

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VETERINÁRIA



Dissertação

Influência da saúde de vacas leiteiras sobre o desempenho reprodutivo

Vagner Lucheze

Pelotas, 2024

Vagner Lucheze

Influência da saúde de vacas leiteiras sobre o desempenho reprodutivo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Clínica Médica Veterinária).

Orientador: Dr. Márcio Nunes Corrêa

Coorientador: Dr. Francisco Augusto Del Pino

Coorientador: Prof. Dra. Viviane Rohrig Rabassa

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

L936i Lucheze, Vagner

Influência da saúde de vacas leiteiras sobre o desempenho reprodutivo [recurso eletrônico] / Vagner Lucheze ; Márcio Nunes Correa, orientador ; Viviane Rabassa, Francisco Del Pino, coorientadores. — Pelotas, 2022.
45 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Doenças reprodutivas. 2. Taxa de concepção. 3. Fatores de risco. 4. *Anaplasma marginale*. I. Correa, Márcio Nunes, orient. II. Rabassa, Viviane, coorient. III. Del Pino, Francisco, coorient. IV. Título.

CDD 636.21408926

Vagner Lucheze

Influência da saúde de vacas leiteiras sobre o desempenho reprodutivo

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 29/02/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Márcio Nunes Corrêa (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Marcelo Cecim.
PhD Fisiologia/Endocrinologia SIU - Universidade Federal de Santa Maria RS.

Prof. Dr. Carlos Bondan
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Universidade de Passo Fundo, RS.

Prof. Dr. Elizabeth Schwegler
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas. Instituto Federal Catarinense.

*Dedico esse trabalho a Deus e a meu Orientador
Márcio Nunes Corrêa que me permitiram retornar
à universidade que me acolheu desde a
graduação e a desenvolver esse projeto.*

Agradecimentos

Agradeço, acima de tudo, a Deus. Agradeço, pela minha vida e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho. Agradeço por cada oportunidade de aprender, por cada pessoa que pôs em meu caminho.

A toda minha família pela compreensão durante os momentos de ausência, pelo carinho, paciência e por estarem ao meu lado me apoiando e incentivando em todos os momentos.

À Vanessa da Silva Pereira e Nathalia Rahal pela perseverança e extrema dedicação ao projeto, pela confiança depositada, e principalmente pela amizade verdadeira que construímos.

Ao meu orientador Márcio Nunes Corrêa pela oportunidade e confiança em mim depositada, por todos os ensinamentos acadêmicos e de vida compartilhados neste período de convivência, aos professores Viviane Rabassa, Eliza R. Komninou e Francisco Del Pino vocês somaram muito no meu crescimento como mestrando e profissional. Ao meu colega de empresa Romulo Telles França, que foi a primeira pessoa que me incentivou e deu todo apoio para que eu entrasse no mestrado.

Ao grupo Nupeec Hub – Time turbo metabolismo da UFPel, por terem me acolhido e por todo o auxílio. Agradeço em especial aos Produtores das quatro propriedades onde conduzi meu experimento, por confiarem em mim e disponibilizarem seus animais em prol do estudo, aos meus estagiários por toda ajuda nas coletas das amostras, separação de material e dedicação ao projeto que tornaram tudo isso possível.

A equipe da empresa Produtiva Assessoria Veterinária que faço parte e é uma família para mim. Enfim, a todos que fizeram parte deste projeto ou que contribuíram de alguma forma para que o objetivo fosse alcançado, muito obrigado.

“A persistência é o caminho do êxito”.
Charles Chaplin

RESUMO

LUCHEZE, Vagner. **Influência da saúde de vacas leiteiras sobre o desempenho reprodutivo**, 2024. 46f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

No setor da pecuária leiteira, as enfermidades que afetam a reprodução de bovinos representam uma considerável preocupação, devido ao seu potencial para diminuir a produtividade, a rentabilidade e a qualidade dos produtos e derivados, tais como leite e carne. Estas condições também são associadas à baixa concepção, abortos, perdas embrionárias precoces e repetições deaios, resultando em prejuízos substanciais na pecuária leiteira. Portanto, uma compreensão aprofundada das causas, efeitos na saúde reprodutiva, métodos de diagnóstico e estratégias preventivas torna-se crucial para assegurar o bem-estar e desempenho dos animais, bem como a sustentabilidade da atividade pecuária. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da ocorrência de doenças, parâmetros metabólicos e hematológicos na taxa de concepção de vacas leiteiras da raça Holandês, na região nordeste do Rio Grande do Sul. O estudo foi composto por 60 vacas, da raça Holandês, que foram categorizadas em dois grupos com base em seu *status* de prenhez: prenhas e não prenhas. A taxa de concepção em animais que experimentaram eventos de doença foi de 41,18%, enquanto animais sem distúrbios de saúde apresentaram uma taxa de concepção de 72,9%. Quanto aos parâmetros hematológicos, não houve diferença no hematócrito entre prenhas e não prenhas ($29,89 \pm 3,70$ vs $30,36 \pm 3,63$). No entanto, a análise dos parâmetros bioquímicos revelou diferenças nos Ácidos Graxos Livres (AGL) entre vacas prenhas e não prenhas ($0,218 \pm 0,14$ vs $0,155 \pm 0,04$ mmol/l, respectivamente $P < 0,05$). A matriz de correlação revelou interação positiva entre hematócrito e os níveis de haptoglobina ($r = 0,3287$, $P = 0,01$), entre os AGL e a concentração de cálcio ($r = 0,3094$, $P < 0,05$). Já a glicose apresentou uma correlação negativa com β -hidroxibutirato (BHB) ($r = -0,4116$, $P = 0,01$), com a concentração de cálcio e com os níveis de parasitemia por *Babesia bigemina* ($r = -0,2619$, $P < 0,05$). Porém, não foram observadas correlações entre hematócrito e glicose, hematócrito e AGL, hemoglobina e cálcio, bem como entre outras variáveis analisadas. Este estudo evidencia múltiplas interações entre saúde, metabolismo e fertilidade em vacas leiteiras, destacando que doenças no pós-parto afetam negativamente a concepção. A compreensão dessas interações é crucial para minimizar os impactos dos transtornos de saúde no desempenho produtivo e reprodutivo em vacas leiteiras, contribuindo assim para a busca de estratégias que promovam a saúde desses animais.

Palavras-chave: *Anaplasma marginale*; Doenças reprodutivas; Fatores de risco; Taxa de concepção.

ABSTRACT

LUCHEZE, Vagner. **Influence of dairy cow health on reproductive performance.** 2024. 46f. Dissertation (Master of Science) – Post Graduate Program in Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

In the context of dairy farming, diseases impacting cattle reproduction pose significant concerns due to their potential to reduce productivity, profitability, and the quality of derived products such as milk and meat. These conditions include low conception rates, abortions, early embryo loss, and repeated estrus, leading to substantial losses in dairy operations. A comprehensive understanding of the causes, effects on reproductive health, diagnostic methods, and preventive strategies is crucial to ensure the welfare and performance of cattle, as well as the sustainability of dairy farming. Hence, the main goal of this study was to evaluate the impact of disease occurrence, metabolic, and hematological parameters on the conception rate of Holstein dairy cows in the northeastern region of Rio Grande do Sul. The study involved 60 Holstein cows, categorized into pregnant and non-pregnant groups based on their pregnancy status. Among cows that experienced disease events, the conception rate was 41.18%, while cows without health disorders had a conception rate of 72.9%. Regarding hematological parameters, there was no significant difference in hematocrit levels between pregnant and non-pregnant cows (29.89 ± 3.70 vs 30.36 ± 3.63). However, the analysis of biochemical parameters revealed significant differences in free fatty acid (FFA) levels between pregnant and non-pregnant cows (0.218 ± 0.14 vs 0.155 ± 0.04 mmol/l, respectively). The correlation matrix showed positive interactions between hematocrit and haptoglobin levels ($r=0.3287$, $P=0.01$), as well as FFA and calcium concentration ($r=0.3094$, $P<0.05$). Glucose exhibited a significant negative correlation with β -hydroxybutyrate (BHB) ($r=-0.4116$, $P=0.01$), along with calcium concentration and *Babesia bigemina* parasitemia levels ($r=-0.2619$, $P<0.05$). However, no significant correlations were observed between hematocrit and glucose, hematocrit and FFA, hemoglobin and calcium, as well as among other analyzed variables. This study emphasizes the complex relationships between health, metabolism, and fertility in dairy cows, highlighting the adverse effects of postpartum diseases on conception rates. Understanding these interactions is essential to mitigate the impacts of health issues on productive and reproductive performance in dairy cows, thereby contributing to the development of strategies that enhance the health of these animals.

