-se 8 receptoras, que tiveram perdas embrionárias (72,73%), cujos títulos no teste qualitativo pela virusneutralização, apenas frente ao BoHV-1, foram 1024 (25%), 512 (25%), 256 (37,5%) e 128 (12,5%).

Foram evidenciadas nessas receptoras altas concentrações de anticorpos, para DVB e para IBR, significando alta carga viral, supostamente responsável pelas perdas embrionárias no caso da IBR (Tabela 8).

5.4. Imunodiagnóstico: doença parasitária

As 5 receptoras, que tiveram perdas embrionárias (5/11), foram reagentes para neosporose nos testes de ELISA e de imunofluorescência indireta, com títulos acima de 400, e, dentre as quais, uma apresentou título de 3200, sendo considerado alto e sugestivo de infecção ativa. Os altos títulos de anticorpos podem estar associados a uma reativação de infecção latente, fato que pode ter ocorrido na vaca, com título de anticorpos igual a 3200. Ao teste estatístico, observou-se que a taxa de aproveitamento de protocolos de sincronização hormonal apresentou variáveis dependentes, sendo, portanto, a resposta ao protocolo hormonal, que dependeu da soropositividade da receptora para a presença do anticorpo anti-*N. caninum* ($p < 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9: Associação entre os desempenhos reprodutivos e o modo de sororreação para anticorpos anti-*Neospora sp.*, em 235 receptoras de embriões. Rio Branco, 2013.

Desempenho Reprodutivo	Neosporose		Total de Animais
	Reagentes	Não Reagentes	
Protocolos	150 (63,82%)	85 (36,17%)	235
Resp.P.*	93 (58,86%)	65 (41,14%)	158
Nresp.P.	57 (74,03%)	20 (25,97%)	77
Taxa de prenhez	32 (59,26%)	22 (40,74%)	54
Taxa de perda embrionária	5 (45,45%)	6 (54,55%)	11

Resp.P: Respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; **Nresp.P:** Não respondeu ao protocolo de sincronização hormonal; * $p < 0,05$.

5.5. Cortisol e P4 e desempenho reprodutivos

Figura 4: Teste de médias entre as concentrações plasmáticas de cortisol e de P4 nos desempenhos reprodutivos.

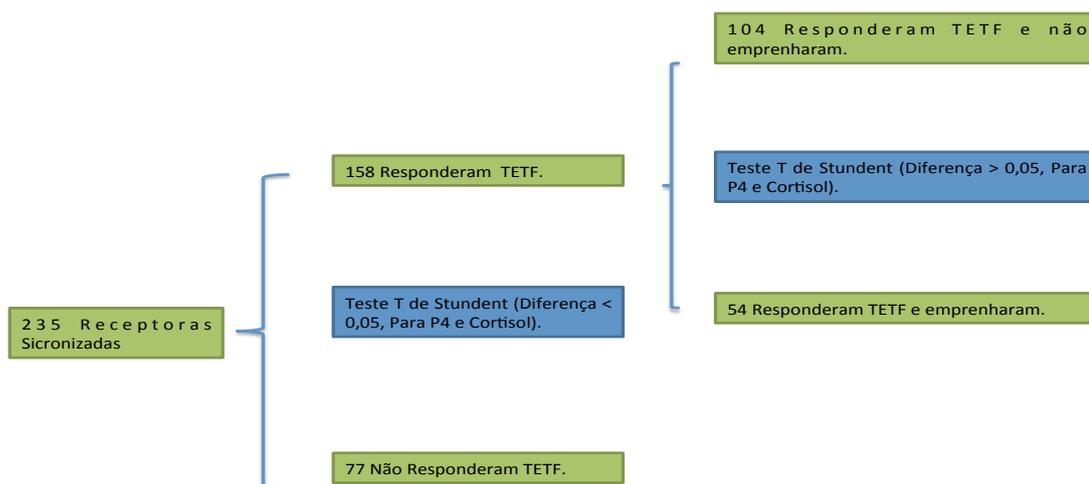


Tabela 10 - Correlação entre as concentrações plasmáticas de cortisol e P4 (media \pm desvio padrão), nos desempenhos reprodutivos. Rio Branco 2013.

Hormônios	Protocolos	Resp.P.	Resp.PNE.	Resp.PE.	Nresp.P.
Cortisol (ng/mL)	(16,95 \pm 7,05)	(17,59 \pm 6,90) ^(a)	(17,78 \pm 5,54) ^(a)	(17,24 \pm 7,59) ^(a)	(15,63 \pm 7,23) ^(b)
P4 (ng/mL)	(10,88 \pm 7,65)	(13,95 \pm 6,90) ^(a)	(14.15 \pm 7,16) ^(a)	(13,58 \pm 6,41) ^(a)	(4,58 \pm 4,67) ^(b)
Correlação de Pearson entre P4 e Cortisol	(r= 0,35; p<0,05)	(r= 0,37; p<0,05)	(r= 0,39; p<0,05)	(r= 0,33; p<0,05)	P>0,05

Resp.P: Respondeu ao protocolo de TETF; **Resp.PNE:** Respondeu ao protocolo de TETF e não engravidou; **Resp.PE:** Respondeu ao protocolo de TETF e engravidou; **Nresp.P:** Não respondeu ao protocolo de TETF. Letras diversas na mesma linha indicam diferenças significativa pelo teste t de student em nível de 5% de significância.

A concentração plasmática de cortisol, acima de 10ng/mL para raças zebuínas, foi semelhante aos relatos de Yoshida et al. (2005). Entretanto, a P4 no grupo "Resp.P." apresentou valor de concentração inferior ao descrito por

Costa e Silva et al. (2010), que encontraram valores de 35,78ng/mL e de 28,59ng/m para o grupo prenhas e não prenhas. Nesse mesmo grupo, as respectivas concentrações plasmáticas de cortisol e de P4 não diferiram estatisticamente ($p>0,05$) entre as receptoras, que resultaram prenhas e/ou não prenhas, mas apresentaram correlação positiva ($p<0,05$) entre elas, dados que estavam de acordo com as descrições de Bage et al. (2000), Yoshida et al. (2005) e Buckham Sporer et al. (2008).

