

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

Incidência de perdas gestacionais e efeito da vacinação
contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez em
vacas de corte submetidas à inseminação artificial em
tempo fixo.

FERNANDO HENRIQUE SOUZA AONO

Médico Veterinário

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Fevereiro – 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

Incidência de perdas gestacionais e efeito da vacinação
contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez em
vacas de corte submetidas à inseminação artificial em
tempo fixo.

FERNANDO HENRIQUE SOUZA AONO

Médico Veterinário

Orientador: Prof. Ass. Dr José Luiz Moraes Vasconcelos

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Fevereiro – 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

A638i Aono, Fernando Henrique Souza, 1986-
Incidência de perdas gestacionais e efeito da vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez em vacas de corte submetidas à inseminação artificial em tempo fixo / Fernando Henrique Souza Aono. - Botucatu : [s.n.], 2012 iii, 77 f.: grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2012

Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos
Inclui bibliografia

1. IBR. 2. BVD. 3. Leptospirose. 4. Aborto. 4. Embrião.
I. Vasconcelos, José Luiz Moraes. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais **FERNANDO LUIS AONO** e **NATALINA DE SOUZA AONO**, pelos exemplos de humildade, honestidade e perseverança, pelas orações, pelo amor e dedicação incondicional, e por sempre me apoiarem na realização dos meus objetivos.*

AGRADECIMENTOS

À Deus e ao Santo São Bento, por estarem ao meu lado, me guiando e protegendo em todas etapas de minha vida.

Aos meus pais pela educação, dedicação e apoio em todas as decisões que tomei durante a minha vida.

A toda minha família, especialmente a minha irmã Natália e minhas avós Dona Neninha e Dona Lucia, por serem exemplos de força.

A minha noiva Paola pelo incentivo, dedicação e compreensão;

Ao meu amigo e orientador Professor Zequinha (José Luiz Moraes Vasconcelos), pela oportunidade, pelos conselhos, pela rigidez e por ter proporcionado amadurecimento, tanto pessoal, quanto profissional.

Aos meus ex-supervisores e hoje amigos, Catarina, Isaias, Ocilon e Rogério pelo incentivo, pelo aprendizado, pelo exemplo de dedicação e pelos bons momentos de convívio durante os projetos de pesquisas.

Ao Professor Reinaldo Cooke pela vital contribuição nas análises estatísticas, e por estar disposto a ajudar sempre que precisei.

Aos Professores Dr. Amauri Alcindo Alfieri e Antonio Carlos Paes por participarem da banca do Exame Geral de Qualificação. e pelas sugestões pertinentes ao trabalho.

Aos Professores Dr. Amauri Alcindo Alfieri e Marcos Bryan Heinemann por participarem da banca examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado e pelas sugestões pertinentes para melhora deste trabalho.

Aos amigos Adnan, Daniel Lopes, Edmar Dojas e Paulo Sergio, pelo auxílio na execução dos experimentos, pelo convívio e pelas sugestões pertinentes ao trabalho.

Aos estagiários: Adnan, Alexandre, José e Marcelo pela amizade, convívio e auxílio na execução dos experimentos.

Aos amigos de Pós-Graduação Adnan, Augusto, Everton, Fernanda, Lucas, Marcos e Thiago pelo convívio, colaborações e distrações proporcionados.

A todas as Fazendas por disponibilizarem os animais, a estrutura, e principalmente os vaqueiros, que foram essenciais para realização desses experimentos, que além das muitas horas de trabalho, proporcionou momentos de muita risada e trocas de experiências durante o período que trabalhamos juntos.

À Pfizer Saúde Animal, em nome de Carlos Scalon, Doil, Fernanda Hoe, Gutão, Lupercio e Mauro Meneghetti por terem cedido à maioria dos produtos utilizados nos experimentos realizados nessa dissertação e por toda confiança e contribuição nas diferentes etapas deste estudo.

A equipe da Marca Agropecuária (Grupo Carlos Elias), principalmente aos amigos, Aleandro e Domingos Junior pelo apoio e pelo convívio ao longo da minha permanência na região de Rio Branco (AC).

Ào CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo suporte financeiro.

A todos os profissionais, que tive a oportunidade de conhecer e pude aprender ao longo do meu período de estágios.

Aos técnicos da Seção de Graduação ou Pós-Graduação da UNESP–Botucatu: Solange, Seila, Barbosa e Carlos por sempre estarem dispostos a ajudar.

E a todos que de alguma forma contribuíram para execução deste trabalho.

Obrigado a todos!

“Vencer é apesar de tudo que possa acontecer, acreditar nas pessoas e saber que por de traz de cada ato humano, por mais difícil que alguém possa parecer há sempre uma intenção positiva para consigo. Vencer é ter a esperança sempre renovada, lembrando que o sol nasce todos os dias e para todos. Vencer é ter um sentimento profundo de fé, força e perseverança mesmo em momentos difíceis.”

Flavio Souza

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
CAPÍTULO 1	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Perda de gestação.....	4
2.1.1. Fertilização e Perda embrionária	4
2.1.2. Perda embrionária tardia/fetal precoce	5
2.1.3. Perda fetal tardia	5
2.2. Doenças da Reprodução.....	6
2.2.1. Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR).....	7
2.2.2. Diarréia viral bovina	13
2.2.3. Leptospirose	19
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	24
CAPÍTULO 2	46
RESUMO.....	47
ABSTRACT	49
1. INTRODUÇÃO	51
2. MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1. Manejo sanitário para doenças da reprodução.....	52
2.2. Experimento 1.....	53
2.2.1. Local experimental, animais e tratamentos.....	53
2.2.2. Análise estatística.....	54
2.3. Experimento 2 e Experimento 3	54
2.3.1. Local experimental, animais e tratamentos.....	54

2.3.2.	Colheita de amostras de sangue para sorologia.....	55
2.3.3.	Análise estatística.....	55
2.4.	Experimento 4.....	55
2.4.1.	Local experimental, animais e tratamentos.....	55
2.4.2.	Análise estatística.....	56
3.	RESULTADOS	57
3.1.	Experimento 1	57
3.2.	Experimento 2 e 3.....	58
3.3.	Experimento 4.....	62
4.	DISCUSSÃO	63
5.	CONCLUSÕES	68
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	68
CAPÍTULO 3	76
CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES.....		76

LISTA DE ABREVIATURAS

- °C – Grau Celsius
- ANUALPEC** – Anuário da Pecuária Brasileira
- BE** – Benzoato de estradiol
- BoHV-1** – Herpesvírus bovino 1
- BRSV** – Vírus respiratório sincicial
- BVD** – Diarreia viral bovina
- BVDV** – Vírus da diarreia viral bovina
- BVDV 1** – Genótipo 1 do vírus da diarreia viral bovina
- BVDV 2** – Genótipo 2 do vírus da diarreia viral bovina
- CIDR** – Dispositivo intravaginal de progesterona.
- CD4+** – Marcadores de Linfócitos T auxiliares
- CD8+** – Marcadores de Linfócitos T citotóxicos
- CP** – Citopatogênico
- CL** – Corpo Lúteo
- D-2** – Dia 2
- D-4** – Dia 4
- D-11** – Dia 11
- D-41** – Dia 41
- DM** – Doença das Mucosas
- ECC** – Escore de Condição Corporal
- ECP** – Cipionato de Estradiol
- g** – grama
- h** – hora
- BoHV 1.1** – Variante biológica 1 do herpesvírus bovino 1
- BoHV 1.2a** – Variante biológica 2a do herpesvírus bovino 1
- BoHV 1.2b** – Variante biológica 2b do herpesvírus bovino 1
- IA** – Inseminação Artificial
- IATF** – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
- IBR** – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
- ICTV (ICTV, 2002)** - *International Committee on Taxonomy of Viruses.*
- IgA** – Imunoglobulina A
- im** – intramuscular
- kb** – *quilobyte*

LH – Hormônio Luteinizante
MDBK – *Madin Darby bovine kidney*
mg – miligrama
MG – Minas Gerais
MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade
MHz – megaHertz
mL – milímetro
MS – Mato Grosso do Sul
MT – Mato Grosso
NCP – Não citopatogênico
n – amostra
nm – nanômetro
P4 – Progesterona
PGF2 α – Prostaglandina F2 alfa
PI – Permanentemente Infectado
PI – Piauí
PR – Paraná
RJ – Rio de Janeiro
RO – Rondônia
RS – Rio Grande do Sul
RTB – Remoção Temporária de Bezerros
SAM – Soroaglutinação microscópica
SP – São Paulo
T CD8 – Linfócitos T citotóxicos
Tecpar – Instituto de Tecnologia do Paraná
TS – Termossensíveis
UEL – Universidade Estadual de Londrina
US – Ultrassonografia
USA – *United States of America*

LISTA DE TABELAS**Página****CAPÍTULO 2**

TABELA 1.....	57
Taxa de prenhez e incidência de perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF segundo, a fazendas (US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; PERDA: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30 ^o e 120 ^o dia) e programa de vacinação realizados nas fazendas.	
TABELA 2.....	58
Incidência de perda gestacional, de vacas Nelore submetidas à IATF, agrupadas de acordo com o programa sanitário utilizados pelas fazendas.	
TABELA 3.....	58
Incidência de perda gestacional, de fêmeas Nelore, submetidas à IATF, de acordo com a categoria de fêmeas utilizadas.	
TABELA 4.....	59
Taxa de prenhez e incidência de perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF segundo, a fazendas (US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; PERDA: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30 ^o e 120 ^o dia) programa de vacinação realizados nas fazendas, de acordo com os experimentos (Exp.2, Exp.3).	

TABELA 5.....	60
Distribuição, de acordo com o experimento, das amostras positivas na pesquisas de anticorpos para BoHV-1, BVDV e <i>Lepitospira</i> spp., pela técnica de soroneutralização e soroaglutinação, em fêmeas da raça nelore criadas em regime extensivo.	
TABELA 6.....	61
Taxas de prenhez e perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF, segundo os tratamentos (Vacina: animais vacinados; Controle: animais controle; US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; Perda: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30 ^o e 120 ^o dia) e de acordo com os experimentos (Exp2 e Exp3).	
TABELA 7.....	62
Taxas de perda de gestação de acordo com a categoria e tratamentos.	
TABELA 8.....	62
Taxas de prenhez e perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF, segundo os tratamentos (Vacina: animais vacinados; Controle: animais controle; US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; Perda: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30 ^o e 120 ^o dia).	

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

A pecuária de corte exige dos produtores eficiência para garantia de retorno econômico. Um sistema de produção lucrativo está relacionado à implementação de tecnologias, e na área de criação de bezerros para corte a eficiência reprodutiva do rebanho destaca-se como um dos principais aspectos responsáveis pelo desempenho econômico da atividade (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Diversos fatores interferem no desempenho reprodutivo, os mais significativos são aqueles relacionados à genética, à nutrição, ao manejo zootécnico dos rebanhos e à sanidade (VANROOSE *et al.*, 2000; RESENDE 2001).

A inseminação artificial estabeleceu-se como ferramenta de maximização da eficiência reprodutiva devido ao avanço do melhoramento genético e por possibilitar o uso de touros e animais de reposição com maior mérito genético. Apesar de sua utilização ainda em pequena escala, tal procedimento vem tendo crescente aumento nos últimos cinco anos (ASBIA 2010), sendo a difusão da técnica de IATF, o fator determinante para este aumento. Os protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) são utilizados para sincronizar a ovulação, permitindo inseminar vacas independente da detecção de cio, conseqüentemente, aumentando as taxas de serviço (PURSLEY *et al.*, 1995; VASCONCELOS *et al.*, 1999). Desta forma é possível inseminar varias vacas em momentos pré determinados, o que possibilita a realização de estudos onde o desempenho reprodutivo é avaliado em momentos específicos.

A sanidade do rebanho representa fator ímpar para o sucesso reprodutivo. Deve-se atentar, em particular, para as infecções que direta ou indiretamente comprometem o trato reprodutivo da fêmea e do macho, assim como também o embrião e o feto (VANROOSE *et al.*, 2000; JESUS 2001). Estudos demonstram que taxas de fertilização são relativamente altas, variando de 80 a 90% (DUNNE *et al.*, 2000; DISKIN & MORRIS 2008), porem aproximadamente aos 30 dias são observadas taxas de concepção em torno de 35 a 45% (SARTORI *et al.*, 2002) o que mostra que as perdas são altas nas fases iniciais de gestação (AYALON 1978; LUCY 2001).

No Brasil, estudos demonstram altos percentuais de soroconversão em fêmeas bovinas para o herpesvírus bovino 1 (BoHV-1); vírus da diarreia viral bovina (BVDV); e *Leptospira hardjo* (*L. hardjo*). A Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR), a Diarreia Viral Bovina (BVD) e a Leptospirose, tanto de forma isolada quanto em associação, ocorrem em expressivo percentual dos rebanhos bovinos brasileiros (FLORES *et al.*, 2005; JUNQUEIRA & ALFIERI 2006; JUNQUEIRA *et al.*, 2006; TAKIUCHI *et al.*,

2001). Entretanto a importância, controle sanitário para a prevenção das doenças da reprodução ainda é subestimada.

Doenças infecciosas estão relacionadas a cerca de 37 a 50% das causas de perdas de gestação (KHODAKARAM-TAFI & IKEDE 2005; MCEWAN & CARMAN 2005). Dentre as enfermidades, a Leptospirose, IBR e BVD correlacionam-se às desordens reprodutivas (GROOMS 2010a). O vírus da IBR possui efeito negativo na fertilidade, pois influencia a qualidade dos embriões, causa morte embrionária e abortos (KELLING 2007). A diarreia viral bovina está associada à infertilidade, morte embrionária e fetal, pode gerar bezerros com má formação congênita (FRAY *et al.*, 2000; GROOMS 2004). Estima-se que 70 a 90% das infecções por BVDV ocorram sem a manifestação de sinais clínicos e que o principal problema econômico é decorrente da infecção intrauterina, que pode estar associada à morte embrionária e aborto (GROOMS 2004; GROOMS *et al.*, 2007). A Leptospirose também pode causar morte fetal, abortos e infertilidade (MINEIRO *et al.*, 2007; GROOMS 2010b).

Mundialmente, as perdas reprodutivas são consideradas responsáveis pela maior causa de queda econômica isolada para os produtores de bovinos (DUNNE *et al.*, 2000; BERG *et al.*, 2010). Segundo Geary (2008), cerca de 40 milhões de vacas e novilhas de corte expostas anualmente à reprodução nos Estados Unidos, tem como perdas anuais números superiores a 2,2 bilhões de Reais devido à mortalidade embrionária. Calcula-se então que, no Brasil, com mais de 95 milhões de vacas de corte anualmente em reprodução (ANUALPEC 2011), as perdas causadas pela mortalidade embrionária podem ser maiores. Portanto, a identificação de medidas estratégicas contra os principais agentes infecciosos e a utilização de programas de prevenção eficazes tornam-se extremamente necessárias.

Há poucos trabalhos sobre perdas gestacionais destinados aos bovinos de corte, entretanto constata-se em diversos trabalhos a alta incidência de perdas gestacionais em vacas de leite (VASCONCELOS *et al.*, 1997; GEARY 2008; SARTORI 2004). Torna-se de suma importância a realização de pesquisa específica sobre vacas de corte, para que seja possível visualizar o impacto na produtividade e economia da pecuária de corte brasileira.

O objetivo deste trabalho foi determinar a incidência de perdas gestacionais em vacas de corte e avaliar o efeito da vacina contra IBR/BVD/Leptospirose na taxa de prenhez e perdas de gestação entre 30 e 120 dias de vacas submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

Sendo esperadas as hipóteses: 1) A eficiência reprodutiva é variável entre fazendas. 2) A utilização preventiva de vacina para doenças da reprodução como IBR, BVD e Leptospirose aumentam a eficiência reprodutiva de vacas submetidas a IATF.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Perda de gestação

Procurando definir corretamente questões relacionadas aos termos reprodutivos bovinos, o “Committee on Bovine Reproductive Nomenclature” (1972), passou a estabelecer que o período embrionário inicia-se da concepção a aproximadamente 42 dias de gestação e que o período fetal estende-se do 42º dia de prenhez ao nascimento do bezerro. Dessa forma, entende-se que a perda gestacional antes do 24º dia indica perda embrionária precoce; entre os dias 24 e 42 indica perda embrionária tardia; e após o 42º dia, é caracterizado como perda fetal.

2.1.1. Fertilização e Perda embrionária

Estudos realizados indicam taxas de fertilização de 90% em bovinos corte e leite (DISKIN & MORRIS 2008), o que sugere que a mortalidade embrionária seja a maior responsável pela baixa eficiência reprodutiva após a inseminação (AYALON 1978; LUCY 2001). De acordo com Lucy (2001), a taxa de fertilidade de vacas leiteiras vem declinando com o decorrer do tempo, se comparado com cerca de 20-25 anos atrás. Dados de estudos realizados em novilhas mostraram que após a inseminação entre o 2º e 16º dia (DUNNE *et al.*, 2000) houve a caracterização de altas taxas de fertilização, sendo calculada a média de 88%. Resultados encontrados por Sartori *et al.* (2002) indicam que há redução das taxas de fertilização com o aumento da produção leiteira, sendo observado taxas de concepção entre 27 à 31 dias após a IA são geralmente de 35 à 45% em bovinos de leite.

Os métodos utilizados para avaliar mortalidade embrionária precoce em bovinos tem sido abater animais em intervalos específicos após a inseminação, e coletar embriões/óvulos do oviduto ou útero. Trabalhos utilizam a coleta de embriões *in-vivo* do útero por lavados uterinos. Muitos desses estudos sobre perda embrionária foram realizados há mais de 30 anos (AYALON, 1978; ROCHE *et al.*, 1981). Trabalhos de avaliação em vacas de corte com alta incidência de infertilidade, verificaram perda embrionária em torno de 39% da concepção até o 7º dia de gestação (AYALON 1978; ROCHE *et al.*, 1981). Dunne *et al.* (2000) não observaram diferenças na sobrevivência

da prole nos dias 14, 30 ou ao parto em novilhas de corte, sugerindo que as perdas ocorreram antes do 14º dia.

2.1.2. Perda embrionária tardia/fetal precoce

Quando a mortalidade embrionária tardia foi comparada à mortalidade fetal precoce, a maioria das perdas ocorram antes do estágio fetal (VASCONCELOS *et al.*, 1997). Através da ultrassonografia e de outros métodos para diagnóstico precoce de prenhez, estão sendo permitidos estudos para caracterizar a extensão de perdas embrionárias tardias em bovinos. Humblot (2001) avaliou perdas embrionárias de vacas Holandesas em 44 rebanhos da França e observou que a mortalidade precoce e tardia após as primeiras IA eram de 31,6 e 14,7%, respectivamente.