Keywords: *Anaplasma marginale*; Reproductive diseases; risk factors; conception rate

Lista de Figuras

- Figura 1.** Protocolo utilizado no experimento, com manejos nos dias zero, sete, oito, nove e dez (D0, D7, D8, D9 e D10). BE (benzoato de estradiol); IMPLANTE P4 (dispositivo intravaginal de progesterona 1,9g); PGf2 α (cloprostenol sódico); IA (inseminação artificial). Fonte: Sartori *et al.* (2018). 37
- Figura 2.** Taxas de concepção e percentuais de doença e de infecção por *Anaplasma marginale* em vacas da raça Holandês da Região Nordeste do estado do Rio Grande do Sul..... 38

Lista de Tabelas

Tabela 1	Média e desvio padrão de hematócrito, parâmetros bioquímicos e número de cópias de DNA de <i>Anaplasma marginale</i> , <i>Babesia bigemina</i> e <i>B. bovis</i> de acordo com a concepção em vacas leiteiras da raça Holandês da Região Nordeste do estado do Rio Grande do Sul.....	39
Tabela 2	Matriz de correlação entre hematócrito, parâmetros bioquímicos e número de cópias de DNA de <i>Anaplasma marginale</i> , <i>Babesia bigemina</i> e <i>B. bovis</i> de vacas leiteiras da raça Holandês da Região Norte do Rio Grande do Sul.....	40

Lista de Abreviaturas e Siglas

AGID	Imuno difusão em gel de ágar
B0HV-1	Herpes-vírus Bovino Tipo 1
BE	Benzoato de estradiol
BHB	Beta-hidroxibutirato
BHV-1	Herpes Vírus Bovino 1
BVD	Diarreia Viral Bovina
BVD	Vírus da Diarreia Viral Bovina
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ECC	Escore de condição corporal
EDTA	Ácido etilenodinamico tetra-acético
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IFN T	Interferon tau
MAT	Teste de algutinação macroscópica
MDBK	Madin Darby Bovine Kidney
P4	Dispositivo intravaginal de progesterona de 1,9g
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PEV	Período de espera voluntário
PGF2 α	Prostaglandina F 2 alfa
qPCR	Reação em Cadeia Polimerase em Tempo Real
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
TPB	Tristeza Parasitária Bovina

Lista de Símbolos

"	Localização geográfica
%	Porcentagem
<	Menor
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
μl	Microlitros
mEq/l	Miliequivalente por litro
mg/μl	Miligramas por microlitro
Nº	Número
O	Oeste
°C	Graus Celsius
P	P de Pearson
S	Sul
X	Vezes
α	Alfa
β	Beta

Sumário

1 Introdução	13
2 Revisão Bibliográfica	15
2.1 Principais Doenças com impacto nos bovinos leiteiros	15
2.1.1 Tristeza Parasitária Bovina (TPB)	15
2.1.2 Doenças que cursam com perdas reprodutivas	16
2.1.3 Diarreia Viral Bovina	17
2.1.4 Rinotraqueíte Infecciosa Bovina	17
2.1.5 Neosporose bovina	18
2.1.6 Leptospirose bovina	19
2.1.7 Leucose Enzoótica Bovina	20
3 Artigo	22
4 Considerações Finais	41
Referências	42
Apêndices	45

1 Introdução

A bovinocultura tem grande destaque na economia brasileira (Camargo *et al.*, 2017), uma vez que o Brasil apresenta o segundo maior rebanho bovino do mundo, sendo o maior rebanho comercial, com 224,6 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2021). A bovinocultura de leite está presente em todos os municípios e, de acordo com o Censo Agropecuário de 2017, o Brasil possui 1,1 milhões de propriedades leiteiras, que juntas, produzem cerca de 35 bilhões de litros de leite por ano (IBGE, 2019). Ainda, a cadeia produtiva do leite bovino é uma das atividades mais importantes para o agronegócio brasileiro, especialmente na geração de emprego e renda, sendo o Brasil um dos quatro maiores produtores de lácteos do mundo (Embrapa, 2018).

Entretanto, a eficiência reprodutiva é o fator que mais afeta a produtividade e a lucratividade de um rebanho isoladamente. Apesar de haver tecnologias disponíveis, há muitos obstáculos para otimizá-la, pois ocorrem perdas reprodutivas desde a concepção até o parto. Em bovinos, a mortalidade pré-natal, tanto embrionária como fetal, é uma das maiores causas de falhas reprodutivas, e a maioria dessas perdas acontece durante os primeiros 35 dias de gestação, que correspondem ao período embrionário, e pode atingir 40% dos conceptos. Essas perdas afetam diretamente o sucesso da atividade, causando forte impacto negativo sobre a rentabilidade da produção pecuária (Bergamaschi *et al.*, 2010). Nesse sentido, tornam-se necessárias técnicas de manejo adequadas, que atendam todas as exigências dos animais em termos de nutrição, sanidade e conforto, a fim de se evitarem transtornos que poderiam ocasionar perdas reprodutivas (Palhano, 2008).

Quanto às perdas reprodutivas de ordem sanitária, essas ocorrem de forma mais impactante nos casos em que não existe um programa de manejo sanitário adequado. Essas inadequações, causam alterações significativas nos parâmetros reprodutivos, tais como o aumento do intervalo de partos, aumento do número de serviços por concepção e redução no número de animais nascidos e desmamados. Essas alterações acarretam redução nas taxas de fertilidade do rebanho, ocasionando prejuízos econômicos significativos à exploração bovina.

Portanto, a sanidade do rebanho, em particular relacionada às infecções que comprometem o trato reprodutivo das fêmeas, se destaca como um importante fator de interferência na eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos (Junqueira; Alfieri, 2006). Logo, o conhecimento dos diversos fatores patogênicos é de extrema importância para a prevenção de doenças no rebanho e de consequentes perdas econômicas (Fischer *et al.*, 2018). Entre as principais doenças que acometem bovinos leiteiros e que podem ter influência sobre a eficiência reprodutiva destacam-se a tristeza parasitária bovina, a diarreia viral bovina, a rinotraqueíte infecciosa bovina, a neosporose bovina, a leptospirose e a leucose enzoótica bovina.

Como forma de monitorar a saúde de rebanhos leiteiros, podem ser determinados parâmetros metabólicos e hematológicos, que permitem identificar e prevenir doenças, desequilíbrios nutricionais e problemas reprodutivos, que podem afetar o desempenho dos animais (González, 2003). Destas opções de monitoramento, o hematócrito é um exame rápido e de baixo custo, indicado para o prognóstico de diversas doenças que afetam os bovinos, necessidade de transfusão sanguínea e no monitoramento da saúde e da produtividade de rebanhos leiteiros (Silva, 2017). Já o perfil metabólico é um exame complementar empregado no estudo e diagnóstico de desequilíbrios nutricionais, que mede a concentração de metabólitos indicadores do metabolismo energético, proteico e mineral em amostras de tecidos ou fluidos de animais representativos de um rebanho (Wittwer, 2000). Portanto, a avaliação dos perfis hematológicos e metabólicos são indicadores importantes de monitoramentos da saúde de vacas leiteiras.

No entanto, esses exames não são realizados na rotina das propriedades leiteira do Rio Grande do Sul, em função da dificuldade de manejo e dos custos adicionais dessas análises. A falta dessa informação estratégica compromete a segurança dos rebanhos leiteiros, podendo comprometer a saúde e bem-estar dos animais, bem como a segurança dos produtores e dos consumidores do leite bovino. Logo, pesquisas devem ser realizadas para compreender como e o quanto esses fatores sinalizam problemas de produtividade e sanidade dos animais de produção. Portanto, o objetivo principal deste estudo foi avaliar o efeito da ocorrência de doenças, parâmetros metabólicos e hematológicos na taxa de concepção de vacas leiteiras da raça Holandês, na Região Nordeste do Rio Grande do Sul.

2 Revisão da Literatura

2.1 Principais doenças com impacto nos bovinos leiteiros

2.1.1 Tristeza Parasitária Bovina (TPB)

Os patógenos transmitidos por vetores causam doenças com grande impacto na saúde pública e veterinária. Os carrapatos são artrópodes hematófagos de vertebrados que representam sérias ameaças aos produtores de gado de corte e de leite no mundo. Estima-se que 80% da população mundial de gado estão em risco de doenças transmitidas por carrapatos (TPB), causando grandes perdas anuais econômicas no mundo todo.

Prejuízos causados por esse ectoparasita engloba gastos com drogas utilizadas para o seu controle, além da transmissão da doença e o tratamento em si. Além disso, ocorrem perdas pela diminuição do desempenho produtivo do rebanho devido aos efeitos diretos da alimentação do parasita, como também gastos energéticos ligados as defesas imunológicas frente a uma infecção, piora da qualidade do couro, além de possivelmente influenciar o desempenho reprodutivo.

A TPB consiste em um complexo de doenças que incluem babesiose e anaplasmose, causadas por dois protozoários em bovinos a *Babesia bovis* e a *Babesia bigemina*, e uma rickettsia, a *Anaplasma marginale*. Dentre os principais sinais clínicos, destacam-se anemia hemolítica progressiva, icterícia, febre, apatia, inapetência e taquipneia. Observam-se também aborto, relatado na anaplasmose; além de hemoglobinemia e hemoglobinúria, observados na babesiose, que geralmente evoluem para a morte do animal (Bock *et al.*, 2004; Kocan *et al.*, 2010). A anaplasmose bovina ocorre em áreas tropicais e subtropicais e é uma das principais causas de redução na produção de carne e de leite nos bovinos em todo o mundo. No Brasil, a enfermidade é considerada endêmica, causando uma parasitemia persistente em bovinos de corte e de leite de todas as idades (Cangussu *et al.*, 2018). A infecção por *Babesia sp.* nos bovinos é causada principalmente pela sua transmissão biológica e transovariana através do carrapato. Não há transmissão mecânica por carrapatos

nem por outros artrópodes e/ou insetos hematófagos e as infecções pré-natal ou iatrogênicas, que podem ocorrer, são epidemiologicamente insignificantes.