Como era esperado para o grupo "N.Resp.P.", obviamente, em razão da inexistência de CL, a concentração plasmática de P4 diferiu estatisticamente ($p<0,05$) da do grupo "Resp.P.", ocorrendo, de forma similar, em relação ao comportamento do cortisol, que manteve a diferença entre as suas médias ($p<0,05$). Em contrapartida, a concentração plasmática de cortisol não foi estatisticamente diferente ($p>0,05$) entre as receptoras prenhas e as não prenhas e, desse modo, essas concentrações plasmáticas de cortisol, observadas presumivelmente, não interferiram com a capacidade de resposta das receptoras aos protocolos.

5.6. Volume do CL e concentração plasmática de P4

Nas 158 receptoras, que responderam ao protocolo de sincronização hormonal, observou-se a ocorrência de 60% de ovulações no ovário direito, fato que esteve em concordância com as descrições de Jainudeen & Hafez (2004), Hasler et al. (1987), Demczuk et al. (1998), Viana et al. (1999) e Spell et al. (2001).

Em relação ao VCL e a concentração de P4, não se constatou diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre os seus valores médios. Para todas as situações analisadas, observou-se apenas correlação entre o volume do CL e a produção de P4 ($p<0,05$) no grupo "pequeno". Verificou-se, então, ausência de correlação nos dois outros grupos "médio e grande" ($p>0,05$).

A correlação entre o VCL e a P4 existiu somente até um determinado tamanho. Isto é: à medida que aumentou o VCL, as concentrações de P4 não acompanharam esse aumento.

Alguns autores têm encontrado correlação positiva entre a área do corpo lúteo e sua capacidade de produzir P4. Neste trabalho verificou-se correlação positiva entre o volume do corpo lúteo e a concentração plasmática de P4, no valor de ($r=0,36$; $P<0,05$), apenas no grupo “pequeno”, como também verificado por Siqueira et al. (2009).

Em trabalho desenvolvido por Chacur et al (2009), foi observado ausência de correlação entre o tamanho do CL, com a produção de P4, semelhante ao encontrado nos grupos “médio” e “grande” ($p>0,05$).

Tabela 11 - Teste de médias e de correlação entre o tamanho do VCL e a concentrações plasmáticas de P4 em receptoras de embriões. Rio Branco 2013

VCL	Pequeno	Médio	Grande
Frequência	38	90	30
Média de VCL	125,13mm ³	318,38mm ³	733,30mm ³
P4	11,83ng/mL ^(a)	14,69ng/mL ^(a)	14,41ng/mL ^(a)
Correlação de Pearson entre VCL e P4	($r= 0,36$; $p<0,05$)	$P>0,05$	$P>0,05$

Pequeno: pequeno ≤ 200 mm³; Médio: entre 201 à 500 mm³; Grande: ≥ 501 mm³; VCL: Volume do corpo lúteo. Letras diversas na mesma linha indicam diferenças significativa pelo teste de Ducas em nível de 5% de significância.

5.7. Cortisol e temperatura ambiente, umidade relativa e temperatura retal.

Os resultados em relação à temperatura ambiente, umidade relativa do ar e retal, registrada durante os 15 meses da pesquisa, foram, em médias 30,07°C, 69,23 e 39,38°C, respectivamente. O valor da média da temperatura

retal registrado foi atestado como mais elevado do que o máximo de 39,1°C, citado por Dukes (1996).

Tabela 12 - Correlação entre as concentrações plasmáticas de cortisol e os fatores bioclimáticos em receptoras de embriões. Rio Branco 2013.

Desempenho Reprodutivo	Cortisol (ng/mL)	TEMPA.	Umidade	TEMPR.
Protocolos	16,9	(r= -0,26; p<0,05)	P>0,05	(r= 0,40; p<0,05)
Resp.P.	17,59 ^(a)	(r= -0,20; p<0,05)	P>0,05	(r= 0,51; p<0,05) ^(a)
Resp.PNE.	17,78	(r= -0,20; p<0,05)	P>0,05	(r= 0,54; p<0,05)
Resp.PE.	17,24	P>0,05	P>0,05	(r= 0,47; p<0,05)
Nresp.P.	15,63 ^(b)	(r= -0,34; p<0,05)	P>0,05	P>0,05 ^(a)

Resp.P: Respondeu ao protocolo de TETF; **Resp.PNE:** Respondeu ao protocolo de TETF e não emprenhou; **Resp.PE:** Respondeu ao protocolo de TETF e emprenhou; **Nresp.P:** Não respondeu ao protocolo de TETF; **TEMPA:** Temperatura ambiente; **TEMPR:** Temperatura retal. Letras diversas na mesma coluna indicam diferenças significativa pelo teste t de student em nível de 5% de significância.

Para os grupos "protocolo", "Resp.P.", "Res.PNE." e "Nresp.P." identificaram correlação negativa entre a concentração de cortisol e a temperatura ambiente (p<0,05). Entretanto, nos pequenos ruminantes e em região tropical, Starling et al. (2005) descreveram uma correlação positiva entre cortisol e temperatura ambiente.

A umidade do ar foi a variável que não se correlacionou com a concentração de cortisol para nenhum dos grupos de desempenho reprodutivo analisado (p>0,05).

A correlação observada entre a concentração plasmática de cortisol e a temperatura retal teve apoio nos relatos de Pocay et al. (2001) e Katayama et al. (2004). Portanto, a resposta dos grupos "protocolo", "Resp.P.", "Res.PNE." e "Resp.PE.", foi influenciada por essa variável (p<0,05). Esses resultados diferiram daqueles relatados por Filho et al. (2008), segundo os quais não houve efeito interativo entre a temperatura retal e a concentração plasmática de cortisol em vacas doadoras de embriões.

Em relação às receptoras "Resp.PE.", não se registrou correlação entre a concentração de cortisol e a temperatura ambiente, e, tampouco para cortisol e umidade relativa do ar.

Ao analisar a TEMPR, verificou-se que não existiu diferença significativa entre o Resp.P. e o Nresp.P.; e em relação à concentração de cortisol, a diferença foi significativa ($p < 0,05$). Resultados semelhantes foram descritos por Costa e Silva et al. (2010) e Katayama et al. (2004), para os quais a média da temperatura retal entre o grupo prenhe e não prenhe não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$).