Os poucos estudos que avaliaram mortalidade embrionária tardia/fetal precoce em bovinos de corte, ou novilhas de leite descreveram incidências baixas ($\leq 10\%$) de perda (SARTORI 2004), exceto em novilhas e vacas de corte receptoras de embriões produzidos *in vitro* que apresentaram 15,5% de perda embrionária entre 30-60 dias (REIS *et al.*, 2004). Um estudo na Califórnia em vacas de leite relatou mortalidade do embrião/feto de 19% quando o diagnóstico foi realizado entre os dias 28 e 90 (SANTOS *et al.*, 2001). Silke *et al.*, (2002) descreveram baixas taxas de mortalidade (3,2%) entre o 28º e 42º dia de gestação, sendo interessante observar que neste estudo as vacas (leite) eram manejadas a pasto.

2.1.3. Perda fetal tardia

Em bovinos, as perdas fetais são geralmente menos predominantes que as perdas embrionárias sendo, geralmente, a causa da morte fetal indeterminada. Os estudos com bovinos de leite indicam que a perda gestacional é variável, sendo encontrado em vacas de leite, uma incidência alta ($\geq 20\%$) de perdas gestacionais após diagnóstico de gestação entre de 28 e 45 dias (PURSLEY *et al.*, 1998; VASCONCELOS *et al.*, 1999; SARTORI *et al.*, 2003). Segundo Romano (2004) a perda gestacional nos primeiros quatro meses de gestação foi de 19,2 % (106/551). Sendo observado que a perda de gestação entre 30 a 45, 46 a 60, 61 a 75 e 76 a 120 dias eram de 10,9%, 4,3%, 2,3% e 3,1%, respectivamente. Vasconcelos *et al.*, (1997) observaram perda gestacional de 24,7% em vacas de leite submetidas a avaliação gestacional precoce por ultrassom, entre 28 dias após a inseminação até o parto. Resultados na Irlanda indicam taxa similar de perda da prenhez ao longo dos primeiros 80-90 dias de gestação (SILKE *et al.*, 2002).

Estudos em que o diagnóstico gestacional precoce foi realizado com subsequente acompanhamento da gestação até o momento do parto, descreveram perdas gestacionais de 8,6% (SZENCI *et al.*, 1998) e 22% (PURSLEY *et al.*, 1998). Santos e colaboradores (2004) afirmam que, perdas de prenhez em vacas de leite do momento da fecundação até o nascimento possa representar até 60%.

Pouco é conhecido sobre a morte embrionária e fetal em bovinos e poucos estudos fornecem uma descrição desse processo (FORAR *et al.*, 1995). Esses resultados conflitantes sugerem que vários fatores influenciam diretamente ou indiretamente na sobrevivência embrionária/fetal em bovinos.

Alguns estudos atribuem aos agentes infecciosos, fatores ambientais e fatores iatrogênicos as perdas embrionárias e fetais (VANROOSE *et al.*, 2000). As causas de perda gestacional, na maioria dos casos, são desconhecidas. Vários autores relatam sobre a dificuldade de se determinar a etiologia de abortos bovinos em todo o mundo. Nos EUA, de 3.812 abortos somente 23,3% teve etiologia esclarecida (HUBBERT *et al.*, 1973); na Austrália, de 265 abortos somente 37% teve a sua causa definida (JERRETT *et al.*, 1984); no Canadá, somente 23% de 227 abortos tiveram as causas detectadas, enquanto outro estudo mostrou que, de 2.544 abortos apenas 35,3% tiveram etiologia determinada (KIRKBRIDE *et al.*, 1973).

2.2. Doenças da Reprodução

O desempenho reprodutivo está relacionado a vários fatores, como detecção de cio, fertilidade do rebanho e à incidência de doenças da reprodução. Doenças no periparto, principalmente reprodutivas, foram associadas a eficiência aquém da almejada devido aos baixos índices de produtividade (CAVAZINI 2008).

As principais doenças que comprometem a reprodução de bovinos são a IBR, BVD e Leptospirose. Estas infecções podem causar falhas na ovulação, diminuição na qualidade dos oócitos, perdas embrionárias e fetais (GROOMS *et al.*, 2007; KELLING, 2007; GROOMS 2010a;).

Em estudos realizados na região Sul do país, Rabassa *et al.* (2005), observaram que em vacas submetidas à IATF, a taxa de concepção aos 45 dias era de 70%, enquanto que no diagnóstico de gestação, quatro meses após a IATF, a taxa de prenhez foi de 20%, indicando que houve morte embrionária ou fetal entre 45 e 120 dias de gestação. Demonstrou-se a presença de doenças infecciosas como Leptospirose, IBR e BVD nos animais em experimento. Segundo Santos *et al.* (2004) o Laboratório de Diagnósticos Veterinários da Universidade da Califórnia de Davis ao

estudar as causas de abortos de fetos entre os anos de 1998 e 2001, detectou lesões e agentes infecciosos em 55,9% de 1.486 fetos abortados de vacas leiteiras.

2.2.1. Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR)

Os BoHV pertence a família *Herpesviridae*, composta por 200 espécies de vírus isolados de diferentes hospedeiros (THIRY *et al.*, 2007). A família *Herpesviridae* encontra-se dividida em três sub famílias: *Alpha*, *Beta* e *Gammaherpesvirinae* (THIRY *et al.* 2007; ROIZMANN & PELLETT, 2007). Os membros da subfamília *Alphaherpesvirinae* possuem amplo espectro de hospedeiro. Dentro desta subfamília encontram-se os gêneros *Simplexvirus*, *Varicellovirus*, *Mardivirus* e *Iltovirus* (FRANCO & ROEHE 2007; ROIZMANN & PELLETT 2007).

O BoHV caracteriza-se por apresentar como material genético DNA genômico de fita dupla e diâmetro que varia de 100 a 200 nm, constituído por 162 capsômeros, nucleocapsídeo icosaédrico, e por um envelope de dupla camada glicoprotéica (THIRY *et al.*, 2006; ROIZMANN & PELLETT 2007). Os BoHV estão divididos em oito tipos, sendo o herpesvírus bovino - 1 (BoHV-1) a principal espécie de interesse no presente estudo.

O BoHV -1, pertence à família *Herpesviridae* gênero *Varicocellovirus* e subfamília *Alphaherpesvirinae* (THIRY *et al.*, 2007). Dentro do tipo BoHV -1 existem duas cepas ou variantes biológicas, denominadas BoHV-1.1, BoHV-1.2a e BoHV-1.2b, que são patogênicas e normalmente associadas a manifestações clínicas em bovinos que incluem, a IBR e a Vulvovaginite Pustular Infecciosa / Balanopostite Pustular Infecciosa (VPI/BPI), abortos e infecções generalizadas em neonatos (MILLER 1991). O BoHV-1.2b possui patogenicidade moderada e não está normalmente relacionado a casos de aborto (MILLER 1991). O BoHV-1 também é responsável por causar encefalite grave, nascimento de animais débeis, infecção multissistêmica fatal de neonatos e diarreia nos bezerros (LEMAIRE *et al.*, 1994; ROIZMAN *et al.*, 1995).

2.2.1.1. Etiologia

O BoHV -1 é um importante patógeno amplamente disseminado em rebanhos bovinos de todo o mundo (ACKERMANN *et al.*, 2006). O vírus foi isolado pela primeira vez por Madin e colaboradores, (1956) e em 1959 por McKercher e colaborador, que demonstraram que tanto o quadro respiratório quanto o genital eram causados pelo mesmo vírus.

Evidências sorológicas demonstram a presença, bem como a alta frequência, das infecções pelo BoHV-1 também nos rebanhos brasileiros. No Brasil, o primeiro relato foi feito no estado da Bahia e São Paulo (ALICE 1978; MUELLER *et al.*, 1978). Posteriormente, novos relatos do BoHV-1 foram realizados em diversos estados, como, Rio de Janeiro (NOGUEIRA *et al.*, 1986), Minas Gerais (GALVÃO 1986), Rio Grande do Sul (LOVATO *et al.*, 1995), Paraná (ALFIERI *et al.*, 1996), Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás (PITUCO *et al.*, 1999) e Acre (CAVALCANTE 1997), demonstrando que o BoHV-1 estava amplamente distribuído no território brasileiro.

Em alguns países europeus a infecção pelo BoHV foi erradicada através da identificação e eliminação de animais soropositivos (CASTRUCCI *et al.* 2002). Nos Estados Unidos e no Canadá, onde a infecção tem caráter endêmico, não existe uma política nacional de erradicação. Estes países optaram pelo controle por meio de programas imunoproláticos, com vacinas atenuadas e inativadas (WYLER *et al.*, 1990). No Brasil, estudos mostram que o BoHV continua disseminado por diversas regiões do país (MÉDICI *et al.*, 2000; TAKIUCHI *et al.*, 2001; RABASSA *et al.*, 2005; JUNQUEIRA *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2008), entretanto, não é comum a implantação da imunoprofilaxia para o BoHV-1, em programas sanitários dos rebanhos bovinos brasileiros.

2.2.1.2. Patogenia

A replicação viral ocorre no núcleo da célula hospedeira (ROIZMAN *et al.*, 1995). O BoHV-1 é epiteliotrópico e replica-se, inicialmente, nas mucosas dependendo da porta de entrada, do trato respiratório ou da mucosa genital. Após o primeiro ciclo, o vírus pode prosseguir via terminações nervosas para os gânglios sensoriais no sistema nervoso central, onde pode permanecer em latência por toda a vida do hospedeiro, porém, os animais portadores podem reativar e eliminar partículas virais, na maioria das vezes, sem apresentar sinais clínicos, estabelecendo a permanência da infecção no rebanho (LEMAIRE *et al.*, 1994; BOTELHO 2000).

Conhecida como a principal fonte de infecção do BoHV-1 a espécie bovina tem como principal via de eliminação as secreções respiratórias, oculares e genitais (muco prepucial e muco vaginal) e o sêmen de animais infectados. Os animais de todas as idades podem apresentar títulos de anticorpos contra o BoHV-1, porém, devido ao sistema de manejos habituais, tem sido encontrado principalmente em animais com idade superior a 18 meses (KAHRS 1977; LEITE 1999). A principal porta de entrada do BoHV-1 no organismo dos bovinos são: a mucosa oro - nasal, genital e ocular. A

transmissão do BoHV-1 pode ocorrer principalmente pela via direta, que ocorre por meio do contato direto, por aerossóis e secreções de animais infectados (MARS *et al.*, 2000), e pela forma indireta que ocorre por fômites, inseminação artificial e transferência de embrião (BIELANSKI & DUBUC, 1994). O embrião e feto também podem ser infectados pela via vertical (transplacentária) (LEMAIRE *et al.*, 1994).

Segundo Kahrs (1977), o período de incubação do BoHV varia entre 2 a 6 dias, e os maiores títulos virais são produzidos e excretados no estágio agudo da infecção (ENGELS & ACKERMANN, 1996). Surtos da doença podem aparecer quando animais portadores são introduzidos em rebanhos susceptíveis (GUSTAFSON 1981).

A IBR é a forma da doença respiratória, estando geralmente associada ao BoHV-1.1, é contagiosa e aguda e como manifestações clínicas os animais podem apresentar febre, anorexia, dispnéia, taquipnéia, corrimento nasal seroso ou serohemorrágico podendo se tornar purulento (RIET-CORREA *et al.*, 1996). Em vacas lactantes pode ocorrer queda na produção de leite e em touros pode haver comprometimento temporário da qualidade do sêmen (FRANCO & ROEHE, 2007). Especula-se que a doença tenha se disseminado na Europa através da utilização de sêmen proveniente de animais portadores (GUSTAFSON 1981).

Estudos observaram que vacas submetidas à inseminação artificial com sêmen contaminado tem apresentado infertilidade, redução da qualidade dos embriões, ciclos estrais curtos e, em alguns casos, endometrites (MILLER & VAN DER MAATEN 1984; MILLER & VAN DER MAATEN 1986; MILLER 1991; VANROOSE *et al.*, 2000). Porém, Oliveira (2005) apresenta resultados em que touros sorologicamente positivos para a IBR aparentemente não reduzem a fertilidade dos rebanhos em regime de monta natural. Autores propõem que na produção de embriões *in vitro*, o BoHV-1 tem efeito direto no espermatozóide, por aderir nas células espermáticas, devido a composição química do receptor de sulfato de heparina difundido na superfície celular espermática que favorece a ligação do vírus (BIELANSKI *et al.*, 1993).

A infecção pelo BoHV-1.1 pode causar danos diretamente no útero, nos ovários e oviduto, levando a ooforites com necrose hemorrágica do oviduto, diminuindo a produção de progesterona (P4) pelo corpo lúteo, infertilidade, reabsorção embrionária, abortos no terceiro trimestre de gestação e nascimento de bezeros fracos (MILLER & VAN DER MAATEN 1984; MILLER & VAN DER MAATEN 1986; MILLER 1991). O vírus pode atingir os ovários e o útero de três maneiras: 1) por viremia, posterior a primo-infecção; 2) por reativação do estado de latência viral; assim como pela deposição direta do vírus no útero através da monta natural por touro

infectado; 3) pela inseminação artificial com sêmen contaminado (KAHRS 1977; MILLER 1991).

Miller & Van Der Maaten (1986), infectaram experimentalmente novilhas em quatro momentos após a cobertura e observaram que o BoHV-1 quando inoculado aos 7 ou 14 dias, ocasionou ooforite, caracterizada por necrose e acúmulo de células mononucleares no corpo lúteo. Foram observados poucos folículos necróticos, o que pode sugerir baixa fertilidade por prováveis falhas na concepção. Estudo realizado por Gerin *et al.* (1989), encontrou o BoHV-1 associado a oócitos, líquido folicular, células da granulosa, líquidos tubários e corpos lúteos, sugerindo o tropismo do vírus a estas estruturas.

As lesões às estruturas dos ovários são frequentemente associadas a casos de infecção pelo BoHV-1, porém inúmeros pesquisadores observaram que a maioria das lesões severas causadas pela IBR tem início no corpo lúteo (MILLER & VAN DER MAATEN 1984; MILLER & VAN DER MAATEN 1986; MILLER 1991).

Procurando entender melhor como a IBR poderia afetar os índices reprodutivos, pesquisadores observaram que quando a infecção ocorre nos primeiros sete dias após a monta, o vírus pode chegar às membranas embrionárias e causar morte do embrião, poucos dias após a infecção (MILLER & VAN DER MAATEN 1986; MILLER 1991). Bielanski *et al.*, (1987) em estudo que avaliou a exposição (*in vitro*) de embriões (n=103) ao BoHV-1, demonstrou baixa sobrevivência (47%) após a exposição. Geralmente devido a dificuldade de identificação, estes eventos são erroneamente associados a falha na concepção e não como morte embrionária (MILLER 1991). A mortalidade ocorre, provavelmente, por atividade citotóxica nas células ou por alterações fisiopatológicas no ambiente uterino, sendo o aumento da temperatura um importante fator (PUTNEY *et al.*, 1988).

Achados clínicos como a febre são frequentemente observados em animais com IBR. Durante o período febril as prostaglandinas também podem estar elevadas, levando a luteólise e à perda da gestação (VANROOSE *et al.*, 2000). Chirstianson (1992), afirma que o estresse gerado no animal devido ao pico febril poderia levar, indiretamente, à perda embrionária pela elevação da concentração de esteróides, causando a supressão da resposta imune.

Wyler *et al.* (1990) relatam que vacas prenhes soronegativas, quando infectadas com o BoHV-1.1 podem abortar após o período de incubação de três a seis semanas, principalmente durante o 5º ao 8º mês de gestação. O aborto pode ocorrer após a exposição natural à doença, o vírus se replica no trato respiratório superior e

começa a disseminar-se pela via sanguínea podendo migrar para o útero de vacas gestantes. No útero, o feto pode ser infectado em qualquer estágio da gestação. O feto morre de um a três dias após ter início a replicação viral, e o aborto ocorre dois a sete dias após a morte fetal. O aborto ocorre normalmente do sexto ao nono mês de gestação.

Um estudo avaliou o possível efeito em um rebanho com perfil sorológico de alta taxa de infecção para o BoHV-1 e demonstrou índices reprodutivos baixos durante a estação de monta, e índice de abortamento de 16% (35/208) (JUNQUEIRA *et al.*, 2006). Já Norton *et al.* (1989) em sete rebanhos com perfil sorológico de baixa taxa de infecção para o BoHV-1, demonstraram taxas anuais de aborto que variaram de 3% a 21%.

2.2.1.3. Controle e profilaxia

A introdução de animais no rebanho, sem o conhecimento da origem ou da região e até mesmo propriedade que não seguem programas de vacinação é o principal fator que contribui para a difusão do BoHV-1. Além disso, o sistema de criação intensivo como leiteria e o confinamento de animais de engorda favorecem a transmissão do agente entre os animais (SILVA *et al.*, 1998).

Por esta doença se manifestar por infecção latente, todos os animais soropositivos devem ser considerados potenciais fontes de infecção (KAHRS 1977; ACKERMANN *et al.*, 1982). Em casos de surtos a vacinação é recomendada, pois pode diminuir o número de novos casos (DONKERSGOED & BABIUK 1991). Os surtos ocorrem frequentemente, em rebanhos não vacinados, após situações de estresse. Isto acontece geralmente quando o vírus origina-se de uma infecção latente e é disseminado aos animais suscetíveis (ACKERMANN *et al.*, 1982).

Devido a esses fatores, a infecção por BoHV-1 tem sido controlada e prevenida através da combinação de uma variedade de práticas de manejo (controle do trânsito de animais e sorodiagnóstico), e um bom programa de vacinação (DONKERSGOED & BABIUK 1991; GROOMS 2010a).

2.2.1.4. Vacinação

No mercado existem vacinas inativadas, e vacinas atenuadas tanto por método tradicionais quanto com vírus vivo mutante termossensível (TS) (ZYGRAICH *et al.*, 1974; SETIEN 1987; ELLIS *et al.*, 1992). No Brasil, atualmente estão disponíveis apenas vacinas inativadas e mutantes TS. Geralmente, essas vacinas são associadas a vacinas para outros agentes infecciosos como o BVDV, vírus parainfluenza-3 e o vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) (FLORES 2003). As vacinas para o BoHV-1 tem sido usadas para reduzir os sinais clínicos da doença após a infecção (VAN OIRSCHOT *et al.*, 1996).