O primeiro relato de TPB no Brasil ocorreu em 1901, ocasionado pela introdução de animais importados no Rio de Janeiro. Atualmente possui prevalência na Região Centro-Sul do país, pois possui ótimas condições para o desenvolvimento do carrapato *Rhipicephalus (boophilus) microplus*, que é o principal vetor da doença, considerado endêmico no Brasil devido ao clima tropical e subtropical (Costa *et al.*, 2011; Farber *et al.*, 2016; Paiva *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021).

O diagnóstico destas enfermidades baseia-se na pesquisa direta do agente em esfregaços sanguíneos na fase aguda da doença (Böse *et al.*, 1995, Bock *et al.*, 2004), além de métodos sorológicos como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (Costa-Júnior *et al.*, 2006), mais empregadas na fase crônica. A mensuração do hematócrito do animal é um dado importante que ajuda a fechar o diagnóstico, o que indica a gravidade do caso. Em relação aos tratamentos existentes, a Organização Mundial da Saúde Animal propôs que a enrofloxacina, o imidocarb e a oxitetraciclina fossem utilizados para o tratamento de infecções persistentes de *A. marginale* em bovinos (Silva *et al.*, 2016). No entanto, estudos demonstraram que esses antimicrobianos são eficazes apenas na forma aguda da enfermidade, tornando a infecção persistente (Coetzee *et al.*, 2005).

O tratamento da Babesiose visa destruir os parasitas no animal através da aplicação de fármacos a base de acetarão de diminazeno, dipropionato de imidocarb, diisetonato de amicarbalina e fenamidina, entretanto, o imidocarb é o mais utilizado por possuir lenta metabolização, protegendo, conseqüentemente, por um período mais longo, porém, possui efeitos colaterais como diarreia, salivação e cólica (Melo; Carvalho Neta, 2009). Portanto, o complexo TPB acarreta mortalidade e perdas diretas e indiretas no rebanho, tornando-se importante fonte de estudo principalmente sobre o aspecto de seus impactos na produção e reprodução dos bovinos.

2.1.2 Doenças que cursam com perdas reprodutivas

Os causadores destas doenças encontram-se amplamente distribuídos pelo Brasil com altos índices de infecção. Inquéritos sorológicos realizados em todo o país têm demonstrado altos percentuais de soroconversão de fêmeas bovinas para o Herpes Vírus Bovino 1 (BHV-1), agente causador da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

(IBR), para o Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVD) e para a Leptospirose (Del Fava *et al.*, 2003; Mendes *et al.*, 2009).

2.1.3 Diarreia Viral Bovina

O vírus da Diarreia Viral Bovina (*Bovine viral diarrhoeavirus*, BVDV) é um dos principais patógenos de bovinos e causa perdas econômicas significativas para a pecuária bovina em todo o mundo (Baker, 1995). A doença é associada a múltiplas manifestações clínicas entre elas diarreia aguda, doenças das mucosas, diarreia crônica e problemas reprodutivos (Pereira *et al.*, 2009) e sua prevalência está entre 60 e 85% no Brasil.

Alguns trabalhos citam a BVDV como uma doença endêmica dos rebanhos, principalmente devido às altas taxas de soroprevalência encontradas em todas as regiões do país. Flores *et al.* (2005) observou taxas de 40 a 80% de animais positivos em diversos estados brasileiros. Neste estudo os índices nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul chegaram respectivamente a 67 e 73%.

O BVDV pertence à família Flaviviridae, gênero Pestivirus e possui distribuição mundial. Em animais não prenhes a infecção pode ser assintomática, ou subclínica, com quadros de depressão, febre, inapetência, diarreia leve e leucopenia transitória ou mais grave com pirexia, hiperemia de mucosas, sialorreia, aparecimento de lesões ulcerativas na mucosa oral, descarga nasal, tosse e diarreia, sintomas que podem permanecer por até 15 dias. Já nas fêmeas prenhes causa geralmente aborto, porém, se a infecção ocorrer entre 40 e 120 dias de gestação, o feto nasce imunotolerante ao vírus infectante, que apesar de serem soronegativos, são portadores e eliminam o vírus em secreções e excreções. Esse animal é chamado de Persistentemente Infectado (PI) (Bernardes *et al.*, 2021).

2.1.4. Rinotraqueíte infecciosa bovina

A rinotraqueíte infecciosa bovina, causada pelo Herpes-Vírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) é responsável por consideráveis perdas econômicas em todo o mundo. A doença pode acometer os tratos respiratório e genital dos bovinos, sendo também associada a meningoencefalite. O vírus tem sido associado também a falhas reprodutivas como a morte embrionária precoce e abortos, que provavelmente representam as perdas mais significativas ligadas ao patógeno (Oliveira *et al.*, 2011).

O BoHV-1 está disseminado por todas as regiões do Brasil, resultando em elevados índices de infecção nos rebanhos (Bezerra *et al.*, 2012). Na Região Sul, foram encontradas variações de 18,8 e 64,41% de animais reagentes para BoHV-1 (Lovato *et al.*, 1995; Vidor *et al.*, 1995; Médici *et al.*, 2000; Dias *et al.*, 2008).

A replicação do BoHV-1 ocorre em células epiteliais do trato tanto respiratório e reprodutivo e começa duas horas após a infecção (Engels; Ackermann, 1996; Meurens *et al.*, 2004). O vírus é transmitido diretamente pelo contato com animais infectados, de secreções respiratórias, oculares e do trato reprodutivo, ou indiretamente através de pessoas ou equipes (Pidone *et al.*, 1999).

Quando a doença é introduzida no rebanho observam-se febre, secreção serosa ocular e nasal, salivação, anorexia e hiperemia da mucosa nasal 10 a 20 dias pós-infecção. Após a infecção, há diminuição da produção de leite, tendendo-se a agravar com secreção nasal mucopurulenta, respiração bucal, pescoço estendido, dispneia e, em alguns casos, até morte súbita. Tosse, rinite, estomatite erosiva, traqueíte, faringite e laringite são outros sinais da forma respiratória da doença. Devido às erosões do epitélio no focinho do bovino, pode-se observar a narina dos animais com coloração avermelhada (Gioso *et al.*, 2009).

2.1.5 Neosporose bovina

A neosporose bovina é uma enfermidade infecciosa provocada pelo protozoário *Neospora caninum* e encontra-se difundida globalmente, incluindo o território brasileiro (Lefkaditis *et al.*, 2020). Em bovinos, os casos de neosporose estão associados a abortos, que ocorrem por volta do quinto e sexto mês de gestação em vacas leiteiras, além de outros distúrbios reprodutivos, tais como retenção de placenta, parto de bezerros debilitados ou com manifestações neuromusculares (Souza *et al.*, 2022). Os cães domésticos destacam-se como principais hospedeiros definitivos do parasita causador da neosporose, eliminando oocistos não esporulados no ambiente, o que favorece sua persistência prolongada no meio. A transmissão pode ocorrer horizontalmente, por meio de um ambiente contaminado, ou verticalmente, de forma transplacentária da fêmea infectada para o feto durante a gestação (Carvalho *et al.*, 2014).

O diagnóstico desta condição envolve uma abordagem combinada, considerando informações relativas ao histórico do rebanho, manifestações clínicas e dados laboratoriais. Para confirmação sorológica é imprescindível a confirmação

parasitológica por exame histopatológico do feto, visando um diagnóstico definitivo da enfermidade. Métodos como o teste imuno-histoquímico e o PCR também são utilizados nesse contexto (Carvalho *et al.*, 2014).

A prevalência de *Neospora spp.* em bovinos leiteiros no Brasil varia entre 10,4% e 97,2%, sendo essa variação atribuída a diferenças nos testes sorológicos, valores de corte e práticas de manejo (Cardoso *et al.*, 2012). Em um estudo com 184 vacas soropositivas para neosporose, observou-se que o número médio de inseminações foi de 3,92, enquanto nas vacas negativas foi de 2,39. Das 184 vacas positivas, 170 (92%) retornaram ao estro, em contraste com as vacas do grupo negativo, que apresentaram uma taxa de 30% (1,64 vezes mais inseminações em comparação com as soronegativas) e um intervalo de nascimento de 199 dias (Lefkaditis *et al.*, 2020).

2.1.6. Leptospirose bovina

A leptospirose bovina é uma enfermidade que ocasiona prejuízos significativos na produção pecuária, acarretando substanciais perdas econômicas. Trata-se de uma doença zoonótica, documentada em diversas espécies de mamíferos ao redor do mundo (Orjuela *et al.*, 2022). Originada pelo agente bacteriano *Leptospira spp.*, essa patologia é transmitida por meio de contato direto ou indireto, notadamente através da exposição a água ou solo contaminados, especialmente pela urina de humanos e outros animais domésticos e selvagens infectados.

A bactéria penetra a mucosa ou a pele danificada, estabelecendo colonização em diversos órgãos, com ênfase nos rins, sendo posteriormente eliminada na urina (Harran *et al.*, 2022). Sua prevalência é mais acentuada em regiões de clima tropical ou subtropical, onde a ocorrência de epidemias é associada a eventos climáticos intensos, como chuvas torrenciais e inundações, sendo os roedores os principais reservatórios (Harran *et al.*, 2022; Orjuela *et al.*, 2022; Sohm *et al.*, 2023).