6. CONCLUSÕES

- O protocolo mostrou-se eficiente para o processo de sincronização hormonal, para taxa prenhez e na promoção da taxa reduzida de perda embrionária compatível com os parâmetros de eficiência reprodutiva de outros protocolos, desenvolvidos em outros Estados da Federação.

- Altas taxas de soropositividade para leptospirose, DVB, IBR e neosporose confirmam a disseminação dessas enfermidades, também nos rebanhos do estado do Acre.

- Nas receptoras sororreagentes, observou-se a influência da leptospirose e da neosporose, na taxa de aproveitamento de protocolo e da brucelose e IBR na taxa de perdas embrionárias.

- Constatou-se correlação entre cortisol e P4 para os animais que responderam ao protocolo, a qual se manteve nos grupos Resp.PNE. e Resp.PE.

- A concentração plasmática de P4 mostrou-se dependente do VCL apenas no grupo “pequeno”. À medida que o tamanho do VCL aumentou, perdeu-se a correlação com as concentrações de P4 nos grupos “médio” e “grande”.

- Dentre as variáveis bioclimáticas, a temperatura retal foi a que mais se correlacionou com o cortisol.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Leptospirosis**. In: ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales*. 3. ed., V.I, Washington Organización Panamericana de La Salud, 2006., p. 157-168.

ADLER, Ben.; DE LA PENÑA MOCTEZUMA.; ALEJANDRO, **Leptospira and leptospirosis**. Vet. Microbiol. (2009). doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.012. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/vetmic>>. Acesso em: 15 mai 2009.

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; RODRIGUES, A.A.R.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; GENNARI, S.M. **Prevalence of anti- *Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from western amazon, Brazil, in association with some possible risk factors**. Vet. Parasitol. V. 142, p. 71-77, 2006.

ALFAIA, B.T.; BARBOSA, A.C.V.C.; BRITO, W.M.E.D. **Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no estado de Goiás, Brasil**. Ciência Rural V.35, V.6, p.1368-1373, 2005.

ANDERSON, M.L.; ANDRIANARIVO, A.G.; CONRAD, P.A. **Neosporosis in cattle**. Anim. Reprod. Scien. V.60, n.61, p.417-431, 2000.

ANDREWES, S.C.; PEREIRA, H.G.; WILDY, P. **Viruses of vertebrates**. Fourth edition, London, Ballière Tindal. 1978. Cap. 15, p. 312-330.

ANDREWS, A.H; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G. **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. 2. ed., Oxford, Blackwell Science, 2004. 1232p.

ARAÚJO, V.E.M.; MOREIRA, E.C.; NAVEDA, L.A.B.; SILVA, J.A.; CONTREVAS, R.L. **Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, V. 57, n. 4, p. 430-435, 2005.

ARDUINO, G.G.C.; GIRIO, R.J.S.; FREIRE, M.M.; MARCHIORI FILHO, M. **Anticorpos contra *Leptospira spp* em bovinos leiteiros vacinados com bactéria polivalente comercial.** Perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. Ciên. Rur. V.34, n.3, p.865-871, 2004.

ASHWORTH, C.J. **Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival of embryos.** Liv Prod Sci, V.44, p.99-105, 1995.

ASSOCIAÇÃO DOS CRIADORES DE NELORE DO BRASIL (ACNB), 2011, Disponível em: <www.nelore.org.br> Acesso em: 30 outubro de 2012.

AZEVEDO, M.; PIRES, M.F.A.; SATURNINO, H.M.; LANA, A.M.Q.; SAMPAIO, I.B.M.; MONTEIRO, J.B.N.; MORATO, L.E. **Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês-Zebu em lactação.** Revista Brasileira de Zootecnia, V.34, n.6, 2005.

BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F.; **Ambiência em edificações rurais – conforto animal.** Ed. UFV, p.246, Viçosa, 1997.

BAGE, R.; FORSBERG, M.; GUSTAFSSON, H.; LARSSON, B. **Effects of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder heifers.** Anim Reprod Sci. 2000; 63:65-76.

BARBOSA, A.C.V.C.; BRITO, W.M.E.D.; ALFAIA, B.T. **Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no estado de Goiás, Brasil.** Ciência Rural V.35, V.6, p.1368-1373, 2005.

BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; PALMER, C.W.; THURMOND, M.C.; PICANSO, J.P.; BLANCHARD, P.C.; BREITMEYER, R.E.; LAYTON, A.W.; McALLISTER, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; READ, D.H.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A. **Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California.** Journal of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg, v.207, p.1206-1210, 1995.

BARREIROS, T.R.R.; BLASCHI, W.; BORSATO, E.A.; LUDWIG, H.Ê.; SILVA, D.R.M.; SENEDA, M.M. **Comparação das taxas de prenhez entre receptoras com corpos lúteos cavitários ou compactos após protocolo de sincronização com cloprostenol ou transferência de embriões em tempo fixo.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, n. 4, p. 657-664, out./dez. 2006.

BARROS, C.M.; NOGUEIRA, M.F.G. **Embryo transfer in *Bos indicus* cattle.** Theriogenology 2001; 56: 1483-96.

BARROS, C.M.; PEGORER, M.F.; VASCONCELOS, J.L.; EBERHARDT, B.G.; MONTEIRO, F.M. **Importance of sperm genotype (*indicus* versus *taurus*) for fertility and embryonic development at elevated temperatures.** Theriogenology 2006; 65: 2010-2018.

BARUSELLI, P.S.; FERREIRA, R.M.; SÁ FILHO, M.F.; NASSER, L.F.T.; RODRIGUES, C.A.; BÓ G.A. **Bovine embryo transfer recipient synchronization and management in tropical environments.** Reprod Fertil Develop 2010; 22: 67-74.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. **The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climate.** Animal Reproduction Science, V. 82-83, s/n, p. 479-486, 2004.

BASSO, A.C.; SCHNEIDER, C.L.; PONTES, J.H. **Novas alternativas para a aplicação em larga escala de embriões produzidos in vitro**. Biotecnologia da reprodução em bovinos (4o simpósio internacional de reprodução animal aplicada). 4. ed. V. 1, Londrina/PR. 4. ed. V. 1. p.205-209.2010.