2.2.1.4.1. Vacinas Inativadas

Nas vacinas inativadas, o vírus é inativado por processo químico, impedindo a replicação da amostra vírica vacinal no organismo do animal imunizado. O processamento de antígenos virais inativados produz proteínas solúveis que são associadas à classe II do MHC (Complexo Principal de Histocompatibilidade), não havendo a ativação dos linfócitos T CD8 (T citotóxicos) e, conseqüentemente, não há resposta imune celular do tipo citotóxica quando é usado este tipo de vacinas (VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK *et al.*, 1993).

Essas vacinas não causam supressão imunológica, aborto ou latência. Por não ocorrer a replicação do vírus vacinal no organismo do animal, não eliminam o vírus no ambiente, sendo segura para os animais imunizados. Portanto, as vacinas inativadas são seguras para uso em vacas prenhes. Além disso, a vacina possui boa estabilidade de armazenamento, logo esse tipo de vacina pode induzir boas respostas de anticorpos, porém alguns autores levantam controvérsias quanto à eficácia de vacinas inativadas (SHIPPER & KELLING *et al.*, 1975; FRERICHS *et al.*, 1982; BABIUK *et al.* 1987).

A proteção induzida por vacinas inativadas não é observada até 7-10 dias após a administração da segunda dose (HJERPE 1990), sendo observado por Fulton (1995) que, tanto vacinas atenuadas modificadas quanto atenuadas mutantes TS, apresentaram maiores títulos de anticorpos entre 14 a 140 dias após a vacinação.

2.2.1.4.2. Vacinas Atenuadas

Em vacinas atenuadas, por ter replicação do vírus vacinal nas células do hospedeiro, resultam na produção endógena de proteínas virais que são associadas à

classe I do MHC e desta forma a resposta imune celular é ativada através de linfócitos T com marcadores CD8 + (T citotóxicos). Paralelamente, estes antígenos também são associados à classe II do MHC ativando células que apresentam marcadores CD4+ (T auxiliares), com consequente ativação de Linfócitos B, levando ainda a uma resposta humoral com produção de anticorpo (YORK & SHWARZ 1956; VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK 1993). As vacinas atenuadas pelo método tradicional não devem ser aplicadas em fêmeas gestantes, pois devido a replicação do vírus vacinal no organismo do animal, se tornam letais para o embrião e o feto (MITCHELL 1974), além de poder resultar em sinais clínicos moderados (CURTIS & ÂNGULO 1974) e excreção viral em animais vacinados com subsequente transmissão do vírus vacinal para animais não vacinados (ZYGRAICH *et al.*, 1974; KUCERA *et al.*, 1978).

Contudo, existem as vacinas do tipo atenuada com vírus vivo mutante TS. Nessas vacinas o processo químico impede o vírus de se replicar em temperaturas próximas à temperatura corporal. Os maiores títulos de vírus são obtidos a temperaturas variando de 30°C a 36°C, sendo que a 39°C não há mais produção de vírus (ZYGRAICH *et al.*, 1974). Desta forma, quando o vírus vacinal alcança o trato respiratório inferior e o útero, a temperatura é superior, e a replicação viral é inibida, consequentemente, não provoca aborto em fêmeas gestantes. Outros animais podem ter contato com os animais vacinados sem riscos de infecção e a vacina mostra-se eficiente e segura para aplicações em animais jovens (KUCERA *et al.*, 1978;).

As vacinas com vírus vivos atenuados promovem rápida indução de resposta imune com duração relativamente longa. Fulton *et al.* (1995) apresentam resultados onde bezerros imunizados com vacinas atenuadas tiveram aumento dos títulos de anticorpos 14 dias após a vacinação, sendo observado proteção antes mesmo deste período, a partir 40-96 h após a aplicação de vacina intranasal (SCHWARTZ *et al.*, 1957; TODD *et al.*, 1971) ou vacina intramuscular (SUTTON 1980). Um estudo realizado por Todd *et al.* (1972) sugere que este rápido desenvolvimento da proteção é devido a indução de interferon pelo vírus, assim vacinas atenuadas demonstram induzir imunidade celular (GERBER *et al.*, 1978).

2.2.2. Diarréia viral bovina

Enfermidade infectocontagiosa de etiologia viral, frequente na maioria dos países, que pode apresentar um conjunto de síndromes clínicas ou subclínicas associadas à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV), que é um patógeno

de bovinos, particularmente do sistema reprodutivo (BROWNLIE 2005; RIDPATH 2010).

2.2.2.1. Etiologia

Vírus com genoma RNA fita simples de polaridade positiva da família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (ICTV 2011), classificado em duas diferentes espécies – genótipo 1 (BVDV 1) e genótipo 2 (BVDV 2) (RIDPATH 2005; RIDPATH 2010). Com base na replicação viral em culturas de células, o BVDV apresenta dois biótipos: citopatogênico (CP) e não-citopatogênico (NCP) (TREMBLAY 1996) sendo que aproximadamente 95% das amostras circulantes no campo são amostras NCP. Dois terços das amostras naturais isoladas no Brasil pertencem ao BVDV 1 porém, também já foram isolados BVDV 2 no país (BOTTON *et al.*, 1998; FLORES *et al.*, 2000).

O BVDV é um vírus pequeno (40 a 60 nm), esférico e possui envoltório lipoproteico derivado das membranas das células hospedeiras. O nucleocapsídeo tem como genoma uma fita única de RNA, de polaridade positiva, numa molécula de aproximadamente 12,3 kb, com predisposição a altas taxas de mutação (RIDPATH 2005). Essas mutações levam a heterogeneidade do BVDV, que propicia a evasão do sistema imunológico do hospedeiro (RIDPATH, 2003). Dentre os vírus que infectam bovinos, o BVDV é aquele que apresenta a patogenia mais complexa (DEREGT, 2005).

2.2.2.2. Epidemiologia

Olafson *et al.* (1946) foram os primeiros a descreverem a BVD no mundo, que relataram aborto em vacas prenhes, 10 a 90 dias após serem infectadas pelo BVDV na forma subclínica. No Brasil, o BVDV foi isolado pela primeira em 1974, através de amostras de soro bovino colhidas em abatedouros. Vários estudos foram desenvolvidos posteriormente e nos últimos anos, tem-se observado soroprevalência da infecção pelo BVDV em diferentes países do mundo, que varia de 18% a 93% (TAN *et al.*, 2006; DUONG *et al.*, 2008; GUARINO *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2008; TALAFHA *et al.*, 2008). A infecção pelo BVDV demonstra ampla distribuição nos rebanhos brasileiros, sendo encontrados índices entre 22% e 73%, em diversas regiões (LANGONI *et al.*, 1995; DIAS & SAMARA 2003; FLORES *et al.*, 2005; THOMPSON *et al.*, 2006; QUINCOZES *et al.*, 2007; DIAS *et al.*, 2010).

A faixa etária parece ser importante fator para a compreensão do ciclo da doença nos rebanhos bovinos (THOMPSON *et al.* 2006). Observa-se que em animais

jovens (6 a 11 meses) o índice de animais positivos é menor (24,4% a 35,0%), quando comparado aos índices de animais mais velhos (50% a 75,6%) (BRITO *et al.*, 2010; DIAS *et al.*, 2010). Este fato pode ser explicado por animais mais velhos terem mais oportunidades de exposição ao agente e de induzirem a formação de anticorpos neutralizantes contra o BVDV (MAINAR-JAIME *et al.*, 2001).

2.2.2.3. Patogenia

Os bovinos podem ser infectados por duas formas, através da infecção vertical (transplacentária) e horizontal, e dependendo do momento em que a infecção ocorre, pode haver morte embrionária/fetal, mumificação, nascimento de animais persistentemente infectados (PI) ou natimorto (CASARO *et al.*, 1971; LARSSON *et al.*, 1994; PENCE 2011). O animal PI é resultante da infecção uterina pelo biótipo NCP, pois o biótipo CP parece não ser capaz de produzir bezerros PI (CASARO *et al.*, 1971). Essa conversão de fetos saudáveis em PI é mais frequente quando a infecção ocorre entre 30 e 90 dias de gestação, podendo ser estabelecida tanto pelo BVDV-1 quanto pelo BVDV-2 (LIEBER-TENORIO 2005). Neste momento, o sistema imune do feto ainda não está totalmente desenvolvido e as proteínas virais são reconhecidas erroneamente como próprias (BROWNLIE 1990; GROOMS 2004) o que torna o animal imunologicamente tolerante ao BVDV (DUBOVI, 1998).

A infecção vertical pode ocorrer a partir de fêmeas PI, que atingem a fase adulta, e obrigatoriamente transmitem o vírus às suas progênes, que também serão PI (TREMBLAY 1996). Os animais podem se infectar pela transmissão horizontal, através do contato direto entre animais infectados e sadios, e do contato indireto que pode ocorrer por meio de fômites, por meio de luvas para palpação retal, agulhas, utensílios, cochos para alimentação e medicamentos contaminados (TREMBLAY 1996; KATHOLM & HOUE 2006). A forma de transmissão do vírus também pode ser aerógena (MARS *et al.*, 1999) ou realizada mecanicamente pelos insetos (GUNN 1993), esta pode ser influenciada pela estirpe infectante do BVDV, pois algumas induzem alterações respiratórias e, conseqüentemente, desencadeiam tosse nos animais, promovendo assim maior disseminação viral (HOUE 1995).

Caso a infecção ocorra aos 110-120 dias, e a gestação se estenda até o parto, é comum o nascimento de bezerros com deformidades congênitas, natimortos, fracos, débeis, prematuros e com alterações no crescimento (GROOMS 2004).

O principal fator na disseminação natural do BVDV é a existência do animal PI no rebanho (HOUE 1995; GROOMS 2004). Os animais PI podem ser clinicamente

saudáveis, o que dificulta sua identificação e eliminação do rebanho, há liberação contínua de grandes quantidades do vírus no ambiente durante toda a vida (HOUE & PALFI 1993; GROOMS 2004). Estima-se que 70 a 90% das infecções pelo BVDV ocorram sem manifestações clínicas (GROOMS & KEILEN 2002) o que dificulta seu diagnóstico em rebanhos de bovinos.

Os bezerros PI possuem taxa de letalidade alta no primeiro ano de vida, principalmente porque muitos nascem prematuros, fracos, letárgicos ou apresentam algum tipo de malformação congênita. Alguns morrem poucos dias ou até mesmo algumas horas após o nascimento e, aqueles que sobrevivem, podem apresentar atraso no crescimento e baixa resistência a outras enfermidades, sendo comum desenvolverem a doença das mucosas (DM) (BROWNLIE 1990). Estima-se que 2,6% de todos os bezerros nascem PI (DIAS *et al.*, 2010) e aproximadamente 0,25% destes permanecem vivos até o desmame (PENCE 2011). Entretanto, apesar de sua expectativa de vida ser considerada relativamente baixa, pesquisas demonstram que um único bovino PI pode em pouco tempo (3 a 4 meses), infectar mais 70%, dos animais em um sistema de criação extensivo e mais de 90% em sistema intensivo (HOUE & PALFI 1993; ARENHART *et al.*, 2009).

A BVD e a DM são duas síndromes clínicas diferentes causadas pelo mesmo vírus. A BVD é resultado de uma infecção aguda, de poucos dias de duração e baixa letalidade, que pode ocorrer em bovinos susceptíveis de qualquer idade após o nascimento. Em contraste, a DM apresenta alta letalidade, pois ocorre em bovinos que apresentam imunotolerância específica ao vírus infectante (PI) e, conseqüentemente, não desenvolvem anticorpos (DUFFELL & HARKNESS 1985). A DM pode ser causada tanto pelo BVDV 1 quanto pelo BVDV 2 (RIDPATH *et al.*, 2000).

Estudos epidemiológicos sugerem que o BVDV possa ter um importante impacto sobre o baixo desempenho reprodutivo (McGOWAN *et al.*, 1993), na forma de infertilidade (VIRAKUL *et al.*, 1988), morte embrionária precoce (HOUE *et al.*, 1993) e abortos (ROEDER *et al.*, 1986).

As perdas reprodutivas precoces podem ocorrer por consequência da deficiência ovariana (GROOMS *et al.*, 1998; FRAY *et al.*, 2000; 2002), inflamação uterina (ARCHBALD *et al.*, 1973) e dano direto ao embrião (BIELANSKI & HARE, 1988; BROCK & STRINGFELLOW 1993). A infecção intrauterina foi considerada por Moennig *et al.* (1995), o principal problema econômico, por sua associação a diferentes sinais clínicos, como morte embrionária, aborto, mumificação, malformações e nascimento de bezerros PI.

Em um estudo que submeteu os animais à infecção experimental com o BVDV em dois momentos diferentes, observou-se que os animais infectados próximos ao momento da inseminação artificial, apresentaram menor concepção em relação aos animais infectados previamente (VIRAKUL *et al.* 1988). Posteriormente, outros autores demonstraram que a infecção pelo BVDV durante o período pré ovulatório, pode interferir negativamente na ovulação, levando a significativa redução no número de CL palpáveis e na quantidade e qualidade de embriões coletados (KAFI *et al.*, 1997), isso pode estar relacionado ao tropismo do BVDV por células germinativas (BROWNLIE 2005). Após a infecção pelo BVDV podem ser observadas lesões nos ovários provocadas pelo vírus, tais como ooforite não supurativa, necrose das células da granulosa e dos oócitos nos folículos (McGOWAN *et al.* 2003).

Fray *et al.* (2000) observaram que a secreção hormonal pode ser influenciada negativamente pelo BVDV, demonstrando em seu estudo que ao inocular cepas NCP do BVDV em vacas, antes da sincronização do ciclo estral, houve queda significativa na concentração plasmática de estradiol, sugerindo que as células foliculares e oocitárias são suscetíveis ao BVDV em todos os estágios de desenvolvimento folicular, e que a fertilidade da vaca é reduzida devido à redução da qualidade oocitária. Em estudo semelhante, McGowan *et al.* (2003), observaram que as vacas infectadas com cepa NCP do BVDV, tiveram quantidade significativamente menor de embriões coletados comparados com o grupo controle, sendo relatado que em 90% das fêmeas infectadas houve falta ou ausência do aumento pré ovulatório de Hormônio Luteinizante (LH) ou atraso no pico de LH, e somente 20% das fêmeas controle apresentaram o mesmo problema. Contudo, rebanhos expostos ao BVDV apresentam aumento significativo no risco de retorno ao cio quando comparados com rebanhos livres da doença (ROBERT *et al.*, 2004).

Casos de aborto são descritos e podem ocorrer a qualquer momento após a infecção por BVDV, observou-se morte do feto de 10–27 dias após a infecção, com expulsão do feto 50 dias depois. Durante o primeiro trimestre da gestação os abortamentos podem ser comuns (ROEDER *et al.*, 1986; SPRECHER *et al.*, 1991). Pence (2011) detectou que em um rebanho com problemas de BVD, apenas 35% das novilhas foram diagnosticadas como prenhas após longo período de estação reprodutiva, e em outro rebanho da mesma região, houve taxa de aborto precoce de 23% nas vacas em gestação. Em estudo realizado no Brasil vacas gestantes foram expostas à inoculação experimental com o BVDV e tiveram taxa de aborto de 41% até a proximidade do parto (ARENHART *et al.*, 2008).

A infecção pelo BVDV por sua distribuição mundial e sua repercussão econômica é considerada a virose mais importante de bovinos, após a febre aftosa (BAKER 1995). O interesse sobre a BVD está em ascensão, por parte de técnicos, pesquisadores e produtores brasileiros, porém, a vacinação contra o BVDV ainda é realizado apenas por iniciativa voluntária, sem a interferência oficial.

2.2.2.4. Controle e profilaxia

O controle da infecção pelo BVDV deve ser direcionado à detecção e à eliminação dos animais PI, e à imunização dos reprodutores antes que atinjam a idade reprodutiva (XUE *et al.*, 2009). Essas medidas podem melhorar a saúde do rebanho, prevenir a infecção fetal e a disseminação da doença (REBHUN 2000; GROOMS *et al.* 2007; 2010a).

Para o controle e a erradicação do BVDV além dos programas de vacinação, deve-se adotar medidas rígidas no controle do trânsito de animais na fazenda, atentar à qualidade do sêmen utilizado (livre de patógenos) e realizar monitoramentos do rebanho por sorodiagnóstico (BROCK 2003).

2.2.2.5. Vacinação

Utilizada com relativo sucesso para proteger animais da doença clínica, reduzir a circulação do vírus e impedir a infecção fetal e a consequente produção de bezerros PI (FLORES 2003), contudo, há dúvidas quanto as vacinas existentes e os protocolos vacinais e sua capacidade de prevenção total das infecções transplacentárias (LINDBERG *et al.*, 2006).

No mercado existem vacinas atenuadas e inativadas. No Brasil, atualmente estão disponíveis apenas vacinas inativadas, com adjuvante oleoso ou hidróxido de alumínio. Geralmente, essas vacinas são associadas a vacinas para outros agentes infecciosos como o BoHV-1, vírus para parainfluenza-3 e vírus o respiratório sincicial bovino (BRSV). Vacinas inativadas geralmente induzem resposta sorológica moderada e de curta duração, por isso, para uma resposta adequada são aconselhadas revacinações periódicas (FLORES 2003).

2.2.2.6. Vacinas inativadas

Muitas das vacinas inativadas possuem tanto estirpes CP quanto NCP do BVDV (RADOSTITS 2002). As vacinas comerciais disponíveis necessitam da

aplicação de duas doses com intervalo de 3 a 4 semanas para que seja induzida uma resposta de anticorpos neutralizantes (imunização primária) (RADOSTITS 2002; KELLING 2004; FULTON 2005). Segundo Fulton *et al.* (1995) os títulos de anticorpos tiveram aumento apenas 14 dias após a segunda aplicação da vacina. Animais previamente imunizados apresentam boa proteção fetal caso venha a ter contato com o agente infeccioso (FICKEN *et al.*, 2006). Foram descritas taxas de proteção de 73% a 89% dos fetos em desenvolvimento após desafio a campo por longo período (GROOMS *et al.*, 2007; RODNING *et al.*, 2010).

As vacinas inativadas demonstram boa segurança quanto a aplicação em qualquer fase da criação, pois não ocorrerá a replicação da amostra vírica vacinal no organismo do animal imunizado.

2.2.2.7. Vacinas atenuadas

Em vacinas atenuadas, a replicação do vírus é reduzida, diminuindo assim a virulência e a eliminação do vírus pelo animal vacinado, geralmente contem estirpes CP do vírus atenuado (RADOSTITS 2002). Este tipo de vacina permite ao vírus vacinal replicar-se no organismo do animal simulando uma infecção de campo e devido a isso, a imunidade tende a ser melhor e permanece por mais tempo. Essas vacinas promovem proteção fetal quase completa (91 a 100%) (DEAN *et al.*, 2003; FAIRBANKS *et al.*, 2004). Essas vacinas são potencialmente patogênicas para o embrião e o feto. A vacinação de vacas gestantes ou o contato de vacas gestantes com animais recém vacinados não são recomendados, pois há a excreção do vírus vacinal no meio ambiente. A recombinação genética, mesmo que rara, pode ser um risco associado às vacinas atenuadas (RADOSTITS 2002; KELLING 2004; FULTON 2005).