A soroprevalência média de anticorpos contra *Leptospira sp.*, diagnosticada pelo teste de Aglutinação Microscópica (MAT), atingiu 82%, evidenciando uma elevada prevalência da leptospirose na Região Sul do Rio Grande do Sul. Os sorovares/sorogrupos predominantes associados à leptospirose bovina foram Djasiman (sorogrupo Djasiman), Hardjoprajitno (sorogrupo Serjoe) e Javanica (sorogrupo Javanica), com percentuais de 22,8%, 14,0% e 10,5%, respectivamente (Silva *et al.*, 2022). Na Colômbia, a soroprevalência geral atual é de 25,8% (Orjuela *et al.*, 2022).

Animais infectados podem permanecer assintomáticos enquanto excretam a bactéria na urina. Bovinos, por sua vez, podem atuar como hospedeiros para os sorovares Hadjobovis e Hardjoprajitno, resultando em complicações como abortos, distúrbios de fertilidade e redução na produção de leite (Harran *et al.*, 2022 e Sohm *et al.*, 2023).

O isolamento da *Leptospira sp.* em meio de cultura representa uma abordagem diagnóstica, assim como a detecção de anticorpos por meio do teste de aglutinação microscópica, ensaio imunoenzimático (ELISA) e PCR para o diagnóstico sorológico da leptospirose (Harran *et al.*, 2022; Orjuela *et al.*, 2022, Sohm *et al.*, 2023). A leptospirose bovina frequentemente resulta em perdas econômicas significativas devido ao seu impacto grave no desempenho reprodutivo, manifestado por partos prolongados, baixa taxa de concepção e infertilidade. Além disso, representa uma ameaça à saúde humana nas interfaces entre o homem, o gado e o ambiente (Orjuela *et al.*, 2022 e Sohm *et al.*, 2023).

2.1.7 Leucose Enzoótica Bovina

A Leucose Enzoótica Bovina, causada pelo vírus pertencente à família Retroviridae, constitui uma enfermidade infecciosa crônica, podendo manifestar-se de forma assintomática, sendo que menos de 30% dos animais desenvolvem a forma clínica, caracterizada por linfocitose persistente ou a formação de linfossarcoma maligno de células B em linfonodos e órgãos (Marawan *et al.*, 2021). Segundo os mesmos autores, este agente viral infecta as células do sistema imunológico, particularmente os linfócitos B, e é detectado circulante no sangue periférico.

A elevada prevalência de linfossarcomas observada nos rebanhos está associada ao uso de sangue contaminado em transfusões, permitindo que o agente infeccioso se propague horizontalmente. Além disso, a transmissão pode ocorrer por agulhas ou seringas reutilizadas, secreções e luvas utilizadas no toque retal, bem como verticalmente, através de transmissão transplacentária para o feto ou por meio da colostragem direta da mãe (Ladronka *et al.*, 2018). A disseminação da doença é global, com diferentes taxas de prevalência em todo o mundo, sendo de 40% nos Estados Unidos, 84% na Argentina e variando entre 17 e 60,8% no Brasil (Ladronka *et al.*, 2018; Marawan *et al.*, 2021).

O diagnóstico laboratorial envolve histopatologia, através de biópsia de massas tumorais ou fragmentos de órgãos, bem como testes sorológicos, como a imuno

difusão em gel de ágar (AGID) ou imunoenzimático (ELISA). A forma assintomática da leucose enzoótica bovina é de grande relevância, devido às substanciais perdas econômicas associadas à doença nos sistemas de produção, envolvendo o descarte precoce de animais, a redução na produção de leite, a imunossupressão e a restrição à importação de animais e produtos de origem animal (Marawan *et al.*, 2021).

3 Artigo

Influência da saúde, perfil hematológico e metabólico sobre o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras da Região Nordeste do Rio Grande do Sul

Influence of health, hematological profile, and metabolic factors on the reproductive performance of dairy cows in the northeast region of Rio Grande do Sul

Vagner Lucheze, Vanessa da Silva Pereira, Natália Rahal, Wesley da Silva Rosa, Uriel Secco Londero, Francisco Augusto Burkert Del Pino, Viviane Rohrig Rabassa, Marcio Nunes Corrêa

Foi Submetido a revista Ciência Rural.

RESUMO

As doenças ligadas à reprodução são um grande problema para a pecuária leiteira, pois impactam negativamente a produtividade e a rentabilidade. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de doenças, parâmetros metabólicos e hematológicos na concepção de vacas da raça Holandês no Nordeste do estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil. Foram monitoradas 60 vacas quanto à ocorrência de doenças clínicas e submetidas a protocolo de inseminação artificial a tempo fixo (IATF). No início do protocolo foram realizadas coletas de sangue para determinação de parâmetros metabólicos, hematócrito e diagnóstico sorológico de doenças. A concepção foi menor em vacas doentes (41,18%) do que em vacas saudáveis (72,9%). Não houve diferença no hematócrito entre os grupos, mas houve diferença nos ácidos graxos livres (AGL). O hematócrito correlacionou-se positivamente com a haptoglobina, bem como os AGL com o cálcio. A glicose e o cálcio correlacionaram-se negativamente com o beta-hidroxibutirato (BHB) e a parasitemia por *Babesia bigemina*, respectivamente. Outras variáveis não mostraram correlação significativa. Concluímos que a presença de doenças e distúrbios metabólicos comprometem a taxa de concepção de vacas leiteiras da raça Holandês no nordeste do RS. Além disso, a tristeza parasitária bovina mostrou-se associada a uma menor taxa de concepção dos animais.

Palavras-chave: *Anaplasma marginale*; Doenças reprodutivas; Fatores de risco; Taxa de concepção.

ABSTRACT

Reproductive diseases are a major problem for dairy farming, as they negatively impact productivity and profitability. The aim of this study was to evaluate the effect of diseases, metabolic and hematological parameters on the conception of Holstein cows in the Northeast of the state of Rio Grande do Sul (RS), Brazil. Sixty cows were monitored for the occurrence of clinical diseases and submitted to a fixed-time artificial insemination (FTAI) protocol. At the beginning of the protocol, blood samples were collected to determine metabolic parameters, hematocrit and serological diagnosis of diseases. Conception was lower in sick cows (41.18%) than in healthy cows (72.9%). There was no difference in hematocrit between the groups, but there was a difference in free fatty acids (FFA). Hematocrit correlated positively with haptoglobin, as well as FFA with calcium. Glucose and calcium were negatively correlated with beta-hydroxybutyrate (BHB) and *Babesia bigemina* parasitemia, respectively. Other variables did not show significant correlation. We conclude that the presence of diseases and metabolic disorders compromise the conception rate of Holstein dairy cows in northeastern RS. Furthermore, bovine parasitic tristeza was associated with a lower conception rate of animals.

Key words: *Anaplasma marginale*; Reproductive diseases; Risk factors; Conception rate.

Introdução

Com o objetivo de intensificar e otimizar a produção de leite, novas tecnologias são usadas para incrementar a produção, modernizar as instalações e infraestrutura, sem a necessidade de ampliar a área física, o número de funcionários e horas destinadas à atividade (VILELA *et al.*, 2007). Essa é a nova realidade das fazendas leiteiras onde o número de fazendas está diminuindo e a produção por vaca está aumentando, como consequência dos rápidos avanços genéticos e as práticas de manejo que aumentaram a produção de leite em todo o mundo. No entanto, a integração desta nova estrutura da indústria leiteira trouxe novos desafios e talvez o maior deles seja a redução da eficiência reprodutiva das vacas leiteiras modernas. A elevada eficiência reprodutiva é um pré-requisito para garantir uma produção leiteira rentável, uma vez que as vacas precisam parir para iniciar um novo período de lactação (HENRIQUE *et al.*, 2020).

A redução da ingestão de matéria seca, associada ao aumento da demanda por energia no terço final da gestação, para o crescimento fetal e para a síntese de leite, predispõe as vacas à ocorrência de doenças, e tornam este período o de maior desafio para estes animais, justificando a ocorrência de aproximadamente 75% das doenças no primeiro mês após o parto (LEBLANC *et al.*, 2006). As falhas reprodutivas são os principais fatores de perdas econômicas, sendo que 37 a 50% das perdas gestacionais em bovinos são associadas a doenças infecciosas, como Brucelose, Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD), Leptospirose (AONO *et al.*, 2013), Vulvovaginites e Neosporose (ALFIERI & ALFIERI, 2017). Já a tristeza parasitária bovina pode causar anemia, febre, icterícia, aborto, infertilidade e morte nos animais (SILVA, 2021).

Nesse contexto, o status sanitário e práticas de manejo que visem a melhoria da saúde da vaca leiteira se tornam um pilar essencial para alcançar índices reprodutivos desejados. Portanto, esse trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da ocorrência de doenças, parâmetros

metabólicos e hematócrito sobre a taxa de concepção de vacas leiteiras da raça Holandês na região nordeste do estado do Rio Grande do Sul (RS).