BEER, J. **Doenças Infecciosas em animais domésticos**. 1. ed. V. 2. Roca. São Paulo, SP. p.163-178. 1988.

BENATTI, L.A.T. **Avaliação do cortisol, perfil hematológico e proteico na resposta dos bovinos ao estresse**. Pós-graduação em ciência Animal: Seminário de pesquisa aplicados. Goiânia, GO.,p. 01-33. 2010.

BJÖRKMAN, C.; ALENIUS, S.; EMANUELSSON, U.; UGGLA, A. ***Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion**. Veterinary Journal, V.159, p.201-206, 2000.

BRASIL 2006. **Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose PNCEBT**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília. 130p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)**/ organizadores, Vera Cecília Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de controle de zoonoses e animais peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. 2. ed. Brasília, DF, 1995. 98 p.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da saúde. Serie A normas e manuais técnicos. 816p. 2005.

BREEN, K.M.; BILLINGS, H.J.; WAGENMAKER, E.R.; WESSINGER, E.W.; KARSCH, F. J. **Endocrine basis for disruptive effect of cortisol on preovulatory events.** *Endocrinology*, V. 146, n. 4, p. 2107-2115, 2005.

BROD, C.S.; MARTINS, L.F.S.; NUSSBAUM, J.R.; FEHLBERG, M.F.B.; FURTADO, L.R.I.; ROSADO R.L.I. 1995. **Leptospirose bovina na região sul do estado do Rio Grande do Sul.** *A Hora Veterinária* 14: 15-20.

BROWNLIE, J. **Bovine virus diarrhoea virus.** In: *BVDV SYMPOSIUM*, 2005, Wellington. Anais: p. 1-19.

BUCKHAM SPORER, K.R.; WEBER, P.S.D.; BURTON J.L.; EARLEY, B.; CROWE, M.A. **Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress.** *J Anim Sci.* 2008; 86: 1325-34.

CALDERON, S.J.J.; CORREA, S.V.M.; CORREA, S.J.C.; ISLAS, A.A. **Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico.** *Preventive Veterinary Medicine*, V.57, p. 199-208, 2003.

CAMPOS, A.T.; PIRES, M.F.A.; CAMPOS, A.T. **Efeito do estresse calórico sobre a produção de leite de vacas holandesas na região de Coronel Pacheco-MG.** In: *Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia*, 39., 2002, Recife-PE. Anais: Caucaia-CE: CD+, 2002. CD-ROM. Bioclimatologia e Etologia.

CAMPOS, C. K.; PIACENTI, C. A. **Agronegócio do leite: Cenário atual e perspectivas.** XLV Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Universidade Estadual de Londrina, Londrina/PR, 2007.

CASCIO, K.E.; BELKNAP, E.B.; SCHULTHESIS, P.C.; AMES, A.D.; COLLINS, J.K. **Encephalitis induced by bovine herpesvirus 5 and protection prior vaccination on infection with bovine herpesvirus 1.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, V. 11, p. 134-139. 1999.

CASTRO, V. **Estudo da prevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil.** 2006. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CERQUEIRA, R.B.; CARMINATI, R.; SILVA, J.M.; SOARES, G.C.; MEYER, R.; SARDI, S. **Serological survey for bovine herpesvirus 1 in cattle from different regions in the state of Bahia, Brazil.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, V. 37, n.6, p.1-8, 2000.

CHACUR, M.G.M.; VALENTIM, N.C.; OBA, E.; KRONKA, S.N. **Avaliação do corpo lúteo, contralidade uterina e concentrações plasmáticas de P4 e E2 em receptoras de embriões bovinos.** Ciência Animal Brasileira, V. 10, n. 3, p. 870-878, jul/set. 2009.

CHROUSOS, G.P.; TORPY, D.J.; GOLD, P.W. **Interactions between the hypothalamic-pituitary- adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications.** Ann Intern Med. 1998;129:229-40.

COSTA E SILVA, E.V.; KATAYAMA, P.M.; ABREU, U.G.P.; RUEDA, P.M.; ABREU, U.G.P.; ZÚCCARI, C.E.S.N. **Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embriões.** Ci. Anim. Bras., Goiânia, V. 11, n. 2, p. 280-291, abr./jun. 2010.

DEL FAVA, C.; ARCARO, J.R.P.; POZZI, C.R. **Manejo sanitário para o controle de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção semi-intensivo.** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, V.70, n.1, p.25-33, 2003.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E.M.; GENOVEZ, M.E. **Diagnóstico diferencial de doenças da reprodução em bovinos: experiência do Instituto Biológico.** *Biológico*. V.69, n.2, p. 73-79, 2007.

DEMCZUK, E.; KOZICKI, L.E.; PONTELLI, E.S.; SALLES, J.O. **Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul.** *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, V. 35, n. 4, p. 174-177, 1998.

DEREGT, D. **Introduction and history.** In: GOYAL, S.M.; RIDPATH, J.F. *Bovine viral diarrhoea virus*, cap. 1, p. 3-33. Iowa: Blackwell Publishing, 2005.

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I. **Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados.** *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, V.40, p.161-168, 2003.

DITTRICH, R.L. **Diagnóstico sorológico, isolamento, cultivo e caracterização molecular de *Neospora caninum* em bovinos leiteiros e eqüinos no estado do Paraná, Brasil.** 2002. 184p. Tese de Doutorado, Setor de Tecnologia - Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

DOBSON, H.; TEBBLE, J.E.; SMITH, R.F. **Is stress really all that important?** *Theriogenology*, V.55, p.65-73, 2001.

DUBEY, J.P. **Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals.** *Kor. J. Parasitol.* V.41, n.1, p.1-16, 2003.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos.** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

FAINE, S. ***Leptospira* and leptospirosis.** 2. ed. Melbourne : MedSci, 1999. 272p.

FARIA, P.C.; BERGQVIST, R.R.; PEREIRA, R.C.; GENOVEZ, M.E.; CASTRO, V.; JESUS, V.L. **Prevalência de leptospirose bovina e sua correlação com distúrbios reprodutivos apresentados no município de Itamonte - MG.** In: *Congresso Brasileiro de Veterinária, COMBRAVET.* Gramado, 2008.