2.2.3. Leptospirose

A Leptospirose (*Leptospira* spp.) é uma zoonose bacteriana prevalente em todo o mundo (BARWICK *et al.*, 1997; LEVETT 2001; ZUNINO & PIZARRO 2007), que foi descrita pela primeira vez por Adolf Weil, em 1886, e isolada anos depois (1915) por Inada e Ido no Japão (STEELE *et al.*, 1957). Esta enfermidade é causada pelo agente etiológico do gênero *Leptospira* spp., que apresentam mais de 200 sorovares identificados (ELLIS 1994). As *Leptospiras* spp., podem sobreviver vários dias no ambiente com temperatura elevada, em umidade, pH neutro e ligeiramente alcalino (PRESCOTT 1993; ZUNINO & PIZARRO 2007). As regiões tropicais e subtropicais

são as mais favoráveis à infecção por proporcionar ambiente adequado à sobrevivência das *Leptospiras* spp (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Alguns autores tem relacionado a maior ocorrência da doença a índices pluviométricos elevados (GUIMARÃES *et al.*, 1983; MINEIRO *et al.*, 2007). Desta forma a prevalência dos diferentes sorovares de *Leptospira* spp., pode, variar de acordo com a região e, normalmente, está associada a um hospedeiro de manutenção, que atua como reservatório do agente (PELLEGRIN *et al.*, 1999).

2.2.3.1. Epidemiologia

No Brasil a Leptospirose bovina é endêmica e, frequentemente, são isolados diversos sorovares de *Leptospira interrogans*. Pesquisas em diferentes estados brasileiros (MG, RJ, SP, MS, PR, PI, RO e RS) relatam percentual de 52,5% a 64,4% de animais reagentes, a pelo menos um dos sorovares de *Leptospiras interrogans*, (SALDANHA *et al.*, 2004; AGUIAR *et al.* 2006; MINEIRO *et al.*, 2007; CAVAZINI *et al.*, 2008; FARIA *et al.*, 2011). Entretanto os sorovares *hardjo* e *wolffi* são identificadas como predominantes em bovinos infectados por *Leptospiras* spp. (prevalência: *hardjo* - 39,5% a 90,65%; *wolffi* - 13,3% a 41,59%) em vários estudos realizados no Brasil (FAVERO *et al.*, 2001; HOMEM *et al.*, 2001; DEL FAVA *et al.*, 2004; SALDANHA *et al.*, 2004; CASTRO *et al.*, 2008). A resistência do sorovar *hardjo* a períodos de seca é apontada como um importante fator de maior prevalência nos bovinos (ELLIS 1994; MINEIRO *et al.*, 2007).

Quaisquer outros sorovares de *leptospira* spp. podem acometer acidentalmente os bovinos, e também outras espécies que não sejam seus reservatórios naturais (RIET-CORREA *et al.* 2001). Contudo, os sorovares que, além da *hardjo* e *wolffi*, causam infecção com certa frequência nos bovinos são: *L. grippityphosa*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. bratislava*, *L. canícola*, *L. australis*, *L. butembo*, *L. castellan* e *L. tarassovi* (PRESCOTT 1993; COSTA *et al.*, 1998; RIET-CORREA *et al.* 2001; ARAUJO *et al.*, 2005). Segundo alguns autores, este fator pode relacionar-se, principalmente, à presença de animais silvestres que podem atuar como reservatórios, e às vezes, por animais domésticos e de produção, como os cães e suínos (ELLIS 1994; GROOMS 2010b).

2.2.3.2. Patogenia

A transmissão da Leptospirose, pode ocorrer pelo contato direto com a urina, pele, mucosa oral e conjuntival de animais portadores. Após a penetração da

Leptospira spp., o período de incubação é de, apenas, dois a cinco dias com posterior bacteremia (ROSE 1966), multiplicando-se e migrando aos órgãos de eleição. Em seguida à bacteremia primária inicia-se a fase imune e a *Leptospira* spp., tendem a persistir em locais como túbulos renais, olhos e útero, onde a ação dos anticorpos é mínima (ELLIS *et al.*, 1986). Nesta fase há produção e eliminação constante das *leptospiras* spp., pela urina (LEONARD *et al.*, 1992; BAL 2005; LEVETT 2001).

A Leptospirose bovina é uma das principais enfermidades responsáveis pelo baixo desempenho reprodutivo em rebanhos infectados (CORTEZ *et al.*, 2006; MINEIRO *et al.*, 2007). A manifestação clínica pode ser aguda ou crônica. Na forma aguda, frequentemente, ocorre febre e mastite focal nos animais adultos; nos bezerros, pode ocorrer febre, anorexia, hemoglobinúria, casos de encefalite, acessos convulsivos e alta mortalidade (FAINE 1994; BURNS *et al.*, 2010). A forma crônica é mais comum nos animais adultos e os sinais clínicos constam de infertilidade, abortamentos, natimortos, nascimento de bezerros fracos e leptospirúria (FAINE 1999; GROOMS & BOLIN 2006).

A infertilidade, aparentemente, está relacionada à infecção do trato reprodutivo por *Leptospira* spp., e é associada a falhas na concepção (DHALIWAL *et al.*, 1996), intervalos prolongados entre partos e maior número de serviços necessários por concepção (GUITIAN *et al.*, 1999). A infecção também pode causar abortamentos, que ocorrem normalmente como surtos no terço final da gestação (cinco meses em diante) (TE BRUNGE & DREYER 1985). Em estudo no Canadá, o sorovar *hardjo* causou cerca de 6% dos abortos descritos (PRESCOTT *et al.*, 1989), enquanto em outro estudo, realizado nos EUA, 10% dos abortos foram atribuídos à *Leptospira* spp., (KIRKBRIDE & JOHNSON 1989). Investigando a infecção natural do útero por cepas de *Lepstopiras interrogans*, Ellis *et al.* (1985a) encontraram em mais de 55% dos fetos abortados ou natimortos, a presença de *Leptospira* spp. O isolamento de *Leptospira* spp., em fetos bovinos abortados no Brasil foi efetuado por Genovez *et al.* (1993), em fetos oriundos de rebanhos, procedentes de vários estados do Brasil, no período de 1985 a 1992.

As pesquisas demonstram forte relação da Leptospirose com falhas reprodutivas, porém o conhecimento sobre a patogênese é limitado. Contudo, pesquisadores sugerem a presença deste agente infeccioso no útero e nos ovidutos de vacas, interfira na implantação do embrião e em outros eventos da gestação (ELLIS *et al.*, 1985b; 1986; GROOMS 2010b).

2.2.3.3. Controle

O controle da Leptospirose geralmente envolve uma variedade de ações, porém até o momento poucas medidas efetivas para prevenção da Leptospirose são usualmente implantadas (McBRIDE *et al.*, 2005). Contudo, em casos de ocorrência desta enfermidade é necessário, primeiramente, identificar os animais portadores e tratá-los por antibioticoterapia (dihidroestretomicina), assim os animais podem sair do estado de portadores da doença, e conseqüentemente ocorre a redução da exposição de outros animais aos patógenos (GROOMS 2010b). Posteriormente, um adequado programa de vacinação deve ser adotado associado a medidas preventivas relacionadas ao manejo. A vacina deve conter os principais sorovares presentes na região (ARDUINO *et al.*, 2009). Lopes e colaboradores (2011) verificaram, que em casos de surto de abortos provocados por Leptospirose, a utilização de um tratamento com antibioticoterapia (dihidroestreptomicina), associado à vacinação, reduziu os casos de abortamentos.

2.2.3.4. Vacinação

As vacinas disponíveis no mercado brasileiro, geralmente, caracterizam-se por serem culturas de *Leptospira* spp., inativadas (células inteiras) acrescidas de adjuvantes (LANGONI *et al.*, 1999) ou preparados da membrana externa de *Leptospira* spp. patogênicas (NARDI JÚNIOR *et al.* 2006), estas estão associadas a outras doenças da reprodução, tais como IBR e BVD.

As vacinas contra *Leptospira* spp. são compostas pelos sorovares de maior prevalência no Brasil (ARDUINO *et al.*, 2009), sendo comum adquirir vacinas penta e hexavalentes. Entre os sorovares mais utilizados encontram-se o *hardjo*, *wolffi*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *grippotyphosa* e *bratislava*. Nas vacinações a resposta imune gerada é predominantemente humoral e sorovar específica (FAINE *et al.*, 1999). Assim, protegem somente contra infecções causadas por sorovares homólogos ou antigenicamente relacionados.

Faine *et al.* (1999) relatam que resultados de triagens em bovinos têm oscilado, ocorrendo casos em que todos os animais vacinados foram protegidos e os controles não, e resultados onde não há diferença significativa entre os grupos controle e os vacinados. Contudo, pesquisas recentes demonstram que vacinas comerciais administradas a animais com dose de reforço foram capazes de induzir resposta significativa na indução de anticorpos aglutinantes (ARDUINO *et al.*, 2004; NARDI JÚNIOR *et al.* 2006). Entretanto, as respostas à vacinação para o sorovar *hardjo*, são

contraditórias, visto que Nardi Junior *et al.* (2006) demonstraram soroconversão para esse sorovar somente a partir do reforço vacinal (30 dias após a primeira aplicação). Enquanto Arduino *et al.* (2009) apresentam resultados que tanto o sorovar *hardjo*, quanto o *wolffi*, induziram melhor resposta, com início rápido ao terceiro dia após primeira vacinação, observando-se títulos de anticorpos (SAM) por até 150 dias. Todavia, os autores concordam que sorovares *hardjo* e *wolffi* parecem ter reação cruzada, pois mesmo em vacina que não continha o sorovar *wolffi* houve a indução de títulos de anticorpos aglutinantes (NARDI JÚNIOR *et al.* 2003; ARDUINO *et al.*, 2009). Porém, o sorovar *hardjo* é assinalado em todo o mundo como um dos mais adaptados às espécies *bubalina* e *bovina* (ELLIS 1994; COSTA *et al.*, 1998; RADOSTITS 2002).

No capítulo 2, é apresentado o trabalho “Incidência de perdas gestacionais e efeito da vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez em vacas de corte submetidas à inseminação artificial em tempo fixo”.

Pretende-se submeter este trabalho na Revista Theriogenology.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ACKERMANN M. *et al.* DNA of Bovine Herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. **American Journal of Veterinary Research**, v.43, p.36-40, 1982.

ACKERMANN, M. *et al.* Pro and contra IBR eradication. **Veterinary Microbiology**, v.113, p.293-302, 2006.

AGUIAR, D. M. *et al.* Seroprevalence of *Leptospira* spp in cattle from Monte Negromunicipality, western Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, p.102-104, 2006.

ALFIERI, A. A. *et al.* Isolamento do Herpesvírus Bovino I em casos de vulvovaginite. In: PANVET, Campo Grande. Abstracts. Campo Grande: **Panamerican Association of Veterinary Sciences**, p.268, 1996.

ALICE, F J. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v.38, p.919-920, 1978.

ANUALPEC 2011. Anuário da Pecuária Brasileira, 2011, **Instituto FNP**, São Paulo.

ARAÚJO, V. E. M. *et al.* Frequência de aglutininas anti- *Leptospira interrogans* em soros sangüíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.430-435, 2005.

ARCHBALD, L. F. *et al.* Effects of intra-uterine inoculation of bovine viral diarrhoea mucosal disease virus on uterine tubes and uterus of non pregnant cows. **American Journal of Veterinary Research**. v.34, p.1133, 1973.

ARDUINO G.G.C. *et al.* Anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos leiteiros vacinados com bacterina polivalente comercial: perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. **Ciência Rural**, v.34, p.865-871, 2004.

ARDUINO G.G.C. *et al.* Títulos de anticorpos aglutinantes induzidos por vacinas comerciais contra leptospirose bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p.575-582, 2009.

ARENHART, S. *et al.* Proteção fetal contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em vacas prenhes previamente imunizadas com uma vacina experimental atenuada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, p.461-470, 2008.

ARENHART S. *et al.* Excreção e transmissão do vírus da diarreia viral bovina por bezerros persistentemente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p.736-742, 2009.

ASBIA. Relatório estatístico de importação, exportação e comercialização de sêmen. Associação brasileira de inseminação artificial em tempo fixo. 2010. **Disponível em:** <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2010.pdf>> Acesso em: 15/ Nov. / 2011.

AYALON, N. A review of embryonic mortality in cattle. **Journal Reproduction and Fertility**, v.54, p.483-493, 1978.

BABIUK, L. A. *et al.* Protection of cattle from bovine herpesvirus type-1 (BHV-1) infection by immunization with individual viral glycoproteins. **Virology**, v.159, p.57-66, 1987.

BAL, A. M. Unusual Clinical Manifestations of Leptospirosis. **Journal of Postgraduate Medical**, v.51, p.179-183, 2005.

BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.11, p.425-445, 1995.

BARWICK R.S. *et al.* Risk factors associated with the likelihood of leptospiral seropositivity in horses in the state of New York. **American Journal of Veterinary Research**, v.58, p.1097-1103, 1997.

BERG, D.K. Embryo loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy. **Theriogenology**, v.73, p.250–260, 2010.

BIELANSKI, A. *et al.* The exposure to bovine rhinotracheitis virus of zona pellucida micromanipulated bovine embryos with the zona pellucida damaged or removed. **Theriogenology**, v.28, p.495-501, 1987.

BIELANSKI, A.; HARE, W.C. Effect in vitro of bovine viral diarrhea virus on bovine embryos with the zona pellucida intact, damaged and removed. **Veterinary Research Communications**, v.12, n.24, p.19, 1988.

BIELANSKI, A. *et al.* Isolation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) and bovine viral diarrhea virus (BVDV) from embryos produced by in vitro fertilization. **Theriogenology**, v.40, p.531-538, 1993.

BIELANSKI, A; DUBUC, C. In-vitro fertilization and culture of ova from heifers infected with bovine herpesvirus-1 (BHV-1). **Theriogenology**, v.41, p.1211-1217, 1994.

BOTELHO, R. G. A. Desenvolvimento de testes de PCR para BoHV-5 e sua aplicação no diagnóstico de casos clínicos. 38f **Dissertação** (mestrado), Escola de veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

BOTTON, A. S. *et al.* Antigenic characterization of Brazilian bovine viral diarrhea virus isolates by monoclonal antibodies and cross-neutralization. **Brazilian Journal Medicine and Biological Research**, v.31, p.1429-1438, 1998.

BRITO, W. M. E. D. *et al.* Prevalência da infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) no estado de Goiás, Brasil. **Revista de patologia tropical**. v.39, n.1, p.7-19, 2010.

BROCK, K.; STRINGFELLOW, D. Comparative effects of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhea on bovine blastocysts. **Theriogenology**, v.39, p.196, 1993.

BROCK, K.V. The persistence of bovine viral diarrhea virus. **Biologicals**, v. 31, p.133-135, 2003.

BROWNLIE, J. *et al.* The pathogenesis of bovine viral diarrhoea virus infections. **Revue Scientifique et Technologie**, v.9, p.43-59, 1990.

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

BURNS, B. M., *et al.* A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf – Implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**. In press, 2010.

CASARO, A.P. *et al.* Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus. **American Journal of Veterinary Research**., v.32, 62, p.1543, 1971.

CASTRO V., S.S. *et al.* Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado de são paulo, brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, p.3-11, 2008.

CASTRUCCI, G. *et al.* A study on latency in calves by five vaccines against bovine herpesvirus-1 infection. **Comparative immunology, microbiology & infectious diseases**, v.25, p.205-215, 2002.

CAVALCANTE, F. A. Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina (IBR) No Estado Do Acre: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro de Pesquisa Agroflorestal do Acre. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. ISSN 0101-6075, v.102, p.1-3, 1997.

CAVAZINI, N. C. *et al.* Eficiência reprodutiva de vacas com Leptospirose após tratamento com sulfato de estreptomicina; **Revista de FZVA**, v.15, p.158-159, 2008.

CHRISTIANSON, W.T. Stillbirths, mummies, abortions, and early embryonic death. **Veterinary Clinics of North America**, v.8, p.623-639, 1992.

COMMITTEE ON BOVINE REPRODUCTIVE NOMENCLATURE. Recommendations for standardizing bovine reproduction terms. **Cornell Veterinary Medicine**, v.62, p.216-237, 1972.

COSTA, M. C. R. *et al.* Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, p.11-17, 1998.

CORTEZ, A. *et al.* Detecção de ácidos nucleicos de *Brucella* spp., *Leptospira* spp., herpesvirus bovino e vírus da diarreia viral bovina, em fetos abortados e em animais mortos no perinatal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.1228, 2006.

CURTIS, R. A.; ANGULO, A. A field trial to evaluate an intranasal infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine. **Canadian Veterinary Journal**, v.15, p.327-330, 1974.

DEAN, H. J. *et al.* Prevention of persistent infection in calves by vaccination of dams with noncytopathic type-1 modified-live bovine viral diarrhea virus prior to breeding, **American Journal of Veterinary Research**, v.64, p.530–537, 2003.

DEL FAVA C. *et al.* Coeficientes reprodutivos e soropositividade para *Leptospira* spp. Em um rebanho bovino de corte no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivo Veterinário**, v.20, p.52-61, 2004.

DEREGT, D. Introduction and history. In: Goyal S.M. & Ridpath J.F. (Eds), Bovine Viral Diarrhea Virus. **Blackwell Publishing Iowa**. p.3-33, 2005

DHALIWAL G. S. *et al.* Reduced conception rates in dairy cattle associated with serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo infection. **The Veterinary Record**, v.139, p.110-114, 1996.

DIAS, J. A. *et al.* Fatores de risco associados a infecção pelo herpesvirus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, p.161-168, 2008.

DIAS, F. C.; SAMARA, S.I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia 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.

DIAS, F. C. *et al.* Ocorrência de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina em rebanhos bovinos nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.933-939, 2010.

DISKIN, M. G; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**. v.43, p.260–267, 2008.

DONKERSGOED, J. V.; BABIUK, L. A. Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Medicine**, v.86, p.86-94, 1991.

DUBOVI E. J. Bovine viral diarrhea virus. **Anais Simpósio Internacional sobre Herpesvirus Bovino e Vírus da Diarreia Viral Bovina**, Santa Maria, RS, p.1-19. . 1998.

DUFFELL, S. J.; HARKNESS, J. W. Bovine virus diarrhoea - mucosal disease infection in cattle. **The Veterinary Record**, London, v.117, p.240-245, 1985.