Materiais e Métodos

Caracterização das propriedades e dos animais

Este estudo foi realizado em quatro propriedades leiteiras situadas no nordeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos municípios de Cacique Doble (Fazenda 1, coordenadas 27°48'44"S e 51°40'36"O e Fazenda 2, coordenadas 27°48'28"S e 51°42'08"O), Paim filho (Fazenda 3, coordenadas 27°45'19"S e 51°34'14'O) e São José do Ouro (Fazenda 04, coordenadas 27°40'38"S e 51°43'28"O). O clima da região é subtropical com temperaturas que variam entre 9 e 28°C (IBGE, 2017). Os rebanhos das quatro fazendas totalizaram 213 vacas da raça Holandês em lactação, sendo 48 vacas em lactação na Fazenda 1, 35 na Fazenda 2, 40 na Fazenda 3 e 90 na Fazenda 4.

Os animais eram mantidos em sistemas de confinamento, sendo três *compost barn* e um *Free stall*. Os sistemas proporcionaram espaço físico de no mínimo 16 m² de cama por vaca, sistema de aspersão e ventilação controlada por temporizador automatizado, acionados quando a temperatura ambiental atingisse valores acima de 18°C. A dieta foi ofertada no cocho ao longo de todo o dia em níveis adequados para atender as necessidades nutricionais de vacas em lactação (NASEM, 2021), sendo determinada por nutricionista.

Dados para caracterização das propriedades rurais foram obtidos mediante um questionário respondido pelos proprietários, a fim de entender fatores ambientais específicos de cada fazenda que poderiam influenciar na sanidade e reprodução dos animais. Os produtores responderam questões acerca das instalações onde os animais eram mantidos, manejo nutricional, produtivo, sanitário, controle de vetores/parasitas e controle de dados produtivos.

Também foram obtidos dados de temperatura dentro dos sistemas, com mensurações de velocidade do vento e umidade relativa do ar através de termo-higro-anemômetro (Akrom® modelo KR825, São Leopoldo, RS, Brasil), além do índice de temperatura e umidade (ITU), através do aplicativo Thermotool® (CCPA, Jundiaí, SP, Brasil). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA/UFPel; n° 040941/2022-58).

Seleção de animais, manejo reprodutivo e sanitário

Foram incluídas no estudo 60 vacas (raça Holandês) em lactação, sendo 12 vacas da Fazenda 1, 10 da Fazenda 2, 23 da Fazenda 3 e 15 da Fazenda 4. Foram selecionadas apenas vacas aptas para o protocolo reprodutivo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (Sartori *et al.*, 2018) (Figura 1), através do histórico reprodutivo fornecido pelo produtor e por planilhas de acompanhamento da assistência veterinária da propriedade.

Como critérios de seleção, foi avaliado o escore de condição corporal (ECC), utilizando escala de 1 (muito magra) a 5 (muito gorda), sendo incluídas no estudo vacas hígdas com $ECC \geq 2,5$. Também, foi considerada a ciclicidade e saúde uterina das vacas, utilizando ultrassonografia transretal com *probe* linear (Sonoye Chisson Medical Technologies LTD® Changjiang, Jiangsu China), sendo descartados da pesquisa os animais em anestro ou com doença uterina (metrite e endometrite). Foram consideradas em estro as vacas que aceitavam monta, sendo também avaliadas pelos inseminadores a presença de muco cervical no momento da inseminação. Cada fazenda tinha seu respectivo profissional, responsável pela inseminação.

Trinta e dois dias após a inseminação foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal, com o mesmo equipamento utilizado para a avaliação ginecológica ao início do protocolo de IATF. Animais positivos ao diagnóstico foram avaliados durante a

gestação com exames ultrassonográficos a cada 15 dias, até os 90 dias de gestação. As vacas com diagnóstico negativo, se aptas, entraram em um novo protocolo de IATF.

O cálculo da taxa de concepção foi adaptado para considerar todas as vacas incluídas no período do estudo, o qual iniciou em 11 de outubro de 2022 e finalizou em maio de 2023. Assim, a taxa de concepção considerou o total de vacas analisadas pelo total de vacas inseminadas, independentemente do número de inseminações realizadas por vaca durante o estudo.

As doenças com manifestação clínica, com início no momento do último parto até 90 dias após a confirmação da prenhez, foram identificadas em planilha de coleta de dados para posterior análise de possíveis influências na reprodução. As avaliações iniciavam logo após o parto, em frequência quinzenal em três fazendas (Fazendas 2, 3 e 4) e semanal em outra (Fazenda 1).

Coleta e processamento de amostras

Amostras de sangue foram coletadas de todos os animais no primeiro dia do protocolo de IATF (D0). As coletas foram realizadas acessando o complexo arteriovenoso coccígeo com sistema de coleta a vácuo em três tubos, um contendo EDTA, um com ativador de coágulo para obtenção de soro sanguíneo e outro com fluoreto de sódio como agente antiglicolítico. Após centrifugação, amostras de soro e plasma foram armazenadas em tubos plásticos de 1,5 ml e congeladas a -20°C, imediatamente após a obtenção e, posteriormente, enviadas para análises.

As amostras de soro sanguíneo foram encaminhadas para o Laboratório de Virologia (LabVir/UFPel) para diagnóstico de IBR e BVD através da técnica de soroneutralização (SN), descrita por Fischer *et al.* (2007). Para isso foram utilizadas as estirpes virais BoHV-1 LA e BVDV NADL. O diagnóstico de leptospirose foi realizado por teste de aglutinação microscópica (MAT), segundo critérios recomendados pela Organização Mundial da Saúde

Animal (OIE). As amostras foram processadas pelo laboratório veterinário Vertá, na cidade de Passo Fundo/RS, assim como o diagnóstico de Neosporose, realizado por ELISA (Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay).

As concentrações plasmáticas de NEFA, beta-hidroxibutirato (BHB), cálcio, albumina, glicose e haptoglobina foram determinadas em analisador bioquímico automático (LabmaxPlenno, Labtest[®], Lagoa Santa, MG, Brasil), utilizando kits comerciais deste equipamento no laboratório do Nupec Hub – TM (Pelotas/RS). A partir da amostra de sangue total (com EDTA) foi determinado o volume globular (%), por técnica de microhematócrito.

Uma alíquota de 1 ml de sangue total foi acondicionada em tubo plástico livre de DNase e RNase, congelada a -70°C e, posteriormente, destinada à extração de DNA. Estas amostras foram submetidas à extração de DNA genômico e qPCR para diagnóstico de Babosiose e Anaplasmosose.

Análise Estatística

Para as análises estatísticas, as vacas foram alocadas em dois grupos conforme o resultado do diagnóstico de gestação (Prenhe e Não prenhe) e foram comparadas de acordo com as fazendas. Dados numéricos foram testados quanto à normalidade, utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Para comparações entre os grupos foram utilizados o teste de Tukey (dados paramétricos), Wilcoxon (dados não paramétricos) e Qui-quadrado ou Exato de Fisher (variáveis categóricas). Ainda, foram realizadas análises de correlação entre as variáveis bioquímicas, hematócrito e dados de número de cópias de DNA dos agentes infecciosos da tristeza parasitária bovina. As análises foram realizadas no software JMP Pro 14 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), sendo considerado significativo $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

Observou-se que vacas que apresentaram uma alta incidência de doenças ao longo do experimento apresentaram uma probabilidade 3,7 vezes maior de não concepção. A taxa de concepção em animais que experimentaram eventos de doença foi de 41,18%, enquanto animais que não manifestaram distúrbios de saúde apresentaram uma taxa de concepção de 72,90%. As doenças clínicas diagnosticadas foram metrite e endometrite.

É pertinente destacar que diferenças significativas foram identificadas entre as fazendas participantes, sendo a Fazenda 3 aquela que apresentou a mais elevada taxa de concepção (Figura 2). Além disso, essa fazenda exibiu menor porcentagem de ocorrência de doenças, em comparação com a Fazenda 2, porém não diferindo das demais. Ainda, a Fazenda 3 teve uma menor detecção de *Anaplasma marginale*, em comparação com as Fazendas 1 e 2.

Os ácidos graxos livres mostraram diferença ($P < 0,05$), sendo mais elevados em vacas prenhas em comparação com as não prenhas (Tabela 1). Porém, não foram observadas diferenças significativas para os níveis de albumina, BHB, cálcio, glicose, haptoglobina e hematócrito entre os dois grupos.

Quanto à quantidade de cópias de DNA de *Anaplasma marginale*, foi significativamente menor em vacas prenhas em comparação com as não prenhas (Tabela 1). Para *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos de vacas prenhas e não prenhe.

A tabela 2 apresenta a matriz de correlação em que foram avaliados os dados independente do diagnóstico de gestação e das fazendas, entre hematócrito, parâmetros bioquímicos e o número de cópias de DNA de *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*. Houve uma correlação positiva entre hematócrito e os níveis de haptoglobina ($P < 0,05$). A glicose apresentou uma correlação negativa com BHB ($P < 0,05$). Os AGL mostraram uma correlação positiva com a concentração de cálcio ($P < 0,05$). No entanto, a

concentração de cálcio apresentou uma correlação negativa com a *Babesia bigemina* ($P < 0,05$). Não foram observadas correlações relevantes entre as outras variáveis analisadas.