FENNER, F.J.; GIBBS, E.P.J.; MURPHY, F.A.; ROTT, R.; STUDERT, M.J.; WHITE, D.O. **Vet. Virol.** 2. ed. San Diego: Academic Press, 666p. 1993.

FERRAZ, J.B.S.; FELÍCIO, D. P. **Production systems – An example from Brazil.** *Meat Science*, V.84, p.238-243, 2010.

FERREIRA, A.M.; TORRES, C.A.A. **Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, V.28, p.411- 418, 1993.

FERRO, F.R.A.; CAVALCANTI NETO, C.C.; TOLEDO FILHO, M.R.; FERRI, S.T.S.; MONTALDO, Y.C. **Efeito do estresse calórico no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras.** *Revista Verde, Mossoró*, V.5, n.5, p.01-25, 2010.

FILHO, M.F.; TORRES-JÚNIOR, J.R.; PIRES, M.F.A.; SÁ, W.F.; FERREIRA, A.M.; VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; RAMOS, A.A.; FOLHADELLA, I.M.; POLISSENI, J.; FREITAS, C.; CLEMENTE, C.A.A.; PAULA-LOPES, F.F.; BARUSELLI, P.S. **Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in Bos indicus cattle.** *Theriogenology.*, V.69, p.155-66, 2008.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; GIL, L.H.V.G.; TOBIAS, F.L.; LIMA, M.; GARCEZ, D.C.; BOTTON, S.A. **Diversidade antigênica de amostras do vírus da diarreia viral bovina isoladas no Brasil: implicações para o diagnóstico e estratégias de imunização.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, V.52, n.1, p. 11-17, 2000.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária.** Editora Ícone, 4. ed., p. 127-131, 2004.

FREITAS, B.G.; RODRIGUES, C.A.; TEIXEIRA, A.A.; FERREIRA, R.M.; RANIERI, A.L.; AYRES, H.; SALES, J.N.S.; BARUSELLI, P.S. **Perda gestacional (entre 30 e 60 dias) à inseminação artificial e à transferência de embriões em vacas holandesas de alta produção.** In: *XXIV Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões*, Porto de Galinhas, PE. 2010.

FUCK, E.J.; MORAES, G.V. **Reprodução dos Animais Domésticos: o que todo mundo deveria saber.** Maringá, PR, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, V. 20, n. 1, p. 21-38, 2005.

GARD, J.A.; GIVENS, M.D.; STRINGFELLOW, D.A. **Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): epidemiologic concerns relative to semen and embryos.** *Theriogenology*, Stoneham, V. 68, n. 3, p. 434-442, 2007.

GENOVEZ, M.E. **Diagnóstico laboratorial de la leptospirosis animal.** In: *CACHIONE, R.A.; DURLACH, R.; LARGUI, O.P; MARTINO, P. Temas de Zoonosis III.* Buenos Aires: Ed. Asociación Argentina de Zoonosis, 2006. p. 170-182.

GIVENS, M.D.; WALDROP, J.G. **Bovine viral diarrhoea virus in embryo and semen production systems.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, V. 20, n. 1, p. 21-38, 2004.

GOMES, L.I.; ROCHA, M.A.; COSTA, E.A.; LOBATO, Z.I.P.; MENDES, L.C.N.; BORGES, A.S.; LEITE, R.C.; BARBOSA-STANCIOLI, E.F. **Detecção de herpesvírus bovino 5 (BoHV-5) em bovinos do Sudeste Brasileiro.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, V.54, n.2, p.1-5, 2002.

GONDIM, L.F.P.; MCALLISTER, M.M; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. **Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*.** *Int. J. Paras.* vV34, p. 159-161, 2004.

GORVEL, J.P.; MORENO, E. **Brucella intracellular life: from invasion to intracellular replication.** In: PAIXÃO, T. A. *Estudo do Desenvolvimento de Polimorfismos do NRAMP1 na Resistência à Brucelose Bovina.* Dissertação de Mestrado. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2006.

GROOMS, D.L. **Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, V. 20, n. 1, p. 5-19, 2004.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G.; JUNIOR, H.B. **Patologia e clínica da reprodução dos animais domésticos – ginecologia.** 1. ed. São Paulo: Varela, 2005, p. 468-470.

GUARINO, H.; NÚÑEZ, A.; REPISO, M.V.; GIL, A.; DARGATZ, D.A. **Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhea virus in beef cattle in Uruguay.** *Preventive Veterinary Medicine*, V.85. p.34–40, 2008.

GUSTAFSON, D.P. **Herpesvirus disease of mammals and birds: comparative aspects and diagnosis.** In: *Comparative Diagnosis of Viral Disease*, Eds. Kurstak, E.; Kurstak, C. New York, Academic Press. 1981.

HANSEN, P.J.; DROST, M.; RIVERA, R.M.; PAULA-LOPES, F.F.; AL-KATANANI, Y.M.; KRININGER, III C.E.; CHASE, JR. C.C. **Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation.** *Theriogenology*, V.55, p. 91-103, 2004.

HASLER, J.F.; MCCAULEY, A.D.; LATHROP, W.F.; FOOTE, R.H. **Effect of donor embryo recipient interactions and pregnancy rate in a large scale bovine embryo transfer program.** *Theriogenology*, V. 27, n. 1, p. 139-168, 1987.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; De MEERSCHMAN, F.; ELLIS, J.T.; INNES, E.A.; McALLISTER, M.M.; ORTEGA-MORA, L.M.; TENTER, A.J.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; WILLIAMS, D.J.L.; WOUDA, W.A. **European perspective on *Neospora caninum*.** *Int. J. Parasitol.* V.30, p.1669- 1776, 2000.

ICTV. International Committee on taxonomy of viruses. ICTVdB – Index of viruses. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>>. Acesso em: 30 ago. 2007.

JAINDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. **Ciclos Reprodutivos: bovinos e bubalinos.** In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E.: *Reprodução Animal*. Editora Manole, 2004. Cap. 11.p. 159-171.

JESUS, V.L.T. **Fatores de risco das doenças infecciosas.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, V.25, n.2, p.93-96, 2003.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; ING, N.W. **Patologia veterinária.** 6. ed. Manole. Barueri, SP. p.454-457. 2000.