DUNNE, L. D. *et al.* Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. **Animal Reproduction Science**, v.58, p.39–44, 2000.

DUONG, M. C. *et al.* Prevalence of *Neospora caninum* and bovine viral diarrhea virus in dairy cows in Southern Vietnam. **Veterinary Journal**, v.175, p.390-394, 2008.

ELLIS, W. A. *et al.* Excretion of *Leptospira interrogans* serovar hardjo following calving or abortion. **Research in Veterinary Science**. v.39, p.296-8, 1985a.

ELLIS, W. A. *et al.* Bovine leptospirosis: some clinical features of serovar hardjo infection. **The Veterinary Record**, v.117, p.101-104, 1985b

ELLIS, W. A. *et al.* Prevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo in the genital and urinary tracts of non-pregnant cattle. **The Veterinary Record**, v.118, p.11-13, 1986.

ELLIS, J. A. *et al.* Bovine respiratory syncytial virus-specific immune responses in cattle following immunization with modified-live and inactivated vaccines. Analysis of proliferation and secretion of lymphokines by leukocytes in vitro. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.34, p.1–34, 1992.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v.10, p.463-478, 1994.

ENGELS, M.; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. **Veterinary Microbiology**, v. 53, p. 3-15. 1996.

FAINE, S. Leptospira and leptospirosis. CRC Pres Melbourne: **MedSci**, p.353, 1994.

FAINE S. *et al.* Leptospira and Leptospirosis. 2^a ed. **MedSci**, Melbourne. p. 353, 1999.

FAIRBANKS, K.K.. *et al.* Evaluation of fetal protection against experimental infection with type 1 and type 2 bovine viral diarrhea virus after vaccination of the dam with a bivalent modified-live virus vaccine, **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.225, p.1898–1904, 2004.

FARIA, P. C., *et al.* Prevalência de Leptospirose bovina e sua correlação com os distúrbios reprodutivos apresentados no município de Itamonte-MG. **Disponível em:** <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0418-1.pdf>. Acesso em: 03 de setembro de 2011.

FAVERO, M.; *et al.* Leptospirose bovina – variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.68, p. 29-35, 2001.

FICKEN, M. D. *et al.* Effects of modified-live bovine viral diarrhea virus vaccines containing either type 1 or types 1 and 2 BVDV on heifers and their offspring after challenge with noncytopathic type 2 BVDV during gestation, **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.228, p.1559–1564, 2006.

FLORES, E. F. *et al.* Identificação do vírus da diarreia viral bovina tipo 2 (BVDV-2) no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, p.85-89, 2000.

FLORES, E.F. Vírus da diarreia viral bovina. **Arquivo Instituto Biológico**, v.65, p.3-9, 2003.

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.

FORAR, A. L. *et al.*, The frequency of endemic fetal loss in dairy cattle. **A review Theriogenology**, v.43 p.989-1000, 1995.

FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Hesperiviridae, in Flores, E.F., **Virologia Veterinária**, Santa Maria-RS, Ed. Da UFSM, cap. 17, p. 433-488. 2007

FRAY, M.D.; *et al.* Bovine viral diarrhoea virus: its effects on ovarian function in the cow. **Veterinary Microbiology**., v.77, p.185-194, 2000.

FRAY, M. D. *et al.*, Modulation of sex hormone secretion in cows by acute infection with bovine viral diarrhoea virus. **Reproduction**, v.123, p.281, 2002.

FRERICHS, G. N. *et al.*, Safety and efficacy of live and inactivated infectious rhinotracheitis vaccines. **The Veterinary Record**, v.111, p.116-122, 1982.

FULTON, R.W. *et al.*, Antibody responses by cattle after vaccination with commercial viral vaccines containing bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea virus, parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytialvirus immunogens and subsequent revaccination at day 140. **Vaccine**. v.13, p. 726-733, 1995.

FULTON, R. W. *et al.* Vaccines. In: Goyal SM, Ridpath JF. Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, Management and Control. 1^a ed. Oxford, UK: **Blackwell Publishing**. p.209-222, 2005.

GALVÃO, C. L. Diagnóstico da infecção genital do herpesvírus I (BHV-I) pelos métodos de isolamento e imunofluorescência direta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 38, p. 92-94, 1986.

GEARY, T.W.. Estratégias para reduzir perdas embrionárias. **In anais do XII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos** (Uberlândia – Brasil), 2008.

GENOVEZ, M. E. *et al.* Isolamentos bacterianos de fetos abortados bovinos examinados no Instituto Biológico de São Paulo, no período de 1985 a 1992. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.**, v.30, p.107-112, 1993.

GERBER, J. D. *et al.* Local and systemic cellular and antibody immune responses of cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus vaccines administered intranasally or intramuscularly. **American Journal of Veterinary Research**, v.39, p.753-760, 1978.

GERIN, B. *et al.* Contamination des ovocytes et des embryons fécondes in vitro après infection expérimentale de vaches donneuses par le virus herpes bovin de type 1 (BHV-1). **Record Medicine Veterinaire.**, v.165, p.827-833, 1989.

GROOMS, D.L., *et al.* Changes in ovarian follicles following acute infection with bovine viral diarrhea virus. **Theriogenology.**, v.49, p.595–605, 1998.

GROOMS, D. L.; KEILEN, E. D.; Screening of neonatal calves for persistent infection with bovine viral diarrhea virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology.** v.9, p.898-900. 2002

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

GROOMS, D. L. *et al.* Fetal protection against exposure to bovine viral diarrhea virus following administration of a vaccine containing an inactivated bovine viral diarrhea virus fraction to cattle. **American Journal of Veterinary Research.** v.68, p.1417-1422, 2007.

GROOMS, D.L. Programas para controle de doenças infecciosas e melhoria do desempenho reprodutivo. **In anais do XIV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos** (Uberlândia – Brasil), 2010a.

GROOMS, D.L.. Diagnóstico e controle de perdas reprodutivas causadas por leptospira spp. **In anais do XIV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos** (Uberlândia – Brasil), 2010b.

GUARINO, H. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. **Preventive Veterinary Medicine**. v.85, p.34-40, 2008.

GUIMARÃES, M. A. *et al.* Epidemiologia e controle da leptospirose em bovinos. Papel do portador e seu controle terapêutico. **Comunicado Científico Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade São Paulo**, v.6, p.21-34, 1982/83.

GUITIAN J. *et al.* Infertility and abortion among first-lactation dairy cows seropositive or seronegative for *Leptospira interrogans* serovar hardjo. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.215, p.515–518, 1999.

GUNN, H. M. Role of fomites and flies in the transmission of bovine viral diarrhoea virus. **The Veterinary Record**, London, v. 132, p. 584-585, 1993.

GUSTAFSON, D. P. Herpesvirus disease of mammals and birds: comparative aspects and diagnosis. In: Comparative diagnosis of viral disease. **Academic Press**, New York. p..76-97, 1981.

HJERPE, C. A. Bovine vaccines and herd vaccination programs. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal and Practice**, v.6: 188-194, 1990.

HOMEM, V. S. F. *et al.* Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.34, p.173-180, 2001.

HOUE, H.; PALFI. V. Estimation of herd incidence of infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in herds previously without animals persistently infected with BVDV. **Acta Veterinary Scandinavica**, v.34, p.133-137, 1993.

HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 11, p. 521-547, 1995.

HUBBERT, W.T., *et al.* Bovine abortions in five northeastern states 1960-1970: Evaluation of diagnostic laboratory data. **The Cornell Veterinarian.**, v.63, p.291-316, 1973.

HUMBLOT, P. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. **Theriogenology.** v.56, p.1417-1433, 2001.

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: 17 nov. 2011.

JERRETT, I. V. *et al.* Diagnostic studies of the fetus, placenta and maternal blood from 265 bovine abortions. **The Cornell Veterinarian.**, v.74, p.8-20, 1984.

JESUS, V. L. T. Fatores de risco das doenças infecciosas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.25, p.93-96, 2001.

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

JUNQUEIRA, J. R. C. *et al.*, Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com BoVH-1, BVDV e Leptospirose hardjo. Semina. **Ciências Agrárias**, Londrina / PR, v. 27, p. 471-480, 2006.

KAFI, M. *et al.* The effect of bovine pestivirus infection on the superovulatory response of Friesian heifers. **Division of Farm Animal Studies The University of Queensland**, Qld., 4072, Australia. 1997.

KAHRS, R.F. Infectious bovine rhinotracheitis a review and update. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.171, 1055-1064, 1977.

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

KELLING, C. L. Viral Diseases of the Fetus. University of Nebraska – Lincoln. Published, as Chapter 50, in Current Therapy in Large Animal **Theriogenology** (2nd edition), edited by Robert S. Youngquist and Walter R. Threfall (St. Louis, MO: Saunders-Elsevier). p.399–408, 2007.

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

KHODAKARAM-TAFTI, A.; IKEDE, B.O. A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada, from 1990 to 2001. **Canadian Veterinary Journal**. v.46, p.635-637, 2005.

KIRKBRIDE, C.A., *et al.* Diagnostic survey of bovine abortion and stillbirth in the Northern Plains. **States Journal of the American Veterinary Medical Association** v.162, p.556-560, 1973.

KIRKBRIDE C. A.; JOHNSON, M. W. Serological examination of aborted ovine and bovine fetal fluids for the diagnosis of border disease, bluetongue, bovine viral diarrhea and leptospirosis infections. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v.1, p.132–138, 1989.

KUCERA, C. J. *et al.* Evaluation of the safety and efficacy of an intranasal vaccine containing a temperature-sensitive strain of infectious bovine rhinotracheitis virus. **American Journal of Veterinary Research**, v.39, p.607-610, 1978.

LANGONI, H.; *et al.* Prevalence of BVD, IBR and PI-3 in bovine by ELISA test. 5a Viroológica, **Sociedade Brasileira de Virologia**, Resumo B43. 1995.

LANGONI, H. *et al.* Aglutininas antileptospíricas em búfalos do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**. v.29, p.305-307, 1999.

- LARSSON, B. *et al.* Natural infection with bovine virus diarrhoea virus in a dairy herd: A spectrum of symptoms including early reproductive failure and retained placenta. **Animal Reproduction Science**, p.37-48. 1994.
- LEE, D.H. *et al.* Investigation of the prevalence of bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in South Korea. **The Veterinary Record**, v.162, p.211-213, 2008.
- LEITE, R.C. Controle da diarréia bovina a vírus (BVD) e rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, 531-535, 1999.
- LEMAIRE, M. *et al.* The control de infección e virus rinotracheits infectéis bovine. **Animal Medicine Veterinary**, v.138, p.167-180, 1994.
- LEONARD, F. C. *et al.* Duration of urinary excretion of leptospirae by cattle naturally or experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. **The Veterinary Record**, v.131, p.435-439, 1992.
- LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**; v.14, p.296–326, 2001.
- LIEBER-TENORIO E.M. Pathogenesis, In: Goyal S.M. & Ridpath J.F. (Eds), Bovine Viral Diarrhoea Virus. **Blackwell Publishing**, Iowa, p.121-143, 2005.
- LINDBERG, A. *et al.* The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future. **Reviews science technology off Epizooties**, v.25, p.961-979, 2006.
- LUCY, M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end **Journal of Dairy Science**. v.84, p.1277–1293, 2001.
- LOVATO L. T. *et al.* Herpesvirus bovino tipo 1 (BHV 1): Inquérito soro epidemiológico no rebanho leiteiro do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.25, p.425-430, 1995
- MADIN, S. H. *et al.* Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus. **Science**, v.124, p.721-722, 1956.

MAINAR-JAIME, R. C. *et al.* Epidemiological pattern and risk factors associated with BVDV infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v.52, p.63-73, 2001.

MARS, M. H. *et al.* Air borne transmission of BHV-1, BRSV and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 66, p.197-207, 1999.

MARS M. H. AgE-negative bovine herpesvirus 1 vaccine strain is not re-excreted nor transmitted in an experimental cattle population after corticosteroid treatments. **Vaccine**. v.18, p.1975-1981, 2000.

MCBRIDE, A. J. *et al.* Leptospirosis. **Current Opinion Infectious Disease**. v.18, p.376-386, 2005.

MCEWAN, B.; CARMAN, S. Animal health laboratory reports--cattle. Bovine abortion update, 1998-2004. **Canadian Veterinary Journal**. 46:46 2005.

MCGOWAN, M. R. *et al.* Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. **The Veterinary Record**, v.133, p. 39 – 43, 1993.

MCGOWAN, M.R. Studies of the pathogenesis of bovine pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated dairy cattle. **Theriogenology**, v.59, p.1051, 2003.

MCKERCHER, D. G. *et al.* Comparative studies of the etiological agents of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 23, p.320-328, 1959.

MÉDICI, K. C. *et al.* Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o Herpesvírus Bovino tipo I, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. **Ciência Rural**, v. 30, p.347-350, 2000.

MILLER, J. M. The effects of IBR virus infections on reproductive function of cattle. **Veterinary Medicine**, v. 86,p.790-794, 1991.

MILLER, M. J.; VAN DER MAATEN, J. M. Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. **American Journal of Veterinary Research**, v.45, p.790-794, 1984.

MILLER J. M.; VAN DER MAATEN M. J. Experimentally induced infectious bovine rhinotracheitis virus infection during early pregnancy: Effect on the bovine corpus luteum and conceptus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, p.223- 228, 1986.

MINEIRO, A. L. B. B.; *et al.* Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas; **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**; v.59, p. 1103-1109, 2007.

MITCHELL, D. An outbreak of abortion in a dairy herd following inoculation with an intramuscular infectious bovine rhinotracheitis vaccine. **Canadian Veterinary Journal**, v.15, p.148-150, 1974.

MOENNIG, V.; LIESS, B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. In: Bovine Viral Diarrhea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 11, p. 477-487, 1995.

MUELLER. S. B. K. *et al.* Isolamento e identificação do vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos de um rim de feto de bovino (IBRI/IPV). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 45, p. 187-190, 1978.

NARDI JÚNIOR G. *et al.* Níveis de aglutininas anti-leptospira no soro de búfalas (*Bubalus bubalis*) vacinadas com dois tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose: resultados parciais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, p.1-4, 2003.

NARDI JÚNIOR, G., *et al.* Perfil de aglutininas anti-Leptospira em bezerras búfalas vacinadas com bacterina pentavalente comercial contra leptospirose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.58, p.299-304, 2006.

NOGUEIRA, F. R. C.; *et al.* Ocorrência de rinotraqueíte infecciosa/vulvo-vaginite pustular infecciosa bovina no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Empresa de **Pesquisa Agropecuária** do Estado do Rio de Janeiro, 1986. p.1-5. (Comunicado Técnico, 167)

NORTON, J.H. et al., A farming systems study of abortion in dairy cattle on the Atherton Tableland: 3 Metabolic Factors. **Australian Veterinary Journal**. v.66, p.167-170, 1989.

OLAFSON, P. *et al.* An apparently new transmissible disease of cattle. **Cornell Veterinarian**, v. 36, p.104-108, 1946.

OLIVEIRA JUNIOR, A. C. Influência climática e de doenças infecciosas na eficiência reprodutiva de um rebanho de corte mestiço zebu no extremo sul da Bahia. **Dissertação** (mestrado), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2005, Belo Horizonte.

OLIVEIRA, J. M. S.; LOBO, I. M. F. Características clínico epidemiológicas de leptospirose em Sergipe, período de 2000-2002. In: Congresso sociedade brasileira de medicina tropical, Belém. **Anais**. v.39, p.131, 2003.

OLIVEIRA, R. L. *et al.* Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.7, p.57-86, 2006.

PITUCO, E. M. *et al.* Detecção do Herpesvírus Bovinol (HVB1) e do vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) pela Imunofluorescência Direta (IFD) em fetos bovinos abortados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.66, p.44, 1999.

PURSLEY J.R. *et al.* Synchronization of ovulation in dairy cows using PFG2 and GnRH. **Theriogenology**, v.44, p.915-923,1995.

PURSLEY, J. R. *et al.* Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2139–2144, 1998.

PUTNEY, D. J. *et al.* Embryonic development in superovulated dairy cattle exposure to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 post insemination. **Theriogenology**, v. 30, p.195-209, 1988.

PELLEGRIN, A. O. *et al.* Prevalência da Leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. **Embrapa Pantanal**. Comunicado Técnico v.22, p 1-9, 1999.

PENCE, M. Bovine Virus Diarrhea (BVD), BVD PI and the new vaccines. **Disponível em:** <<http://ads.caes.uga.edu/extension/beefteam/pdf/MBVDPInewvaccines.pdf>>. Acesso em: 4 nov. de 2011.

PRESCOTT, J.F. *et al.* Seroprevalence and association with abortions of leptospirosis in cattle in Ontario. **Canadian Journal of Veterinary Research**.v.52, p.210–5, 1989.

PRESCOTT, J.F. Leptospirosis, In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (Eds.) Pathology of domestic animals. **Academic Press**, Inc, 4^oed, p.503-511, 1993.

QUINCOZES, C. G. *et al.* Prevalência e fatores associados a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região sul do Rio Grande do Sul. **Seminário de Ciências Agrárias**, v.28, p.269-276, 2007.

RABASSA, V. R. *et al.* Influência da titulação sorológica de doenças da reprodução sobre a taxa de concepção e prenhez em vacas de corte. **Anais do XIV Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas**. 2005

RADOSTITS. O.M. *et al.* Clínica veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2002.

REBHUN, W. C. Doenças do gado leiteiro. **Roca**, p.104-105; 239-253. 2000.

REIS, E. L. *et al.* Embryonic mortality in recipients (Bos indicus x Bos taurus) superovulated with eCG. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.198, 2004.

RESENDE, O. A. Problemas não-infecciosos que afetam a reprodução de bovinos: visão do veterinário de campo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.25, p.96-101, 2001

RIDPATH, J. F. *et al.* Phylogenetic, antigenic and clinical characterization of type 2 BVDV from North America. **Veterinary Microbiology**, v.77, p. 145-155, 2000.

RIDPATH, J. F. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. **Biological**, v.31, p. 127-131, 2003.

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

RIDPATH J.F. Bovine Viral Diarrhoea Virus: Global status. **Veterinary Clinics of North America: Food Anim. Pract**, v.26, p.105-121, 2010.

RIET-CORREA, F. *et al.* Viroses confundíveis com febre aftosa. **Ciência Rural**, v. 26, p. 323-332. 1996.

RIET-CORREA, F.; LEMOS, R. A. A. Leptospirose. In: RIETCORREA, F. *et al.* Doenças de ruminantes e eqüinos. 2.ed., São Paulo: **Varela**, v.1, p.275-284, 2001.