O presente estudo propicia uma visão abrangente das interações complexas entre saúde reprodutiva, incidência de doenças, parâmetros sanguíneos e carga genética de patógenos em vacas leiteiras da raça Holandês na Região Nordeste do estado do Rio Grande do Sul. Ao examinar a associação entre a condição de prenhez e a incidência de doenças, observou-se um efeito importante das doenças sobre a não concepção. Esses resultados corroboram com a relevância da saúde geral do animal para a eficiência reprodutiva, alinhando-se com estudos prévios que destacaram o impacto negativo das enfermidades no sucesso reprodutivo do rebanho (LUCHTERHAND *et al.*, 2016; GILBERT, 2016; VILLA *et al.*, 2022). Entre os agentes causadores de doenças infecciosas, vários microrganismos, como vírus, bactérias e protozoários, e até mesmo toxinas produzidas por fungos podem, isoladamente ou em associação, ocasionar distúrbios da reprodução em bovinos (VANROOSE *et al.*, 2000). Já para as doenças metabólicas autores, descrevem que o desequilíbrio transitório de várias vitaminas e minerais levam a alterações na função imunológica, acarretando inúmeras doenças metabólicas tais como hipocalcemia e cetose, que podem afetar a reprodução (GILBERT, 2016).

A literatura sustenta que vacas diagnosticadas com doenças no intervalo do parto à cobertura/inseminação manifestam reduções no potencial de clivagem do zigoto, afetando a sua sobrevivência até a fase de mórula, o que influencia a liberação de interferon tau (IFN- τ) durante o reconhecimento da gestação, resultando em perdas gestacionais e na redução do número de gestações e de partos por cobertura (RIBEIRO *et al.*, 2016). As consequências das doenças persistem além da resolução clínica, impactando negativamente a fertilidade de vacas com mais de duas lactações, exigindo um período duas vezes mais longo para concepção em comparação com vacas saudáveis (MASIA *et al.*, 2022), concordando com nossos resultados.

A variação significativa entre as fazendas participantes é um ponto crucial a ser considerado. A fazenda 3 destacou-se com a mais alta taxa de concepção e a menor incidência de doenças, indicando a eficácia das práticas de manejo sanitário adotadas nesse ambiente específico. Essa observação é consistente com a literatura que destaca a importância da gestão ambiental na promoção da saúde e reprodução do rebanho (GIFFORD *et al.*, 2020). Ainda, a detecção reduzida de *Anaplasma marginale* na fazenda 3 sugere um papel significativo dessa bactéria na eficácia reprodutiva.

A análise dos parâmetros sanguíneos revelou diferença nos AGL entre vacas prenhes e não prenhes, porém ambos os grupos apresentaram valores baixos deste metabólito em relação aos níveis fisiológicos no presente estudo. Em geral, a literatura indica uma associação entre o metabolismo lipídico e a fertilidade, porém demonstrando relação inversa entre AGL e concepção (LEROY *et al.*, 2008), diferindo de nossos resultados.

Estudos que mediram a associação de diferentes pontos de corte de NEFA e BHB elevados com resultados de doenças, medidas reprodutivas e produção de leite ajudaram na identificação mais precisa de animais com má adaptação ao balanço energético negativo (BEN) (OLIVEIRA *et al.*, 2014; GONZÁLEZ *et al.*, 2009). Os pontos de corte de NEFA pós-parto relatados para a previsão de problemas de saúde variaram entre 0,70 e 1,0 mEq/l (CHAPINAL *et al.*, 2011; OSPINA *et al.*, 2010; LEBLANC *et al.*, 2006;), estando as médias encontradas neste estudo abaixo deste ponto de corte. Já para BHB o ponto corte relatado pela literatura se encontra entre 0,579 e 1,066mmol/L (POGLIANI & BIRGEL JÚNIOR, 2007).

Quanto ao hematócrito podemos observar nesse trabalho que não é um exame que reflete a realidade da saúde sanguínea, pois mesmo com valores de hematócrito dentro da faixa da normalidade para bovinos, foi constatado parasitemia para *Anaplasma marginale* e *Babesia* sp. Assim, além do hematócrito, são necessários outros exames, como sorologia, PCR ou microscopia para detectar a presença dos agentes infecciosos no sangue dos animais

(ALFREDO *et al.*, 2005). Ainda, Rahal *et al.* (2023) observou uma tendência de maiores valores de hematócrito em novilhas taurinas não prenhes, efeito este que não foi observado em vacas leiteiras em lactação, neste estudo.

A análise da carga genética dos patógenos destacou uma menor quantidade de DNA de *Anaplasma marginale* em vacas prenhes. Este achado reforça a relação entre a presença desse patógeno e a não concepção, corroborando com estudo anterior realizado por Kocan *et al.* (2003), que identificaram a associação entre infecção por *Anaplasma spp.* e problemas reprodutivos em bovinos.

Ainda, a matriz de correlação fornece insights adicionais sobre as complexas interações entre os parâmetros bioquímicos, hematócrito e carga genética dos patógenos analisados. A correlação positiva entre hematócrito e haptoglobina indica uma possível resposta inflamatória (GRUYS *et al.*, 2005), sugerindo a presença de eventos subclínicos que podem influenciar a saúde do animal.

A correlação inversa entre os níveis de glicose e BHB pode ser explicada pelo fato de os animais se encontrarem-se em pico de produção, caracterizado por uma elevada demanda energética e, conseqüentemente, pela maior mobilização lipídica (GONZÁLEZ *et al.*, 2009; POGLIANI & BIRGEL JÚNIOR, 2007). Conforme Santos (2011), o fígado possui uma capacidade limitada de metabolização dos AGL, sendo o excesso eliminado pela cetogênese quando há baixos níveis disponíveis de glicose, o que explica a relação inversa entre glicose e BHB neste estudo.

A correlação positiva entre AGL e cálcio revela uma interação complexa entre o metabolismo lipídico e o equilíbrio mineral. Porém, estudos que avaliam o metabolismo pós-parto de vacas leiteiras evidenciam resultados diferentes, nos quais os altos níveis de NEFA costumam ser acompanhados por baixos níveis séricos de cálcio, em vacas com alto desafio metabólico (GONZÁLEZ *et al.*, 2009; GONZÁLEZ *et al.*, 1997).

A associação negativa entre cálcio e *Babesia bigemina* sugere que patógenos específicos podem modular o equilíbrio mineral, como demonstrado em equinos (MARTINEZ *et al.*, 2012; CLEMENS *et al.*, 2015). Ainda, a redução dos níveis sanguíneos de cálcio pode acarretar diminuição das reservas de células de defesa, comprometendo diretamente a resposta imunológica, o que contribui para um estado de imunossupressão, conforme documentado por CLEMENS (2015) e MARTINEZ (2012). Assim, os baixos níveis de cálcio podem contribuir com o agravamento da parasitemia, como observado em nosso estudo.

Em resumo, este estudo fornece uma visão abrangente das múltiplas facetas que influenciam a saúde reprodutiva em vacas leiteiras da raça Holandês. As implicações práticas destas descobertas são substanciais, destacando a importância de estratégias de manejo integradas que considerem não apenas a condição de prenhez, mas também a incidência de doenças, parâmetros sanguíneos e carga genética de patógenos. Esta abordagem holística é fundamental para otimizar o desempenho reprodutivo do rebanho e, por conseguinte, garantir a sustentabilidade da indústria leiteira.

Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que a presença de doenças e distúrbios metabólicos comprometem a taxa de concepção de vacas leiteiras da raça holandês no Nordeste do RS. Além disso, a tristeza parasitária bovina, uma doença que nem sempre é considerada relevante para a reprodução, mostrou-se associada a uma menor taxa de concepção dos animais.

Referências

ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Doenças infecciosas que impactam a reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 133-139, 2017. Disponível em: < <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-17196>>. Acessado em: dez. 10. 2023.

- ALFREDO, A. A. N *et al.* Serological survey of *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle in Tete Province, Mozambique. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, n. 2, p. 121-131, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:TROP.0000048513.80797.97>
- AONO, F. H. *et al.* Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. **Theriogenology**, v. 79, n. 2, p. 242-248, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.008>
- CHAPINAL, N. *et al.* The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 4897-4903, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4075>
- CLEMENS, R. A.; LOWELL, C. A. Store-operated calcium signaling in neutrophils. **Journal of Leucocyte Biology**, v. 98, n. 4, p. 497-502, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.2MR1114-573R>
- CONTRERAS, G. A.; SORDILLO, L. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n. 3, p. 281-289, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.01.004>
- FISCHER, G. *et al.* Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. **Vaccine**, n. 25, p. 1250-1256, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.10.005>
- GIFFORD, C. A. *et al.* Environmental management practices and their association with reproductive performance in US dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 3, p. 2858-2869, 2020. DOI: <https://doi.org/10.17863/CAM.82548>
- GILBERT, R. O. Management of reproductive disease in dairy cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 387-410, 2016. DOI: [10.1016/j.cvfa.2016.01.009](https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.009)
- GONZÁLEZ, F. *et al.* Indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática no início da lactação em vacas leiteiras de alta produção. Belo Horizonte, MG, outubro, 2009, **Anais... VIII Congresso Brasileiro de Buiatria**, p. 64-69, 2009. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/issue/view/730>. Acessado em: set. 16, 2023.
- GONZÁLEZ, F. H. D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, 1997. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2013/05/gonzalez_perfilvacas_rev.pdf. Acesso em: set. 07, 2024
- GRUYS, E. *et al.* Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal of Zhejiang University - SCIENCE B**, v. 6, n. 11, p. 1045-1056, 2005. DOI: [10.1631/jzus.2005.B1045](https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B1045)
- HENRIQUE, J. *et al.* Análise da cadeia agroindustrial do leite. **Revista Brasileira de Pesquisas Agrícolas**, v. 1, n. 02, p. 2, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/346396926_Analise_da_cadeia_agroindustrial_do_leite. Acessado em: out. 05, 2023.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017.