JUNQUEIRA, J.R.C.; FREITAS, J.C.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A; **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, V.27, n.3, p.471-480, jul./set.2006.

KATAYAMA, K.A.; MACEDO, G.G.; TZEIMAZIDES, S.P.; RUEDA, P.M.; REZENDE, C.R.L.; ZÚCCARI, C.E.S.N.; COSTA e SILVA, E.V. **Manejo de receptoras bovinas em programas de transferência de embriões e taxas de gestação: resultados preliminares.** In: *REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, 41. 2004, Campo Grande-MS. Anais... Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2004. CD-ROM. *Ambiência, Bioclimatologia e Etologia*. AMB048. Disponível em <www.sbz.Org.br/cds/SB22004.rar>.

KATHOLM, J.; HOUE, H. **Possible spread of bovine viral diarrhoea virus by contaminated medicine.** The Veterinary Record, London, V. 158, n. 23, p. 798-799, 2006.

KELLING, C.L. **Evolution of bovine viral diarrhea virus vaccines.** Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Philadelphia, V. 20, n. 1, p. 115-129, 2004.

KERBLER, T.L.; BUHR, M.M.; JORDAN, L.T.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S. **Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the concept us in cattle.** Theriogenology, V.47, p.703- 714, 1997.

KOMESAROFFET, P.A.; ESLER, M.; CLARKE, I.J.; FULLERTON, M.J.; FUNDER, J.W. **Effects of estrogen and estrous cycle on glucocorticoid and catecholamine responses to stress in sheep.** Am.J. Physiol, V.275, p671-678, 1998.

KREUTZ, L.C.; GONZALES, J.C.; BARCELLOS, L.J.G. **Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS.** Ciência Rural, Santa Maria, V. 34, n. 2, p. 595-598, março/abril, 2004.

KUNRATH, C.F.; VOGEL, F.S.F.; OLDONI, I.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; DEZENGRINI, R.; TORRES, F.D.; PAN, K.A. **Soroneutralização e imunofluorescência utilizando anticorpos monoclonais no diagnóstico rápido de infecções pelo herpesvírus bovino tipos 1 e 5 (BHV-1 e BHV-5).** Ciência Rural, V.34, n.6, p.1877-1883, 2004.

LANGONI, H.; MEIRELES, L.R.; GOTTSCHALK, S.; CABRAL, K.G; DA SILVA, A.V. **Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do estado de São Paulo.** Arq. Inst. Biol. V.67, n.1, 2000.

LEAL, L. DA S.; OBA, E.; FERNANDES, C.A. DE C.; SÁ FILHO, O.G. **Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos.** Ciência Animal Brasileira, V. 10, n. 1, p. 174-183, jan./mar. 2009.

MACFARLANE, M.S.; BREEN, K.M.; SAKURAI, H.; ADAMS, B.M.; ADAMS, T.E. **Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep.** Animal Reproduction Science, V. 63, p. 167-175, 2000.

MAGAJEVSKI, F.S.; GIRIO, R.J.S.; MEIRELLES, R.B. **Pesquisa de leptospira em fetos de vacas abatidas no estado de São Paulo, Brasil.** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, V. 74, n. 2 p. 67-72, 2007.

MAGALHÃES, M.N.; LIMA, A.C.P. **Noções de probabilidade e estatística.** 2. ed. São Paulo: IME-USP, 2000.

MAKAREVICH, A.V.; PIVKO, J.; KUBOVICOVA, P.; SLEZAKOVA, M.; LOUDA, F. **Development and viability of bovine preimplantation embryos after the in vitro infection with bovine herpesvirus-1 (BHV): immunocytochemical and ultrastructura studies.** Zygote; 15, p.307-15, 2007.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.; WATHES, D.C. **The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy.** Journal of Reproduction & Fertility, V.54, p.317-328, 1999.

MARTINS, N.E.X.; FRESCHI, C.R.; BAPTISTA, F.; MACHADO, R.Z.; FREITAS, F.L.C.; ALMEIDA, K.S. **Ocorrência de anticorpos anti-*neospora caninum* em vacas lactantes do município de Araguaína, estado do Tocantins, Brasil.** Revista de patologia tropical .V. 40 (3): 231-238. jul.-set. 2011.

MAZIEIRO, R.R.D.; MARTIN, I.; MATTOS, M.C.C.; FERREIRA, J.C.P. **Avaliação das concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona em vacas nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a manejo diário ou manejo semanal.** Vet. e Zootec. 2012 set.; 19(3): 366-372.

McALLISTER, M.M. **Do cows protect fetuses from *Neospora caninum* transmission,** Parasitol. Tod. V.17, n.1, p.6, 2001.

MELO, D.P.G.; SILVA, A.C.; ORTEGA-MORA, L.M. **Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, V. 15, n. 3, p. 105-109, 2006.

MENDES, M.B.; BITTAR, J.F.F.; PEREIRA, W.A.B.; ARDUINO, G.G.C.; BITTAR, E.R.; PANETTO, J.C.C.; SANTOS, J.P. **Determinação da prevalência das principais doenças da reprodução no rebanho bovino da região de Uberaba-MG.** Ciência Animal Brasileira Suplemento 1, 2009 Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria.

MENEZES, S.R.S. **Efeitos do clima na performance reprodutiva de bovinos leiteiros nos Açores.** 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica), Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo.

MESQUITA, M.; PELLEGRINI, D.C.P.; SIMÕES PIRES NETO, J.A.; REIS, G.R.; MEDEIROS, C.; GORBELLINI, L.G. **Análise de série temporal para avaliação do perfil sorológico da leptospirose bovina no estado do Rio Grande do Sul de 1996 a 2006.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, V.77, n.3, p.381-387, jul./set., 2010.

MINEIRO, A.L.B.B.; BEZERRA, E.E.A.; VASCONCELLOS, S.A. **Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia, Belo Horizonte, V. 59, n. 5, p. 1103-1109, 2007.

MOEN, A.D.; SOL, J.A.N.; SAMPIMON, O.T.L.I.S. **Indication of transmission of BVDV in the absence of persistently infected (PI) animals.** Preventive Veterinary Medicine, Amsterdam, V. 72, n. 1-2, p. 93-98, 2005.