ROBERT, A. *et al.* Large scale assessment of the effect associated with bovine viral diarrhoea infection on fertility of dairy cows in 6149 dairy herds in Brittany (western France). **Theriogenology**, v. 61, p.117 – 127, 2004.

ROCHE, J. F. *et al.* Reproductive wastage following artificial-insemination of heifers. **The Veterinary Record**, v.109, p.401-404, 1981.

RODNING, P. S., *et al.* Comparison of three commercial vaccines for preventing persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. **Theriogenology**. v.73, p.1154-1163, 2010.

ROEDER, P. *et al.* Pestivirus fetopathogenicity in cattle: changing sequella with fetal maturation. **The Veterinary Record**, v.118, p.44. 1986.

ROIZMAN, B. *et al.* Family Herpesviridae. **Archives of Virology**, p.114-127, Supplementum 10. 1995.

ROIZMANN, B.; PELLETT, P.E. The Family herpesviridae: a brief introduction, in: Knipe, M. D. & Howley, P. M., **Fields Virology**, Philadelphia-USA, 5th Ed. Lippincott Williams & Wilkins, v. 2, p.2480-2497. 2007.

ROMANO, J. E. Early pregnancy diagnosis and embryo/fetus mortality in cattle. **dissertation**, doctor of philosophy. 2004.

ROSE, G.W. Mechanism of tissue penetration by *Leptospira Pomona*: active, penetration studies in vitro. **American Journal of Veterinary Research**, v.27, p.1461-1471, 1966.

SALDANHA, G. B; *et al.* Frequência De Leptospirose Bovina Na Região Sul Do Brasil. XVI Congresso Estadual de Medicina Veterinária, **Anais**, Passo Fundo, 2004.

SANTOS, J. E. P. *et al.* Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of highproducing lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2881-2894, 2001

SANTOS, J. E. P. *et al.* Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Animal Reproduction science**, v.80, p.31–45, 2004.

SARTORI, R., *et al.* Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2803–2812, 2002.

SARTORI, R., *et al.* Comparison of artificial insemination (AI) versus embryo transfer (ET) in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.238, 2003.

SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.35-50, 2004.

SCHWARTZ, A. J. F. *et al.* Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in tissue culture and development of a vaccine. **Proceedings of the society for Experimental Biology Medicine**. v.96, p.453-458,1957.

SETIEN, J. A. A. El virus de la rino. I. Bov (bovid Herpesvirus 1) propiedades y vacunacion. **Clinical Veterinary**, c.4, p.161-190, 1987.

SHIPPER, I. A.; KELLING, C. L. Evaluation of inactivated infectious bovine rinotracheitis vaccine. **Canadian Veterinary Journal**, v.39, p.402-405, 1975.

SILKE, V. *et al.* Extent, pattern and factors associated with late embryonic losses in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.71, p.1–12, 2002.

SILVA, A. M. *et al.* Herpesvírus bovino (tipo 1 e 5) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV). In: simpósio internacional sobre herpesvírus bovino (tipo 1 e 5) e vírus da diarreia viral bovina (bvdv). **Anais Santa Maria, RS**, 1998.

SPRECHER, D. *et al.* An outbreak of fetal and neonatal losses associated with the diagnosis of bovine viral diarrhea virus in a dairy herd. **Theriogenology**, v.36, p.567–606, 1991.

STEELE, J. H. *et al.* Leptospirosis as a world problem. **Veterinary Medicine**, v.3, p.517-527, 1957.

SUTTON, M. L. Rapid onset of immunity in cattle after intramuscular injection of a modified-live-virus IBR vaccine. **Veterinary Medicine**, v.75: p.1447-1456, 1980.

SZENCI, O. *et al.* Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 test for pregnancy detection in dairy cows. **Theriogenology**, v.50, p.77–88, 1998.

TAKIUCHI, E. *et al.* Herpesvírus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico. **Seminário de Ciências Agrárias**, v.22, p.203-209, 2001.

TALAFHA, A. Q. *et al.* Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhea virus infection in dairy herds in Jordan. **Tropical Animal Health Production**, v.41, p.99-506, 2008.

TAN, M. T. *et al.* Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydin Province. **Turkish Journal Veterinary and Animal Sciences**. v.30, p.299-304, 2006.

TE BRUNGE, L.A.; Dreyer T. *Leptospira interrogans* serovar hardjo associated with bovine abortion in South Africa. Onderstepoort. **Journal Veterinary Research**, v.52, p.51-52, 1985.

THIRY, J. *et al.* Ruminant alphaherpesvirus related Herpesvirus 1. **Veterinary Research**, v. 37, p.169-190, 2006.

THIRY, J. *et al.* Isolation and characterisation of ruminant alphaherpesvirus closely related to bovine herpesvirus 1 in a free ranging red deer. **BioMed Central Veterinary Research**, v.3, p.26, 2007

THOMPSON, J. A. *et al.* Spatial hierarchical variances and age covariance for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.76, p.290-301, 2006.

TODD, J. D., *et al.* Intranasal vaccination against infectious bovine rhinotracheitis: Studies on early onset of protection and use of the vaccine in pregnant cows. **American Veterinary Medicine Association**, v.159, p.1370-1374, 1971.

TODD, J. D., *et al.* Interferon in nasal secretions and sera of calves after intranasal administration of avirulent infectious bovine rhinotracheitis virus: Association of interferon in nasal secretions with early resistance to challenge with virulent virus. **Infection and Immunity**, v.5, p.699-706, 1972.

TREMBLAY, R. Transmission of bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Medicine**, Lenexa, v. 91, p. 858-866, 1996.

VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK, S. *et al.* Bovine herpesvirus-1 vaccines. **Immunology and Cell Biology**. c.71, p. 405-420, 1993.

VAN OIRSCHOT, J. T. *et al.* Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. **Veterinary Microbiology**, v.53, p.43-54, 1996.

VANROOSE, G. *et al.* Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v.60, p.131-143, 2000.

VASCONCELOS, J. L. M., *et al.* Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. **Biology of Reproduction**, v.56, p.140, 1997.

VASCONCELOS, J. L. M. *et al.* Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, p.1067–1078, 1999.

VIRAKUL, P. *et al.* Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. **Theriogenology**, v.9, p.441, 1988.

XUE, W. *et al.* Fetal protection against bovine viral diarrhea virus types 1 and 2 after the use of a modified-live virus vaccine. **Canadian journal of veterinary research**, v.73, p.293-297, 2009.

WYLER, R. *et al.* Infectious bovine rinotracheitis / vulvovaginites (BHV-1). In: Herpesvirus Diseases of cattle, horses and pigs. London: **Academic Press**, p.01-07, 1990.

YORK, C. J.; SCHWARTZ, A. J. F. Immunological studies on infectious bovine rhinotracheitis. **Proceedings U.S. Livestock Saint**, v.60, p.149-154, 1956.

ZUNINO, M. E.; PIZARRO, P.R.; Leptospirosis - Puesta al dia. **Revista Chilena de Infectologia**, v. 24, p.220-226, 2007.

ZYGRAICH, N. *et al.* In vivo and in vitro properties of a temperature sensitive mutant of infectious bovine rhinotracheitis virus. **Research in Veterinary Science**. v.16: p.328-335, 1974.

CAPÍTULO 2

Incidência de perdas gestacionais e efeito da vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez em vacas de corte submetidas à inseminação artificial em tempo fixo.

Incidência de perdas gestacionais e efeito da vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez em vacas de corte submetidas à inseminação artificial em tempo fixo

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a incidência de perdas gestacionais em vacas de corte e avaliar o efeito da vacina contra IBR/BVD/Leptospirose (5,0 mL, Cattle Master® 4 + L5) na taxa de prenhez e perdas de gestação de vacas submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo [IATF, Protocolo; D0: benzoato de estradiol (2mg, Estrogin®) e inserção do dispositivo intravaginal de P4 (CIDR®, P4,1,9g); D7: dinoprost trometamina (PGF2 α , 12,5mg, Lutalyse®); D9: retirada do dispositivo intravaginal de P4, administração cipionato de estradiol (0,5mg, ECP®) e remoção temporária de bezerros (RTB) por 48 horas; D11: IATF]. A avaliação de gestação foi realizada aos 30 e 120 dias pós IATF, para identificação de vacas prenhas e identificação de perdas gestacionais. No EXP1, foram avaliadas 8725 vacas para determinar a taxa de perda de gestação entre 30 e 120 dias. Foram usadas vacas pertencentes a dezenove propriedades com programas sanitários diferentes: sem imunização para doenças da reprodução (Grupo Sem, n = 7.311); com imunização semestral para Leptospirose (Grupo Leptospirose, n = 738); ou com imunização semestral para leptospirose e anual para Rinotraqueíte Infecciosa Bovina e Diarréia Viral Bovina (Grupo IBR/BVD/Leptospirose, n = 676). No EXP2 (n=1968) e EXP3 (n=2793), as vacas foram divididas aleatoriamente dentro do mesmo lote para receberem ou não a vacina contra IBR/BVD/Leptospirose (5,0 mL, Cattle Master®4 + L5): a primeira dose foi aplicada no início do protocolo de IATF e a segunda dose no momento do primeiro diagnóstico gestacional (US1/30d). No EXP2 as fazendas não utilizavam nenhum tipo de vacina preventiva para as doenças da reprodução, já no EXP3 as fazendas utilizavam vacinação contra Leptospirose. No EXP 4 foram utilizadas 367 vacas da raça Nelore submetidas à IATF, os animais foram divididos aleatoriamente para receber a vacina em momentos diferentes. Os animais dos grupos: pré-vacinado (n = 232) receberam a primeira dose trinta dias antes do início do protocolo de IATF (D -41) e a segunda dose no início do protocolo (D-11); vacinado dia 0 (n = 135) receberam a primeira dose no início do protocolo de IATF (D-11) e a segunda dose no momento do US1 (D30). Os dados foram analisados no PROC GLIMMIX DO SAS. No EXP1 a taxa de prenhez aos 30 e 120 dias foi de 46,3 %

(4037/8725) e 44,3 % (3861/8725), respectivamente e a incidência de perda gestacional foi de 4,4% (176/4037). O programa de vacinação usado pelas fazendas influenciou a incidência de perda de gestação [Grupo Sem: 4,6%(153/3339); Grupo Leptospirose: 5,0(16/320); Grupo IBR/BVD/Leptospirose: 1,6%(6/378)]. No EXP2 houve efeito de tratamento nas taxas de prenhez aos 30 e 120 dias pós IATF e na perda gestacional ($P < 0,01$) [30d: Vacinado, 54,0% (546/935); Controle, 49,4% (548/1015)/ 120d: Vacinado, 52,7 (532/935); Controle, 47,0% (523/1015) / Perda: Vacinado, 3,0% (14/546); Controle, 8,5% (25/548)]. No EXP3 a taxa de prenhez aos 30 e 120 dias após IATF não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,10$). Porém houve efeito de tratamento na taxa de perda de gestação ($P < 0,05$) [30d: Vacinado, 45,9% (599/1292); Controle, 46,1% (726/1501) / 120d: Vacinado, 45,1% (579/1292); Controle, 44,6% (692/1501) / Perda: Vacinado, 1,5% (20/599); Controle, 5,5 (34/726)]. No EXP4 houve efeito de tratamento nas taxas de prenhez ($P < 0,01$) aos 30 e 120 dias pós IATF, porém não houve efeito de tratamento ($P > 0,10$) na perda de gestação [30d: Vacinado, 55,3 (129/232); Controle, 41,0% (61/135) / 120d: Vacinado, 54,4% (127/232); Controle, 39,7% (58/135) / Perda: Vacinado, 1,6% (2/129); Controle, 4,6% (3/61)].

Palavras chave: IBR, BVD, Leptospirose, Aborto, Embrião

Incidence of pregnancy loss and effect of vaccination against reproductive diseases on pregnancy rate in beef cows submitted to fixed timed artificial insemination

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the incidence of pregnancy loss in beef cows, and evaluate the effect of the vaccine against IBR/BVD/Leptospirosis (5.0 mL, *Cattle Master*® 4 + L5) in pregnancy rate and pregnancy loss of cows subjected to fixed-time artificial insemination [TAI, Protocol; D0: estradiol benzoate (2mg, Estrogin®) and insertion of intravaginal P₄ device (CIDR®, P₄, 1.9 g); D7: dinoprost tromethamine (PGF₂, 5mg *Lutalyse*®), D9: withdrawal of intravaginal P₄ device, administration of estradiol cypionate (0.5 mg, ECP®) and temporary calf removal for 48 hours; D11: TAI]. The pregnancy diagnosis was performed at 30 and 120 days after TAI for identify cows pregnant and pregnancy loss respectively. In EXP1 8725 cows were evaluated to determine the rate of pregnancy loss between 30 and 120 days. The cows were from nineteen farms with different health programs. Cows without immunization reproductive diseases (Group No, n = 7311), with immunization semester to leptospirosis (Leptospirosis Group, n = 738) or semester immunization against leptospirosis and annual against infectious rhinotracheitis bovine and bovine viral diarrhea (Group IBR/BVD/Leptospirosis, n = 676). In EXP2 (n = 1968) and EXP3 (n = 2793) cows were randomly assigned within the same batch to receive or not vaccine against IBR/BVD/Leptospirosis (5.0 ml, 4 *Cattle Master*® L5 +): the first dose was administered at the beginning of the TAI protocol and the second dose at the time of first diagnosis of pregnancy (US1/30d). In EXP2 farms did not use any kind of preventive vaccine for diseases of reproduction, as in exp3 farms used vaccination against Leptospirosis. In EXP 4 367 nelore cows were submitted to TAI, the animals were randomly assigned to receive the vaccine at different times. Animals from groups: pre-vaccinated (n = 232) received the first dose thirty days before the beginning of the TAI protocol (D-41) and the second dose at the beginning of protocol (D-11); vaccines day 0 (n = 135) received the first dose at the beginning of the TAI protocol (D-11) and the second dose at the time of US1 (D30). The data were analyzed using PROC GLIMMIX OF SAS. In EXP1 the pregnancy rate at 30 and 120 days was 46.3% (4037/8725) and 44.3% (3861/8725), respectively and the rate of pregnancy loss was 4.4% (176/4037). The vaccination program used by the loss of farms affected pregnancy [Group No: 4.6

(153/3339), Group Leptospirosis: 5.0 (16/320), Group IBR / BVD / Leptospirosis: 1.6 (6 / 378)]. In EXP 2 there was no treatment effect on pregnancy rates at 30 and 120 days post TAI and pregnancy loss ($P < 0.01$) [30d: Vaccine, 54.0% (546/935) Control, 49.4% (548/1015) / 120d: Vaccine, 52.7 (532/935) Control 47.0 (523/1015) / loss: Vaccine, 3.0 (14/546) Control, 8.5 (25/548)]. In EXP3, the pregnancy rate at 30 and 120 days after TAI did not differ between treatments ($P > 0.10$). However there was no treatment effect on the rate of pregnancy loss ($P < 0.05$) [US1: Vaccine, 45.9 (599/1292) Control 46.1 (726/1501) / US2: Vaccine, 45.1 (579/1292); Control, 44.6 (692/1501) / loss: Vaccine, 1.5 (20/599) Control, 5.5 (34/726)]. In EXP 4 there was no treatment effect on pregnancy rates ($P < 0.01$) at 30 and 120 days after TAI, but there was no treatment effect ($P > 0.10$) on pregnancy loss [30d: Vaccines, 55.3 (129/232) Control 41.0 (61/135) / 120d: Vaccine, 54.4 (127/232) Control 39.7 (58/135) / loss: Vaccine, 1.6 (2/129); Control, 4.6 (3/61)].

Key words: IBR, BVD, Leptospirosis, Abortion, Embryo

1. INTRODUÇÃO

Um sistema de produção de gado de corte lucrativo, está relacionado à implementação de técnicas, tendo como prioridade a melhora da eficiência reprodutiva do rebanho [1]. A utilização da IA vem tendo crescente aumento nos últimos cinco anos [2], sendo a difusão da técnica de IATF, o fator determinante para este aumento. Em contra partida o controle sanitário para doenças da reprodução não vem recebendo a devida importância que merece. No Brasil, estudos têm demonstrado soroprevalências altas para o herpesvírus bovino 1 (BoHV-1), para o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e para a *Leptospira hardjo* (*L. hardjo*). A IBR, a BVD e a leptospirose, tanto de forma isolada quanto em associação, ocorrem em expressivo percentual dos rebanhos bovinos brasileiros [3–5].

Estudos demonstram que cerca de 37 a 50% das causas de perdas gestacionais estão relacionados com doenças infecciosas [6,7] destacando-se entre elas a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), a Diarreia Viral Bovina (BVD) e a Leptospirose [8]. O BoHV-1 tem efeito negativo na fertilidade, pois influencia na qualidade dos embriões, causa morte embrionária e abortos [9,10]. Estima-se que 70 a 90% das infecções pelo BVDV ocorram sem a manifestação de sinais clínicos e que o principal problema econômico é decorrente da infecção intra-uterina, que pode estar associada à morte embrionária e aborto [11,12]. A leptospirose também pode causar morte fetal, abortos e infertilidade [13,14].

Mundialmente, as perdas reprodutivas são consideradas responsáveis pela maior queda econômica isolada para os produtores de bovinos [15,16]. Segundo Geary [17], cerca de 40 milhões de vacas e novilhas de corte expostas anualmente à reprodução nos Estados Unidos, tem como perdas anuais números superiores a 2,2 bilhões de Reais devido à mortalidade embrionária. Calcula-se então que no Brasil, com mais de 95 milhões de vacas de corte anualmente em reprodução, as perdas causadas pela mortalidade embrionária podem ser maiores.

Acredita-se que as perdas gestacionais em bovinos podem variar de rebanho para rebanho, influenciadas por estímulos nocivos de origem infecciosa ou não infecciosa, entre outros fatores. São poucos os trabalhos sobre perda gestacional em bovinos de corte, porém, já está constatado em diversos trabalhos a alta incidência da perda gestacional em vacas de leite [17–19]. Torna-se de suma importância a realização de pesquisa específica sobre vacas de corte, para que seja possível visualizar o impacto na produtividade e economia da pecuária de corte brasileira.

Os protocolos de IATF são utilizados para sincronizar a ovulação, permitindo inseminar vacas independente da detecção de cio, conseqüentemente, aumentando as taxas de serviço [20,21]. Sendo possível inseminar varias vacas em momentos pré determinados, o que facilita a realização de estudos onde o desempenho reprodutivo pode ser avaliado em momentos específicos.

As doenças infecciosas estão associadas à baixa eficiência reprodutiva e amplamente disseminadas no rebanho bovino nacional. Neste contexto é importante identificar medidas estratégicas contra os principais agentes infecciosos e assim direcionar programas de prevenção mais eficazes. A imunização pode ser uma técnica empregada para reduzir perdas reprodutivas pela prevenção das doenças infecciosas [22], entretanto poucos trabalhos demonstram a efetividade de vacinas em relação à eficiência reprodutiva.