KOCAN, K. M *et al.* Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 4, p. 698-712, 2003. DOI: 10.1128/cmr.16.4.698-712.2003

LEBLANC, S. J *et al.* Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1267-1279, 2006. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72195-6

LEROY, J. L. M. R *et al.* Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part II mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 5, p. 623-632, 2008. doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00961.x

LUCHTERHAND, K. M *et al.* Association between prepartum feeding behavior and periparturient health disorders in dairy cows. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, p. 65, 2016. doi: 10.3389/fvets.2016.00065

MARTINEZ, N. *et al.* Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 7158-7172, 2012. DOI: 10.3168/jds.2012-5812

MASIA, F. *et al.* Quantifying the negative impact of clinical diseases on productive and reproductive performance of dairy cows in central Argentina. **Livestock Science**, v. 259, n. e. 104894, 2022. DOI: 10.1016/j.livsci.2022.104894

NASEM - National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition**. Washington, DC: National Academies Press, p. 143, 2021.

OLIVEIRA, R.S.B.R *et al.* Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras com baixo escore de condição corporal no periparto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 362-368, 2014. DOI:A 10.1590/S0100-736X2014000400011

OSPINA, P.A *et al.* Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 546-554, 2010. DOI:: 10.3168/jds.2009-2277

POGLIANI, F. C.; JUNIOR, E.B. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 373-383, 2007. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2007.26621

RAHAL, N.M. *et al.* Association between chronic *Anaplasma marginale* and *Babesia spp.* infection and hematological parameters of taurine heifers. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 32, n. 3, p. e006423, 2023. DOI: 10.1590/S1984-29612023052

RIBEIRO, E.S. *et al.* Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 3, p. 2201-2220, 2016. DOI: 10.3168/jds.2015-10337

SANTOS, JEP *et al.* Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. IN: LUCY, I *et al.* **Reproduction in Domestic Ruminants VII**, p. 387-403, 2011

SARTORI, R. *et al.* Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. **Animal Reproduction (AR)**, v. 13, n. 3, p. 300-312, 2018. DOI: 10.21451/1984-3143-AR873

SILVA, T.F *et al.* Tristeza parasitária bovina: Revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e15410111631, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i1.11631.

VANROOSE, G *et al.* Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60, n. 2, p. 131-143, 2000. DOI: 10.1016/S0378-4320(00)00098-1

VILELA, D *et al.* Efeito do concentrado no desempenho produtivo, reprodutivo e econômico de vacas da raça Holandesa em pastagem de *coast-cross*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n.2, p. 443-450, 2007. DOI: 10.1590/S0102-09352007000200026

VILLA, L *et al.* The Utility of Serological Analysis for *Neospora caninum* Infection in Dairy Cattle Farms Management: Serological Investigation and Evaluation of the Effects on Reproductive and Productive Performances in Two Study Herds in Northern Italy. **Animals**, v. 12, n. 6, p. 786, 2022. DOI: 10.3390/ani12060786

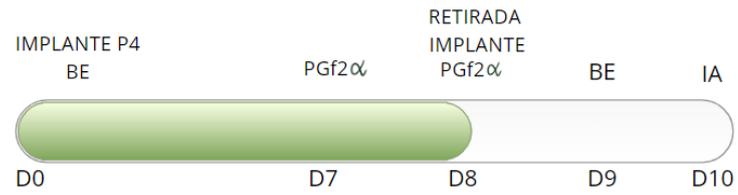


Figura 1. Protocolo utilizado no experimento, com manejos nos dias zero, sete, oito, nove e dez (D0, D7, D8, D9 e D10).

BE (benzoato de estradiol); IMPLANTE P4 (dispositivo intravaginal de progesterona 1,9g); PGf2 α (cloprostenol sódico); IA (inseminação artificial).

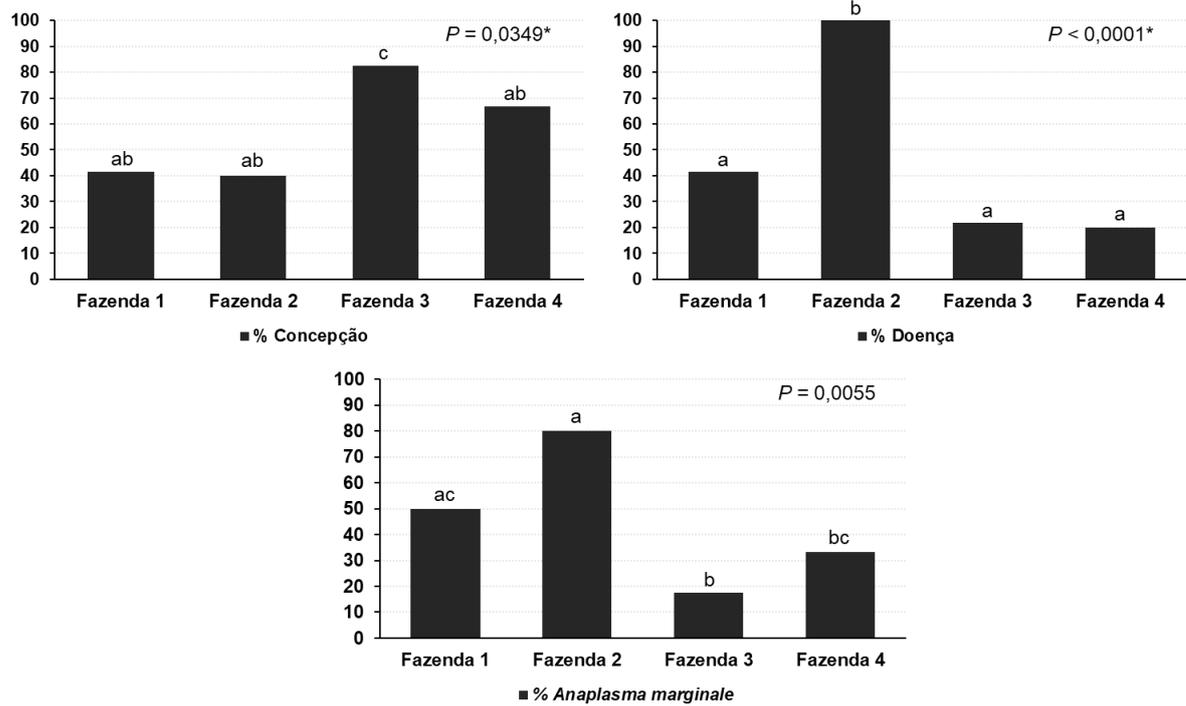


Figura 2. Taxas de concepção e percentuais de doença e de infecção por *Anaplasma marginale* em vacas da raça Holandês da Região Nordeste do estado do Rio Grande do Sul.

Obs.: Valor de P obtido em teste de Qui-quadrado. *Valor de P obtido em teste Exato de Fisher. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$) no teste de Qui-quadrado.

Tabela 1 - Média e desvio padrão de hematócrito, parâmetros bioquímicos e número de cópias de DNA de *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* e *B. bovis* de acordo com a concepção em vacas leiteiras da raça Holandês da região nordeste do estado do Rio Grande do Sul.

Variável	Concepção		P
	Prenhas	Não prenhas	
Hematócrito (%)	29,89 ± 3,70	30,36 ± 3,63	0,857 ¹
Ácidos Graxos Livres (mmol/l)	0,218 ± 0,14	0,155 ± 0,04	0,016 ²
Albumina (g/dl)	3,10 ± 0,29	2,97 ± 0,27	0,394 ¹
B-hidroxibutirato (mmol/l)	0,730 ± 0,31	0,806 ± 0,36	0,334 ²
Cálcio (mg/dl)	9,95 ± 0,56	9,68 ± 0,69	0,109 ¹
Glicose (mg/dl)	63,60 ± 13,40	64,40 ± 7,07	0,453 ¹
Haptoglobina (mg/dl)	2,05 ± 2,10	2,20 ± 3,30	0,330 ²
<i>Anaplasma marginale</i> (n° de cópias de DNA)	4,2×10 ¹² ± 2,4×10 ¹²	7,1×10 ¹² ± 2,8×10 ¹³	0,023 ²
<i>Babesia bigemina</i> (n° de cópias de DNA)	1,6×10 ¹⁰ ± 1,0×10 ¹⁰	1,3×10 ¹⁰ ± 8,5×10 ⁹	0,876 ²
<i>Babesia bovis</i> (n° de cópias de DNA)	1,3×10 ⁻⁶ ± 1,2×10 ⁻⁶	1,4×10 ⁻⁸ ± 6,6×10 ⁻⁹	0,412 ²

¹Valor de P obtido no Teste de Tukey (P <0,05). ²Valor de P obtido no Teste de Wilcoxon (P <0,05).

Tabela 2 - Matriz de correlação entre hematócrito, parâmetros bioquímicos e número de cópias de DNA de *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* e *B. bovis* de vacas leiteiras da raça Holandês da região norte do Rio Grande do Sul.