MORAIS D.A.E F.; MAIA, A.S.C.; SILVA, R.G.; VASCONCELOS, A.M.; LIMA, P.O.; GUILHERMINO, M.M. **Varição anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente.** Revista Brasileira de Zootecnia, V. 37, n. 3, p. 538-545, 2008.

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

NASSER, L.F.; REIS, E.L.; OLIVEIRA, M.A.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. **Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* X *Bos taurus* recipients.** Theriogenology 2004;62:1577–84.

NETTLETON, P.F.; ENTRICAN, G. **Ruminant pestiviruses-review.** British Veterinary Journal, London, V. 151, n. 6, p. 615-642, 1995.

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

NISKANEN, R.; LINDBERG, A. **Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens.** The Veterinary Journal, London, V. 165, n. 2, p. 125-130, 2003.

NOGUEIRA M.F.G.; MELO D.S.; CARVALHO L.M.; FUCK E.J.; TRINCA L.A.; BARROS C.M. 2004. **Do high progesterone concentration decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2 α and eCG** Theriogenology, 61: 1283-90.

NOGUEIRA, E.; CARDOSO, G.S.; MARQUES JUNIOR, H.R.; DIAS, A.M.; ITAVO, L.C.V.; BORGES, J.C. **Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients.** Rev. Bras. de Zootec., V.41, n.9, p.2129-2133, 2012.

NORONHA, R.P.; CAMPOS, G.S.; SARDI, S.I. **Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em bovinos jovens**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, V.40, p.424-430, 2003.

OIE – OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **Manual of standards for diagnostic test and vaccines**. 5. ed. Paris: Office International Des Epizooties, 2008, p. 328–345.

OLIVEIRA, A.M.N.C. **Efeito da sazonalidade no perfil protéico do plasma seminal e influência do probiótico no quadro espermático em touros da raça tabapuã (*bos taurus indicus*)**. 2010. Dissertação (MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL), Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP.

OLIVEIRA, V.S.F.; FERNANDES, P.R.; MELO, D.P.G. **Neosporose bovina** - Revisão. Revista CFMV, Brasília, n. 42, p. 27-34, 2007.

PEDRAZA, F.J.; ALESSI, A.C. **Encefalitis bovina por herpesvirus bovino tipo 5 (HVB- 5)**. Una revisión. Rev Col Cienc Pec, V.17, n.2, p.148-155, 2004.

PIRES, M.F.A.; CAMPOS, A.T. **Modificações ambientais para reduzir o estresse calórico em gado de leite**. Comunicado técnico 42, EMBRAPA, Juiz de Fora, Minas Gerais, p.1-6, 2004.

POCAY, P.L.B.; POCAY, V.G.; STARLING, J.M.C.; SILVA, R.G. **Respostas fisiológicas de vacas holandesas predominantemente brancas e predominantemente negras sob radiação solar direta**. ARS VETERINARIA, 17(2): 155-161, 2001.

POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P. **Controle da Brucelose Bovina**. Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia, n. 47, p. 30-41, 2005.

POLETTO, R.; KREUTZ, L.C.; GONZALES, J.C.; BARCELLOS, L.J.G. **Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS**. Ciência Rural, Santa Maria, V. 34, n. 2, p. 595-598, março./abril, 2004.

QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S.O.; VARGAS, G.A.; VIDOR, T.; BROD, C. S. **Prevalence and factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in south of Rio Grande do Sul.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, V. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Artmed. Porto Alegre, RS. p.166-171, 2005.

RAGOZZO, A.M.A.; PAULA, V.S.O.; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI, S.M. **Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, V. 12, n. 1, p. 33-37, 2007.

REIS, L.S.L.S.; PARDO, P.E.; OBA, E.; KRONKA, S.N.; FRAZATTI-GALLINA, N.M. 2006. ***Matricaria chamomilla* CH12 decreases handling stressing Nelore calves.** J. Vet. Sci., 7: 189-192.

RICHTZENHAIN, L.J.; ALFIERI, A.A.; LEITE, R.C.; WEIBLEN, R.; MORO, E.; UMEHARA, O. **Pesquisa de anticorpos séricos contra o herpesvírus bovino tipo 1 em fêmeas de propriedades com histórico de problemas reprodutivos, localizadas em 21 estados brasileiros.** Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, V.66, supl.1, p.127, 1999.

RIDPATH, J.F. **Classification and molecular biology.** In: GOYAL, S. M.; RIDPATH, J. F. *Bovine viral diarrhoea virus*, cap. 3, p. 65-80. Iowa: Blackwell Publishing, 2005.

RIET-CORREA, F.; MOOJEN, V.; ROEHE, P.M.; WEIBLEN, R. **Viroses confundíveis com febre aftosa: revisão bibliográfica.** Ciência Rural, v. 26, p. 323-332, 1996.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. **Doenças de ruminantes e equídeos.** 3. ed. Vol 1. Pallotti. Santa Maria, RS. p. 225-234, 2007.

RIVIER, C.; RIVEST, S. **Effects of stress on the activity of hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms.** Biol Reprod. 1991;45:523-32.

RODRIGUES, C.A.; RANIERI, A.L.; TEIXEIRA, A.A.; VIEIRA, L.M.; FERREIRA, R.M.; AYRES, H.; BARUSELLI, P.S. **Eficiência reprodutiva de receptoras holandesas de alta produção sincronizadas para TETF com protocolos com ou sem estradiol e/ou eCG.** In: *XXIV Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões*, Porto de Galinhas, PE. 2010.

ROEHE, P.M.; ALMEIDA, R.S.; TEIXEIRA, M.F.B.; ESTEVES, P.A.; OLIVEIRA, E.A.S.; PETZOLD, S.A.; SILVA, T.C. **Atualização no diagnóstico e controle de infecções por herpesvírus bovinos tipos 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5).** *Biológico*, São Paulo, V. 59, n.2, p. 27-32, 1997.

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R.H.F.; VAN EEDENBURG, F.J.C.M.; HANZEN, C.H.; **When is a cow in estrus. Clinical and practical aspects.** *Theriogenology*. 2010;74:327-44.