O objetivo deste trabalho foi determinar a incidência de perdas gestacionais em vacas de corte e avaliar o efeito da vacina contra IBR/BVD/Leptospirose na taxa de prenhez e perdas de gestação entre 30 e 120 dias de vacas submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

Sendo esperadas as hipóteses: 1) A eficiência reprodutiva é variável entre fazendas. 2) A utilização preventiva de vacina para doenças da reprodução como IBR, BVD e Leptospirose aumentam a eficiência reprodutiva de vacas submetidas a IATF.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Manejo sanitário para doenças da reprodução

Em todos os experimentos que compõem este estudo (experimentos 1, 2, 3 e 4), as fazendas seguiam medidas de controle da Brucelose, sendo observado que esta enfermidade encontrava-se controlada. As medidas de controle seguidas eram: 1) todas as fêmeas eram regularmente vacinadas para entre 4 a 8 meses de idade; 2) todos os animais reprodutores adquiridos de terceiros, somente eram incorporados ao plantel, após o resultado negativo para a brucelose, obtidos pela técnica da soroaglutinação rápida com antígeno acidificado tamponado (Instituto de Tecnologia do Paraná, Tecpar/PR); 3) regularmente, a cada estação de monta, uma amostragem do rebanho que incluía também os touros, era realizado o diagnóstico sorológico de brucelose.

Não houve qualquer tipo de segregação dos lotes. Os animais selecionados para o acompanhamento do desempenho reprodutivo permaneceram durante todo o

experimento em conjunto com o restante do rebanho, não tendo sido adotadas alterações nos manejos reprodutivo, sanitário, alimentar e zootécnicos já implantados nas fazendas.

2.2. Experimento 1

2.2.1. Local experimental, animais e tratamentos

O objetivo deste estudo foi avaliar as perdas gestacionais entre 30 e 120 dias de gestação em vacas de corte submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Foram utilizadas 8.725 vacas paridas da raça Nelore, pertencentes a vinte propriedades dos estados de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso.

As propriedades seguiam três programas sanitários: sem imunização para doenças da reprodução (15 fazendas; Grupo Sem, n = 7.311), com imunização semestral para Leptospirose (2 fazendas; Grupo Leptospirose, n = 738) ou com imunização semestral para Leptospirose e anual para Rinotraqueíte infecciosa bovina e Diarréia Viral Bovina (3 fazendas; Grupo IBR/BVD/Leptospirose, n = 676).

Todos os animais foram sincronizados utilizando-se o seguinte protocolo de sincronização da ovulação: dia -11 (D -11): administração de 2 mg de benzoato de estradiol (BE; 2 mL i.m. de Estrogin[®], Farmavet, Brasil) e inserção de um dispositivo intravaginal de P4 contendo 1,9 g de P4 (CIDR[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil), novo (1^o Uso) ou utilizado previamente por nove (2^oUso), 18 (3^o Uso), ou 27 dias (4^o Uso); dia -4 (D -4): aplicação de 12,5 mg de dinoprost trometamina (PGF2 α ; 2,5 mL i.m. de Lutalyse[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil); dia -2 (D -2): retirada do dispositivo intravaginal de P4, aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol (0,25 mL i.m. de E.C.P.[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil) e remoção temporária de bezerros (RTB) por 48 horas. Aproximadamente 48 h após a retirada do dispositivo de P4 foi realizada a IATF (D 0) e os bezerros foram reagrupados com as matrizes. O escore de condição corporal (ECC) foi atribuído ao momento da IATF usando escala de 1 a 5 [23]. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 (US1) e 120 dias (US2) com aparelho Aloka, modelo SSD-500, com transdutor linear de 7,5 MHz.

Para análise da taxa de prenhez e perda gestacional, consideraram-se as equações: Taxa de prenhez (%) = número de vacas gestantes no US1 x 100 / número de vacas submetidas à IATF; Taxa de perda gestacional (%) = número de vacas gestantes no US1- gestantes no US2 x 100 / gestantes no US1.

2.2.2. Análise estatística

As análises estatísticas das variáveis binomiais foram realizadas pelo PROC GLIMMIX do SAS. Para a análise da perda de gestação, os modelos consideraram os efeitos de programa sanitário, fazenda, categoria. Foram considerados estatisticamente significantes valores de $P \leq 0,05$ e tendências valores de entre $P \geq 0,05$ e $P \leq 0,10$. A variável, lote (fazenda) foram incluídos no modelo como efeito aleatório. Efeitos fixos com $P > 0,20$ foram retiradas do modelo. Os efeitos significativos foram reportados pela média dos quadrados mínimos.

2.3. Experimento 2 e Experimento 3

2.3.1. Local experimental, animais e tratamentos

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da vacinação contra IBR/BVDV/Leptospirose na taxa de prenhez e perdas de gestação de vacas submetidas à IATF. No experimento 2, foram utilizadas 1.968 vacas da raça Nelore submetidas à IATF, pertencentes a seis propriedades (Fazenda Nhuvera, n=299; Fazenda Paiolão, n=392; Fazenda Palotina, n=175; Fazenda Forquilha, n=361; Fazenda São Bernardo, n=163 e Fazenda Santa Rosa, n=560). No experimento 3, foram utilizadas 2.793 vacas da raça Nelore submetidas à IATF, pertencentes a sete propriedades (Fazenda Mustafa, n=359; Fazenda Santa Luzia, n=277; Fazenda São Pedro, n=168; Fazenda Paquetá, n=238; Fazenda Cedro, n=126, Fazenda Estrela do Guaporé, n=585 e Agropecuária Fazenda Brasil, n=585). O protocolo de IATF foi realizado, como descrito no experimento 1.

No experimento 1, nenhuma das fazendas realizava vacinação contra Leptospirose, IBR e BVD em seu programa sanitário semestral ou anual. Já no experimento 2 as fazendas realizavam vacinação semestralmente contra Leptospirose.

Em cada lote, os animais foram divididos aleatoriamente para receber (Grupo Vacinado D-11; n = 953) ou não (Grupo Controle; n = 1.015) a vacina contra IBR/BVD/Leptospirose (5,0 mL, i.m., CattleMaster[®] 4+L5, Pfizer Animal Health, Lincoln, USA), sendo que nos animais vacinados a primeira dose foi administrada no início do protocolo de IATF (D -11) e a 2^o dose no momento do diagnóstico de gestação da IATF (US1; Figura 2). Os diagnósticos de gestação (US1 e US2), avaliação de ECC, cálculo da taxa de prenhez e perda gestacional foram realizados conforme citado no Experimento 1.

2.3.2. Colheita de amostras de sangue para sorologia.

Foi coletado sangue de uma amostragem do rebanho de cada experimento, para o diagnóstico sorológico de IBR, BVD e Leptospirose. A colheita de sangue foi feita no momento do primeiro diagnóstico de gestação (US1), apenas dos animais que não haviam recebido o tratamento (Grupo Controle). O sangue foi colhido da veia coccígea, em tubos com vácuo sem anticoagulante. Após a colheita, os tubos contendo sangue foram imediatamente colocados em gelo na posição vertical e mantidos por 24 h em refrigerador de 2 °C a 8 °C. Após a formação do coágulo e completa separação do soro, as amostras de soro foram armazenadas em freezer a -20 °C até a realização dos exames sorológicos.

A detecção de anticorpos neutralizantes para o BoHV-1 e para BVDV foi realizada pela microtécnica de soroneutralização empregando células MDBK (*Madin Darby bovine kidney*) e 100 TCID₅₀ de cada vírus e para Leptospirose foi utilizada a técnica de Soroaglutinação. Como ponto de corte para as reações sorológicas foram considerados os títulos: $\geq 1:8$ para IBR, $\geq 1:16$ para BVD e ≥ 100 para Leptospirose (sorovar *hardjo*) [24–27]. Todas as análises foram feitas no Laboratório de Virologia Animal da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

2.3.3. Análise estatística

As análises estatísticas das variáveis binomiais foram realizadas pelo PROC GLIMMIX do SAS. Para a análise da taxa de prenhez (30 e 120 dias) e perda de gestação, os modelos consideraram os efeitos de tratamento, ECC, categoria, e as interações. Foram considerados estatisticamente significantes valores de $P \leq 0,05$ e tendências valores de entre $P \geq 0,05$ e $P \leq 0,10$. A variável, lote (fazenda) foram incluídos no modelo como efeito aleatório. Efeitos fixos com $P > 0,20$ foram retiradas do modelo. Os efeitos significativos foram reportados pela média dos quadrados mínimos.

2.4. Experimento 4

2.4.1. Local experimental, animais e tratamentos

O objetivo foi avaliar se o momento da vacinação em relação à IATF, interfere na prenhez e manutenção da gestação. Foram utilizadas 367 vacas primíparas da raça Nelore submetidas à IATF de acordo com protocolo descrito no Experimento 1, pertencentes à Fazenda Estrela do Guaporé, situada no município de Comodoro (MT).

A fazenda não realizava vacinação contra IBR e BVD, mas realizava a vacinação semestral contra Leptospirose.

Em cada lote, os animais foram divididos aleatoriamente para receber a vacinação contra IBR/BVD/Leptospirose, em momentos diferentes. Os animais dos Grupos: 1) Pré-vacinado (n = 232) receberam a primeira dose trinta dias antes do início do protocolo de sincronização da ovulação (D -41) e a segunda dose no início do protocolo (D -11); 2) Vacinado D-11 (n = 135) receberam a primeira dose no início do protocolo de IATF (D -11) e a segunda dose no momento do US1 (D 30) (Figura 2).

Os diagnósticos de gestação (US1 e US2), avaliação de ECC, cálculo da taxa de prenhez e perda gestacional foram realizados como citado no Experimento 1. A colheita das amostras de sangue foi realizada no D -41, antes dos animais serem vacinados.

Foi usado para todos os experimentos a vacina CattleMaster® 4+L5, uma preparação liofilizada, contendo BoHV-1 e PI3 (amostras atenuadas - termossensíveis), BVDV (virus inativado), BRSV (atenuada modificada) e *Leptospira* spp. (culturas inativadas e cinco sorovares, com adjuvante de hidróxido de alumínio).

2.4.2. Análise estatística

As análises estatísticas das variáveis foram realizadas pelo PROC GLIMMIX do SAS. Para a análise da taxa de prenhez aos 30 e 120 dias e perda de gestação, os modelos consideraram os efeitos de momento em que a vacinação foi realizada, ECC, sêmen e as interações. Foram considerados estatisticamente significantes valores de $P \leq 0,05$ e tendências valores de entre $P \geq 0,05$ e $P \leq 0,10$. A variável, lote (fazenda) foram incluídos no modelo como efeito aleatório. Efeitos fixos com $P > 0,20$ foram retiradas do modelo. Os efeitos significativos foram reportados pela média dos quadrados mínimos.

3. RESULTADOS

3.1. Experimento 1

A taxa de prenhez aos 30 e 120 dias foi de 46,3 % (4037/8725) e 44,3 % (3861/8725), respectivamente e a taxa de perda de gestação foi de 4,4% (176/4037) , sendo verificado variação de prenhez aos 30 dias de 24-66%, aos 120 dias de 22-64% e de perda de gestação de 0-9% (Tabela 1). Foi observado variação na taxa de perda de gestação entre as categorias de vacas (Tabela 3) e fazendas (seis fazendas com perda de gestação menor que 3,0%; cinco fazendas com perda de gestação entre 3,0% a 5,0%; nove fazendas com perda de gestação maior que 5,0%) (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de prenhez e incidência de perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF segundo, a fazendas (US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; PERDA: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30^o e 120^o dia) e programa de vacinação realizados nas fazendas.

Local	Fazenda	Programa	Nº	US1%(30d)	US2(120d)	PERDAS(%)	P*
MATO GROSSO	A	Sem	1259	48,61 (612)	47,57(599)	2,13 (13)	0.0217
	B	Sem	1129	36,13 (408)	34,54(390)	4,42 (18)	0.0001
	C	IBR/BVD/LEPTO	293	63,82 (187)	62,45(183)	2,20 (4)	0.1839
	D	Sem	600	43,83 (263)	42,83(257)	2,31 (6)	0.0906
MATO GROSSO DO SUL	E	LEPTOSPIROSE	320	46,56 (149)	43,75(140)	6,05 (9)	0.0009
	F	LEPTOSPIROSE	418	40,90 (171)	39,23(164)	4,03 (7)	0.0248
	G	Sem	194	38,65 (75)	36,59(71)	5,31 (4)	0.0297
	H	Sem	566	53,71 (304)	51,23(290)	4,62 (14)	0.0003
	I	Sem	57	40,35 (23)	36,84(21)	8,69 (2)	0.0447
	J	Sem	225	43,11 (97)	39,11(88)	9,27 (9)	<0.0001
	K	Sem	158	53,79 (85)	51,89(82)	3,51 (3)	0.1254
	L	Sem	287	53,65 (154)	49,12(141)	8,42 (13)	<0.0001
	M	Sem	246	23,98 (59)	22,76(56)	5,08 (3)	0.0718
	N	Sem	561	44,20 (248)	41,53(233)	6,07 (15)	<0.0001
	O	Sem	367	65,66 (241)	64,30(236)	2,10 (5)	0.1415
	P	Sem	398	63,06 (251)	59,29(236)	5,98 (15)	<0.0001
Q	Sem	689	40,05 (276)	37,30(257)	6,96 (19)	<0.0001	
R	Sem	575	42,26 (243)	39,65(228)	6,15 (15)	<0.0001	
S	IBR/BVD/LEPTO	95	54,73 (52)	54,73(52)	00,00 (0)	1.0000	
T	IBR/BVD/LEPTO	288	48,26 (139)	47,56(137)	1,42 (2)	0.4373	

*Valor de P relacionado à significância na perda de gestação (diferente ou não de 0).

Tabela 2. Incidência de perda gestacional, de vacas Nelore submetidas à IATF, agrupadas de acordo com o programa sanitário utilizados pelas fazendas:

Programa Sanitário^x	Perda (%)	P*
Grupo Sem (n=15)	4,61 ^a (154/3339)	<0.0001
Grupo Leptospirose (n=2)	5,00 ^a (16/320)	0.0016
Grupo IBR/BVD/Leptospirose (n=3)	1,58 ^b (6/378)	0.3031

^{a, b} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente, P<0,05.

* Valor de P relacionado à significância na perda de gestação (diferente ou não de 0).

^x Propriedades sem vacinação contra doenças da reprodução (Grupo Sem); Propriedades com vacinação contra Leptospirose (Grupo Leptospirose); Propriedades com vacinação contra Leptospirose, IBR, BVD (Grupo IBR/BVD/Leptospirose).

Tabela 3. Incidência de perda gestacional, de fêmeas Nelore, submetidas à IATF, de acordo com a categoria de fêmeas utilizadas:

Categoria	Perda (%)	P*
Novilhas	4,68 (18/322)	0,0031
Primíparas	8,15 (13/160)	<0.0001
Múltiparas	4,44 (138/3384)	<0.0001
Solteiras	4,07 (7/171)	0,0859

*Valor de P relacionado à significância na perda de gestação (diferente ou não de 0).

3.2. Experimento 2 e 3

Foi observado variação nas taxas de prenhez (30 e 120 dias) e perda de gestação entre fazendas (Tabela 4).

Tabela 4. Taxa de prenhez e incidência de perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF segundo, a fazendas (US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; PERDA: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30^o e 120^o dia) programa de vacinação realizados nas fazendas, de acordo com os experimentos (Exp.2, Exp.3):

Local	Fazenda	Programa	Nº	US1%(30d)	US2%(120d)	Perdas(%)
Experimento 2	Berneck (A)	Sem	163	37,42 (61)	36,19 (59)	3,27 (2)
	Forquilha (B)	Sem	361	55,12 (199)	51,80 (187)	6,03 (12)
	Nhuvera (C)	Sem	299	59,19 (177)	58,19 (174)	1,69 (3)
	Paiolão (D)	Sem	392	56,37 (221)	55,35 (217)	1,80 (4)
	Palotina (E)	Sem	175	54,85 (96)	51,42 (90)	6,25 (6)
	Sta Rosa (F)	Sem	560	60,71 (340)	58,57 (328)	3,52 (12)
Experimento 3	Faz. Brasil (G)	Leptospirose	1040	38,65 (402)	36,63 (381)	5,22 (21)
	Pqt. Cedro (H)	Leptospirose	126	30,15 (38)	30,15 (38)	0,00 (0)
	Estrela (I)	Leptospirose	585	49,23 (288)	46,15 (270)	6,25 (18)
	Sta Luzia (J)	Leptospirose	277	64,98 (180)	63,89 (177)	1,66 (3)
	Paqueta (K)	Leptospirose	238	57,98 (138)	57,56 (137)	0,72 (1)
	São Pedro (L)	Leptospirose	168	41,66 (70)	38,09 (64)	8,57 (6)
	Mustafa (M)	Leptospirose	359	58,21 (209)	56,82 (204)	02,39 (5)

Os resultados das análises sorológicas demonstram variação uma quantidade de animais positivos variável nos experimentos (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição, de acordo com o experimento, das amostras positivas na pesquisas de anticorpos para BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., pela técnica de soroneutralização, em fêmeas da raça nelore criadas em regime extensivo.

	Títulos	Experimento2 (%)	Experimento3 (%)	Experimento4 (%)
BoHV-1	Negativos	31,57 (12/38)	5,26 (4/76)	50,87 (29/57)
	8 a 64	47,36 (18/38)	73,68 (56/76)	42,10 (24/57)
	≥ 128	21,05 (8/38)	21,05 (16/76)	7,10 (4/57)
	Positivos	68,42 (26/38)	94,73 (72/76)	49,12 (28/57)
BVDV	Negativos	31,57 (12/38)	23,68 (18/76)	50,90 (28/55)
	16 a 64	47,36 (18/38)	63,15 (48/76)	40,00 (22/55)
	≥ 128	21,05 (8/38)	13,15 (10/76)	9,09 (5/55)
	Positivos	68,42 (26/38)	76,31 (58/76)	49,09 (27/55)
<i>Leptospira</i> spp.	Negativos	35,89 (14/39)	19,48 (15/77)	12,28 (7/57)
	≤:200	28,20 (11/39)	33,76(26/77)	28,07 (16/57)
	≥200	35,89 (14/39)	46,75 (36/77)	59,64 (34/57)
	Positivos	64,10 (25/39)	80,51 (62/77)	87,71 (50/57)

Foi observado efeito de tratamento nas taxas de prenhez ($P < 0,05$) aos 30 e 120 dias pós IATF e na taxa de perda gestacional ($P < 0,05$; Tabela 6) no experimento 2. Entretanto no experimento 3, a taxa de prenhez aos 30 e 120 dias pós IATF não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,10$), sendo observado apenas o efeito de tratamento na taxa de perda de gestação ($P < 0,05$; Tabela6).