Variáveis	Hematócrito	Glicose	AGL	Haptoglobina	Cálcio	BHB	Albumina	CN <i>B. bovis</i>	CN <i>B. bigemina</i>	CN <i>B. marginale</i>
Hematócrito	1,0000	0,0656 ¹	0,1440 ²	0,3287* ²	0,0898 ¹	-0,2662 ²	-0,1271 ¹	0,1274 ²	-0,1935 ²	-0,1257 ²
Glicose		1,0000	-0,1164 ²	0,2040 ²	-0,1150 ¹	-0,4116* ²	-0,1833 ¹	-0,1883 ²	0,1115 ²	0,0264 ²
AGL			1,0000	0,0667 ²	0,3094* ²	-0,1151 ²	-0,0388 ²	0,0981 ²	-0,0734 ²	-0,1182 ²
Haptoglobina				1,0000	-0,1869 ²	-0,1502 ²	-0,2405 ²	0,0561 ²	0,0094 ²	0,0353 ²
Cálcio					1,0000	-0,0049 ²	-0,0520 ¹	0,1399 ²	-0,2619* ²	-0,2040 ²
BHB						1,0000	-0,0775 ²	-0,0594 ²	0,0643 ²	0,2655 ²
Albumina							1,0000	-0,0063 ²	-0,0183 ²	-0,1450 ²
CN. <i>B. bovis</i>								1,0000	-0,0547 ²	-0,1058 ²
CN <i>B. bigemina</i>									1,0000	0,1755 ²
CN <i>A. marginale</i>										1,0000

Legenda: AGL - ácidos graxos livres; BHB - β -hidroxibutirato; CM - número de cópias de DNA. ¹r de Pearson (P<0,05). ²p de Speaman (P<0,05).

4 Considerações Finais

Através da literatura consultada e das análises realizadas nesta pesquisa podemos observar que é fundamental o médico veterinário caracterizar os sistemas produtivos e os manejos sanitários dentro dos sistemas leiteiros. Além disso, realizar levantamentos epidemiológicos através de sorologias e exames hematológicos a fim de elucidar e diagnosticar possíveis doenças que possam estar impactando direta ou indiretamente a reprodução dessas fazendas.

Dessa forma, através dos nossos achados, podemos inferir que a ocorrência de doenças e alterações metabólicas influenciam negativamente a taxa de concepção de vacas leiteiras da raça Holandês na Região Norte do Rio Grande do Sul. Além disso, doenças que antes não eram mencionadas como possíveis causas de problemas reprodutivos, como a tristeza parasitária, podem ser sim um fator negativo ligado à reprodução. Para isso, mais estudos devem ser conduzidos para melhor entender a relação entre essas condições e a reprodução de bovinos.

De posse desses resultados, será elaborada uma cartilha para os produtores que participaram deste estudo, bem como demais produtores ligados aos pesquisadores, explicando como estes podem melhorar os índices reprodutivos com cuidados de manejo e sanidade visando a saúde e bem-estar animal.

Referências

- ALVAREZ, J. A.; ROJAS, C.; FIGUEROA, J. V. Diagnostic tools for the identification of *Babesia* sp. in persistently infected cattle. **Pathogens**, v. 8, n. 3, p. 143, 2019.
- BEEF POINT. **Estratégias de controle na Babesia bovina**. Beefpoint educação. 17 de fevereiro de 2009. Disponível em: <https://beefpoint.com.br/estrategias-de-controle-na-babesia-bovina-51756/> Acesso em 20 de dezembro de 2023.
- BOCK, R. *et al.* Babesiosis of cattle. **Parasitology**, v. 129, sup. 51, pp. S247 - S269, 2004.
- CAMARGO, S. A. B.; SEVERO, T. H.; VIDAL, M. B. Controle biológico do carrapato bovino *Rhipicephalus (boophilus) microplus* por aves encontradas no bioma Pampa. In: Congrega, Urcamp, 2017. **Anais...14ª** mostra de Iniciação Científica Congrega, p. 53, 2017.
- CARDOSO, J. M. S. *et al.* Neospora caninum: analysis of reproductive parameters in dairy herds in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 6, p. 459-464, 2012.
- CARNEIRO, M. A. *et al.* Eficiência reprodutiva das vacas leiteiras. **Circular Técnica**, v. 64, p. 4-12, 2010.
- CARVALHO, R. P. *et al.* Neosporose bovina - revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 12, n. 23, p. 1-23, jul. 2014.
- COETZEEA, J. F. *et al.* Comparison of three oxytetracycline regimens for the treatment of persistent *Anaplasma marginale* infections in beef cattle. **Veterinary parasitology**, v. 127, n. 1, p. 61-73, 2005.
- COSTA-JÚNIOR L. M.; RABELO E. M.; MARTINS FILHO O. A. Comparison of different direct diagnostic methods to identify *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in animals vaccinated with live attenuated parasites. **Veterinary Parasitology**, 139:231-236, 2006.
- DIERINGS, C. A.; WILMSEN, M. O. Tristeza parasitária bovina: revisão *tick borne disease*. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 56247-56263, 2021.
- FLORES, E. F. *et al.* A infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, p. 125-134, 2005.
- GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 3. ed. rev. e ampl. Porto Alegre: UFRGS. 2017. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/237269> Acesso em outubro de 2013.

HARRAN, E. *et al.* Epidemiology of leptospirosis: the first literature Review of the neglected disease in the Middle East. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 10, p. 260, 2022.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Pecuária Municipal 2018**. Rio de Janeiro, RJ, 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html> . Acesso em: 27 novembro. 2023.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Rebanho bovino reduz em 2018, em ano de crescimento do abate e exportação**. 20 de setembro de 2020. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/25483-rebanho-bovino-reduz-em-2018-em-ano-de-crescimento-do-abate-e-exportacao> Acesso em: 15 de janeiro de 2024.

JUNQUEIRA, J. R. C.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. **Semina Ciências Agrárias**, v. 27, n. 2, p. 289–298, 2006.

LADRONKA, R. M. *et al.* Prevalence of bovine leukemia virus antibodies in US dairy cattle. **Veterinary Medicine International**, v. 2018, 2018.

LEFKADITIS, M. *et al.* Neospora caninum, A potential cause of reproductive failure in dairy cows from Northern Greece. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 19, e. 100365, 2020.

MARAWAN, M. A. *et al.* Bovine leukaemia virus: Current epidemiological circumstance and future prospective. **Viruses**, v. 13, n. 11, p. 2167, 2021.

MENDES, M. B. *et al.* Determinação da prevalência das principais doenças da reprodução no rebanho bovino da região de Uberaba-MG. **Ciência Animal Brasileira**, p. 772-777, 2009.

MOHAMMED, A. K.; MOHAMMED, G.; AKEREJOLA, O. O. Haematological and serum biochemical changes in Bunaji work bulls after farmland ridging exercise in Kaduna State, Nigeria. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 2007.

MOSSAAD, E. *et al.* Calcium ions are involved in egress of Babesia bovis merozoites from bovine erythrocytes. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 77, n. 1, p. 53-58, 2015.

OLIVEIRA, M. T. *et al.* Detection of bovine herpesvirus 1 and 5 in semen from Brazilian bulls. **Theriogenology**, v. 75, n. 6, p. 1139-1145, 2011.

ORJUELA, A. G.; PARRA-ARANGO, J. L.; SARMIENTO-RUBIANO, L. A. Bovine leptospirosis: effects on reproduction and an approach to research in Colombia. **Tropical Animal Health and Production**, v. 54, n. 5, p. 251, 2022.

PALHANO, H. B. **Representações sociais sobre saúde e doença e indicadores bioprodutivos na produção familiar de leite do município de Rio das Flores**. 2008. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2008.

ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; RESENDE, J. C. Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária. Embrapa Gado de Leite. **Circular Técnica**, n. 123. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2020.

SANTOS, G. B. *et al.* Tristeza Parasitária em bovinos do semiárido pernambucano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1-7, 2017.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 422-432, 2010.

SIBLEY, L. D. Intracellular parasite invasion strategies. **Science**, v. 304, n. 5668, p. 248-253, 2004.

SILVA, J. F. *et al.* Avaliação da soroprevalência de leptospirose em rebanhos leiteiros da região sul do Rio Grande do Sul. In: XXIV Encontro de Pós-Graduação da 8ª Semana Integrada UFPEL, 8, 2022, Pelotas, **Anais do XXIV Encontro de Pós-Graduação da 8ª Semana Integrada UFPEL**, Pelotas: UFPel, 2022.

SILVA, J.B.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z. Low genetic diversity of *Anaplasma marginale* in calves in an endemic area for bovine anaplasmosis in the state of São Paulo, Brazil. **Ticks And Tick-Borne Diseases**, v. 7, n. 1, p. 20-25, 2016.

SOHM, C. *et al.* A systematic review on leptospirosis in cattle: a European perspective. **BioRxiv**, e. 531463, 2023.

SOUZA, G. G. *et al.* *Neospora caninum* infection and reproductive problems in dairy cows from Brazil: A case-control study. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 28, e. 100683, 2022.

WITTEWER, F. G. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado leiteiro. **Doze Leituras em Bioquímica Clínica Veterinária**, p. 70, 2000. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2018/05/Leituras-em-bioqu%C3%ADmica-cl%C3%ADnica.pdf#page=77> Acesso em 05 de outubro de 2023.

APÉNDICE