ROYAL, M.; MANN, G.E.; FLINT, P.E. **Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle.** *Veterinary Journal*, V.160, p.53-60, 2000.

RUFINO, F.A.; SENEDA, M.M; ALFIERI, A.A. **Impacto do Herpesvírus bovino 1 e do vírus da Diarreia viral bovina na transferência de embriões.** *Archives of Veterinary Science*, V. 11, n.1, p. 78-84, 2006.

SALVADOR, S.C.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORRÊA, F.; ROHE, P.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. **Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, V. 18, n.2, p. 75-82, 1998.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, M.L.; MUNCK, A.U. **How do glucocorticoids influence stress responses integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions.** *Endocrinology*. 2000;89:21-55.

SAS Institute Inc. **SAS user's guide: statistics**. Version 9.1 Cary, N.C., 2009.

SEGHAL, S.C. **Epidemiological patterns of leptospirosis**. Ind. J. Med. Microb. V.24, n.4, p.310-311, 2006.

SILVA, J.C.; COSTA, L.L.; SILVA, J.R. **Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle**. Theriogenology, v. 58, p. 51-59, 2002.

SILVA, J.C.; COSTA, L.L.; SILVA, J.R. **Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle**. Theriogenology, V. 58, p. 51-59, 2002.

SILVA, R.G.; GAUDIOSI, M.C. **Termólise evaporativa em ovinos sob altas temperaturas**. In: *CONGRESSO DE BIOMETEROLOGIA, 1.*, 1995, Jaboticabal-SP. Anais...Jaboticabal: Anais do Primeiro Congresso Brasileiro de Biometerologia, 1995. p.193- 214.

SIQUEIRA, L.G.B.; TORRES, C.A.A.; AMORIM, L.S.; SOUZA, E.D.; CAMARGO, L.S.A.; FERNANDES, C.A.C.; VIANA, J.H.M. **Interrelationships among morphology, echotexture, and function of the bovine corpus luteum during the estrous cycle**. Animal Reproduction Science, v.115, p. 18–28, 2009.

SMITH, B.P. **Medicina interna de grandes animais**. 3. ed. Manole. Barueri, SP, p. 1319. 2006.

SPANO, A.A.; SILVA, A.A.M.R. **Níveis plasmáticos de progesterona durante o ciclo estral e na fase inicial da gestação em bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus taurus*)**. Ars Veterinária, V. 8, p. 131-141, 1992.

SPELL, A.R.; BEAL, W.E.; CORAH, L.R.; LAMB, G.C. **Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle**. Theriogenology, V. 56, p. 287-297, 2001.

SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. **Embryo survival in cattle, a major limitation to the achievement of high fertility.** In: *Diskin MG (Ed.). Fertility in the high producing dairy cow. Penicuik, Midlothian, UK: BSAS, 2001. p.93-104. (BSAS Occasional Publication, 26).*

STARLING, J.M.C.; SILVA, R.G.; NEGRÃO, J.A.; MAIA, A.S.C.; BUENO, A.R. **Variação estacional dos hormônios tireoideanos e do cortisol em ovinos em ambiente tropical.** R. Bras. Zootec., V.34, n.6, p.2064-2073, 2005.

TAKIUCHI, E.; MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. **Bovine herpesvírus type 1 abortions detected by a semi nested-PCR in Brazilian cattle herds.** Research Veterinary Science, London, V.79, p.85-88, 2005.

THATCHER, W.W.; HANSEN, P.J. **Environment and reproduction.** In: *Reprod Domest Anim Amesterdan: Elsevier World Animals Science Series 1993; 9: 433-457.*

THURMOND, M.C. **Virus transmission.** In: GOYAL, S.M.; RIDPATH, J.F. *Bovine viral diarrhea virus*, cap. 5, p. 91-104. Iowa: Blackwell Publishing, 2005.

TORRES-JÚNIOR, J.R.; PIRES, M.F.A.; SÁ, W.F.; FERREIRA, A.M.; VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; RAMOS, A.A.; FOLHADELLA, I.M.; POLISSENI, J.; FREITAS, C.; CLEMENTE, C.A.A.; de SÁ FILHO, M.F.; PAULA-LOPES, F.F.; BARUSELLI, P.S. **Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in Bos indicus cattle.** Theriogenology., V.69, p.155-66, 2008.

UQUHART, G.M; ARMOUR, J; DUNCAN, J.L; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia veterinária.** Editora Guanabara koogan, 2. ed, p.154-155, 1998.

VALENZUELA, P. **Neosporosis in cattle and dogs.** Mon. Elctr. Patol. Vet. V..2, n.1, p.17-33, 2005.

VASCONCELOS, J.L.M.; DEMÉTRIO, D.F.B.; SANTOS, R.M. et al. **Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cows recipients.** Theriogenology, V.65, p. 192-200, 2006.

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. **Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, V. 51, n. 3, p. 251-256, 1999.

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.F.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; KUNRATH, C.F. **Atividade neutralizante anti-herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5) no soro de bovinos imunizados com vacinas contra o BHV-1.** Ciência Rural, V.32, n.5, p. 881-883, 2002.

VOGEL, F.S.F.; SCHERER, C.F.C.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; LIMA, M.; KUNRATH, C.F. **Resposta sorológica e avaliação de proteção fetal em ovelhas prenhez vacinadas contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV).** Ciência Rural, V.31, n.5, p. 831-838, 2001.

WILLARD, S.T.; LAY, D.C.JR.; FRIEND, T.H.; NEUENDORFF, D.A.; RANDEL, R.D. **Plasma progesterone response following ACTH administration during mid-gestation in pregnant brahman heifer.** Theriogenology, V. 63, n. 4, p. 1061-1069, 2006.

WILTBANK, M.C. **Cell types and hormonal mechanisms associated with mid cycle *corpus luteum* function.** Journal Animal Science, V. 72, p. 1873-1883, 1994.

YOSHIDA, C.; NAKAO, T. **Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in ovariectomized lactating dairy cows.** Reproduction and Development, V. 51, n. 1, p. 99-107, 2005.

ZUNINO, M.E.; PIZARRO, P.R.; **Leptospirosis - Puesta al dia.** Rev. Chil. Infect.; V. 24, n.3, p.220-226, 2007.

Anexos