Tabela 6. Taxas de prenhez e perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF, segundo os tratamentos (Vacina: animais vacinados; Controle: animais controle; US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; Perda: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30º e 120º dia) e de acordo com os experimentos (Exp2 e Exp3):

	Tratamento	US1%(30d)	US2%(120d)	Perda(%)
Experimento 2	Vacina	54,01 ^a (546/935)	52,71 ^a (532/935)	3,02 ^a (14/546)
	Controle	49,36 ^b (548/1015)	47,05 ^b (523/1015)	8,53 ^b (25/548)
Experimento 3	Vacina	45,88 (599/1292)	45,14 (579/1292)	1,47 ^c (20/599)
	Controle	46,09 (726/1501)	44,56 (692/1501)	5,53 ^d (34/726)

Exp.2: **D-11**= 1º dose da vacina; **D0**= IATF; **D30**= 2º dose da vacina; 1ºDG 30 dias; **D120**= 2º DG 120 dias. Em fazendas que não realizavam qualquer vacina reprodutiva.

Exp.3: **D-11**= 1º dose da vacina; **D0**= IATF; **D30**= 2º dose da vacina; 1ºDG 30 dias; **D120**= 2º DG 120 dias. Em fazendas que realizavam vacinação para Leptospirose.

Exp.2 - ^{a, b} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente, $P < 0,05$; Exp.3 - ^{c, d} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente; $P < 0,05$.

Não houve diferença ($P > 0,10$) de ECC entre os tratamentos (Experimento 2: Grupo Vacinado D-11; 3,16; $\pm 0,09$ e Grupo Controle; 3,17; $\pm 0,09$ / Experimento 3: Grupo Vacinado D-11; 3,25; $\pm 0,13$ e Grupo Controle; 3,23; $\pm 0,13$).

No experimento 2 a categoria de vacas influenciou ($P < 0,05$), na taxa de prenhez aos 120 dias pós IATF e na perda de gestação. Já no experimento 3 não houve efeito de categoria tanto nas taxas de prenhez aos 30 e 120 dias pós IATF quanto na perda de gestação.

Nos dois experimento (2 e 3) foi detectada interação ($P < 0,05$) entre tratamento e categoria na taxa de perda gestacional (Tabela 7).

Tabela 7. Taxas de perda de gestação de acordo com a categoria e tratamentos:

	Ordem	Tratamentos	Nº	Perda(%)
Experimento 2	Primíparas	Vacina	159	3,52 ^a (1/78)
		Controle	148	13,55 ^b (7/62)
	Multíparas	Vacina	776	2,51 ^a (13/468)
		Controle	867	3,52 ^a (18/486)
Experimento 3	Primíparas	Vacina	180	0,32 ^c (1/69)
		Controle	181	6,93 ^d (6/68)
	Multíparas	Vacina	1112	3,37 ^c (19/529)
		Controle	1320	3,55 ^c (28/658)

Exp.2: ^{a, b} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente; P<0,05.

Exp.3: ^{c, d} Letras diferentes na mesma coluna tenderam a diferir estatisticamente; P<0,05.

3.3. Experimento 4

No experimento 4, houve efeito do momento de aplicação da vacina (P<0,01) nas taxas de prenhez aos 30 e 120 dias pós IATF, porém, não foi detectado efeito (P>0,10) na perda de gestação (Tabela 8). Não houve diferença (P>0,10) de ECC entre os tratamentos (Grupo Pré-vacinado: 3,09; ±0.16 / Grupo Vacinado D-11: 3,18; ±0.19).

Tabela 8. Taxas de prenhez e perda de gestação de vacas Nelore submetidas à IATF, segundo os tratamentos (Vacina: animais vacinados; Controle: animais controle; US1: índices de animais, prenhez aos 30 dias após IATF; US2: índices de animais, prenhez aos 120 dias após IATF; Perda: índice de vacas que não mantiveram gestação entre 30º e 120º dia):

	Tratamento	US1%(30d)	US2%(120d)	Perda(%)
Experimento 4	Pré-Vacina	55,35 ^a (129/232)	54,40 ^a (127/232)	1,64 (2/129)
	Vacina D-11	41,00 ^b (61/135)	39,70 ^b (58/135)	4,63 (3/61)

D-41= 1º dose, pré-vacinação; **D-11**: 2º dose, pré-vacinação/ 1º dose do controle (Vacina D-11); **D0**= IATF; **D30**= 2º dose do controle; 1ºDG 30 dias; **D120**= 2ºDG 120 dias. Em fazenda que realizava vacinação para Leptospirose.

^{a, b} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente; P<0,05.

4. DISCUSSÃO

Foi realizado uma sequência de experimentos para determinar a taxas de prenhez, incidência de perda de gestação em fêmeas Nelore e o efeito da vacinação, nas taxas de prenhez e perda de gestação junto ao protocolo de IATF.

Foi observado no experimento 1 (EXP1: levantamento de dados) que as perdas gestacionais ocorrem com frequência em vacas de corte, encontrou-se nas vinte fazendas taxa de 4,4% (176/4037) de vacas que não mantiveram a gestação entre 30 e 120 dias pós IATF. Este resultado está de acordo com dados encontrados na literatura que relatam perdas gestacionais $\leq 15,0\%$ [18,28–32]. Entretanto outros pesquisadores descreveram resultados mais expressivos do que os encontrados neste experimento, o que pode relacionar-se às diferentes metodologias experimentais e categorias de fêmeas envolvidas (nulíparas/primíparas/múltiparas), e ao sistema de produção aos quais os animais eram submetidos (corte/leite) [19,33–35]. Sendo detectados, variação de resultados na taxa de prenhez e efeito ($P < 0,05$) de fazenda na perda de gestação (Tabela 1). Diversos são os fatores que podem influenciar o desempenho reprodutivo de fazendas de cria como ECC [36], Dia pós-parto [37], manejo [38], tipo e qualidade do sêmen [39], inseminador [40], doenças da reprodução [41] entre diversos outros fatores [41,42]. No levantamento realizado para determinar a incidência de perdas de gestação, verificou-se que fazendas que utilizavam algum tipo de vacinação contra doenças da reprodução apresentaram menor perda de gestação (Tabela 2). Esses resultados associados aos dados de literatura sugerem interferência de doenças infecciosas na manutenção da gestação de vacas de corte [43–45].

No experimento 2 (EXP2: vacinação D-11) em que animais foram ou não vacinados no início do protocolo de IATF e depois no primeiro DG (D30), observou-se aumento da prenhez e diminuição da perda de gestação (Tabela 6). Estes dados sugerem que doenças da reprodução podem diminuir o desempenho reprodutivo e que vacinação associada ao protocolo de IATF pode melhorar estes resultados. O incremento na taxa de prenhez está de acordo com os resultados obtidos pelo estudo de Ferreira *et al.*, [46] no qual os animais vacinados no início do protocolo de IATF e no momento do primeiro DG apresentaram maior prenhez aos 30 dias [(53,8% (71/132) vs 42,7% (58/136)] e aos 60 dias (51,5% (68/132) vs 41,2% (68/132)]. Contudo não foi observado efeito de vacinação na taxa de perdas de gestação [G. vacinado – 4,2% (3/42); G. controle - 3,5% (2/42)] por Ferreira *et al.*, (2011), resultado divergente aos encontrados no presente experimento (Tabela 6). Uma possível explicação para esta diferença de resultado, pode ser devido o momento em que foi

realizada a segunda avaliação gestacional naquele estudo (30 dias após a 1ª avaliação), tempo não suficiente para determinar perdas que ainda iriam ocorrer, pois dependendo do agente infeccioso, a morte do feto ocorre dez a vinte sete dias após a infecção, com expulsão do feto cinquenta dias depois [47,48]. Neste caso, um intervalo maior entre as duas avaliações gestacionais, como realizado no presente experimento (90 dias) mostra-se mais adequado ao evitar subestimar as possíveis perdas gestacionais. A partir desses resultados, sugere-se que agentes infecciosos além de relacionados à manutenção da gestação entre 30 e 120 dias, é provável que gerem efeitos negativos, antes da primeira avaliação gestacional (US1). Esta suposição é reforçada por autores que atribuem às doenças da reprodução, falhas nos processos de ovulação, fertilização e perdas embrionárias precoces [9,10,49]. Entretanto, o presente experimento não permite afirmar e determinar quais agentes ou em qual processo e momento, ocorrem as falhas do estabelecimento ou manutenção da gestação, pois tais processos antecedem a primeira avaliação gestacional.

No experimento 3 (EXP3: vacinação D-11 / Fazendas com vacinação semestral para Leptospirose não foi detectado diferenças nas taxas de prenhez ($P > 0,10$) entre os tratamentos (Tabela 6). A vacinação para Leptospirose, usada no programa sanitário empregado às fazendas deste experimento, parece ter sido determinante, em proporcionar melhor status imunológico contra ação de *Leptospira* spp., reduzindo os efeitos negativos deste agente infeccioso, não sendo possível, observar efeito entre os tratamentos nas taxas de prenhez. O resultado sorológico (Tabela 5) e estudos que sugerem falhas reprodutivas, pela imunossupressão ou interferência direta de *Leptospira* spp. [49] contribuem com esta suposição. Esses dados, associados às informações sorológicas (Tabela 5) e efeito de tratamento nas taxas de prenhez (Tabela 6) do experimento 2 (EXP2: vacinação D-11), onde a vacinação para Leptospirose, não era usada no programa sanitário empregado às fazendas, nos permite, sugerir maior interferência da *Leptospira* spp., nos processos do estabelecimento e manutenção da gestação (antes dos 30 dias) de fêmeas bovinas.

Contudo, houve diferença (EXP2 e EXP3, $P < 0,05$) entre tratamentos nas taxas de perda de gestação em ambos experimentos (Tabela 6). A alta soroprevalência para os patógenos, BoHV-1 [EXP2: BVDV- 68,42% (26/38) e BVDV - 68,42% (26/38); EXP3: 94,73% (72/76)] e BVDV [76,31% (58/78)] que associado as amostras com títulos $\geq 1:128$ tanto para BoHV-1 [EXP2: 21,05% (8/38) e EXP3: 21,05% (16/76)] quanto BVDV [EXP2: 21,05% (8/38) e EXP3: 13,15% (10/76)] sugerem presença de infecção ativa aos dois patogenos [4,50,51]. Sendo possível sugerir interferência

desses agentes infecciosos (BoHV-1 e BVDV) na manutenção de gestação (30 a 120 dias).

A taxa de perda de gestação foi influenciada pela categoria animal, nos EXP2 e EXP3. Os resultados indicaram que vacas primíparas apresentaram maior perda comparada às vacas múltiparas sendo encontrada interação entre categoria e tratamentos (Tabela 7). Esses resultados sugerem que vacas primíparas são mais suscetíveis a agentes infecciosos e que a vacinação reduziu a perda da prenhez nesta categoria, porém não observou-se o mesmo em vacas múltiparas. Os estudos epidemiológicos das doenças infecciosas (IBR/BVD/Leptospirose) atribuem maior soropositividade em animais mais velhos, por terem ao longo da vida maiores oportunidades de exposição a agentes infecciosos, e assim, induzirem a formação de anticorpos neutralizantes (soroconversão), tornando-se desta forma, naturalmente protegidos [52–54]. Tal constatação explica os resultados encontrados nos EXP2 e EXP3, nos quais a vacinação não reduziu a perda gestacional em vacas múltiparas (Tabela 7). Dados encontrados no EXP1, também sugerem que a perda de gestação está relacionada às categorias das vacas (Tabela 3). Entretanto esta constatação se atribui apenas a vacas submetidas à criação extensiva (corte), pois, em estudo realizado por nosso grupo de pesquisa, vacas de leite, submetidas a estratégias de vacinação contra doenças da reprodução, não foi observado, diferença entre categoria e interação entre tratamento (vacinação) e ordem de lactações na perda de gestação, sendo constatado também que, não houve diferença na soroprevalência em relação à ordem de lactações. Provavelmente esses resultados em gado de leite podem estar relacionados a diferenças nos sistemas de produção, onde, em gado de leite é intensivo (confinado) e em gado de corte extensivo (a pasto).

A vacina utilizada neste experimento era composta por agentes de: BoHV-1, vivos, quimicamente alteradas – termossensíveis (TS); BVDV, inativado de amostras citopáticas e não citopáticas, e *Leptospira spp.*, culturas inativadas dos cinco sorovares, com adjuvante de hidróxido de alumínio. Conforme os EXP2 e EXP3, esta vacina interfere positivamente nos índices reprodutivos, todavia ao traçar-se o perfil de cada composto em relação à resposta observa-se que: o BoHV-1 TS, tem aumento dos títulos de anticorpos aos 14 dias após a primeira dose da vacinação [55], podendo promover proteção já no segundo dia (40-96h) após a aplicação [56] e os títulos permanecem de moderados a altos por 180 dias; o BVDV (inativa), tem aumento dos títulos de anticorpos apenas 14 dias após a segunda aplicação da vacina [55], e os títulos permanecem por 180 dias de moderados a altos [57,58]; e a *Leptospira spp.*

(cinco sorovares inativados), possui início rápido de respostas, em geral, todos respondem até 14 dias após a vacinação (sorovar *hardjo* e *wolffi* em reação cruzada, apresentam anticorpos ao terceiro dia após a primeira vacinação), observa-se títulos de anticorpos (SAM) por até 150 dias (mediante a revacinação com intervalo de 28 dias) [59]. Desta forma, o momento da vacinação, empregado no EXP2 e EXP3, não foi o mais adequado, mesmo sendo efetivo em ambos experimentos. Porém considerando que o níveis máximos de anticorpos neutralizantes para cada agente, seriam atingidos dias após a IA, deve-se promover a vacinação previamente ao protocolo de sincronização da ovulação.

Os resultados do experimento 4 (EXP4: momento de vacinação diferentes) mostram que as primíparas ao receber a vacinação previamente ao protocolo de sincronização da ovulação (Grupo pré-vacinado), apresentaram maior taxa de prenhez que as primíparas submetidas ao esquema de vacinação usado nos EXP2 e EXP3 (Grupo vacinado D0). Entretanto não houve diferença na perda gestacional entre os tratamentos. Esses resultados reforçam os encontrados nos experimentos anteriores (Tabela 8). As diferenças encontradas entre os tratamentos pode ser consequência do melhor status imunológico dos animais do Grupo pré vacinado, que receberam as duas doses da vacina antes da IA, proporcionando maiores títulos de anticorpos neutralizantes antes mesmo da IA [55,57,59]. Principalmente para o BVDV que parece ter sido o principal responsável pelo aumento das taxas de prenhez, dos animais pré-vacinados do presente experimento, tendo em vista que esta fazenda assim como as fazendas do experimento 3, já utilizavam no programa sanitário a vacinação semestral para Leptospirose. Além disso, o momento da soroconversão parece ser importante para o BVDV, pois foram observadas diferentes taxas de prenhez em vacas que soroconverteram antes (78,6%), durante (44,4%) e após (22,2%) a IA [60]. É importante ressaltar que foram usadas no EXP4 apenas vacas paridas jovens (primíparas), descritas por MAINAR-JAIME *et al.*, [52] como a categoria de fêmeas mais suscetíveis às falhas reprodutivas por agentes infecciosos, assim como já observados no EXP2 e EXP3. Além disso este grupo apresentou em análise sorológica baixa soroprevalência para os dois patógenos avaliados (BoHV-1 e BVDV) (Tabela 5), que associado as amostras com títulos $\geq 1:128$ tanto para BoHV-1 [7,10% (4/57)] quanto BVDV [09,09% (5/55)] sugerem, a presença de infecção ativa aos dois patógenos [4,51], que caracterizam o alto desafio aos animais deste experimento, a vacinação mostra-se eficiente em reduzir perdas reprodutivas neste estudo.

Em resumo, os perfis sorológicos, revelaram altas taxas de animais infectados pelo BoHV-1, BVDV e *Leptospiras* spp., isso significa que esses patógenos, exerceram influência negativa na eficiência reprodutiva dos grupos não vacinados (Grupos controle dos respectivos EXP2, EXP3 e EXP4), pois de acordo com Grooms *et al.*, [49], a variação de prenhez e perda gestacional esta relacionada com a presença de agentes infecciosos como IBR, BVDV e Leptospirose, ficando evidente que a utilização de vacina possa ter protegido contra a ação desses agentes, resultando em maior taxa de prenhez e menor perda de gestação. Vale citar que no grupo de animais vacinados também ocorreram perdas gestacionais, isso pode ter ocorrido devido a efetividade em induzir proteção fetal ser variável entre as amostras que compõem a vacina comercial utilizada, sendo observado efetividade de 74 a 100% com vacinas inativadas contra o BVDV [12,61,62] de 84 a 90% com vacinas quimicamente alteradas contra o BoHV-1 [63] e de 100% contra Leptospirose [64], além de diversos outros fatores que podem resultar na interrupção da gestação [18] não avaliados e discutidos por este estudo.

5. CONCLUSÕES

- As taxas de prenhez e as perdas gestacionais são variáveis entre as fazendas.
- A vacinação (Cattle Master[®]4 + L5 - Pfizer Animal Health, Lincoln, USA) aumentou a taxa de prenhez em vacas de corte
- Vacas primíparas, tiveram maior perda de gestação em relação a vacas multíparas.
- A vacinação com a vacina Cattle Master[®]4 + L5 (Pfizer Animal Health, Lincoln, USA) reduziu a perda de gestação em vacas primíparas, porém não interferiu na perda gestacional de vacas multíparas.
- O momento da vacinação (30 dias antes inicio protocolo de IATF) aumentou a taxa de prenhez.
- O momento da vacinação não interferiu nas taxas de perda de gestação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

[1] Oliveira RL, Barbosa MAAF, Ladeira MM, Silva MMP, Ziviani AC, Bagaldo AR. [Nutrition and management of beef cattle during the growing period]. Rev. Bras. Saúde Prod. An., 2006; 7:57-86.

[2] ASBIA. [Statistical report of import, export and marketing of semen. Brazilian Association of artificial insemination in fixed time]. 2010. [cited 2011 Nov 15] Available from: <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2010.pdf>>

[3] Flores EF, Weiblen R, Vogel FSF, Roehe PM, Alfieri AA, Pituco EM. [Infection with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in Brazil, history, current situation and prospects]. Pesq. Vet. Bras. 2005; 25:125-34.

[4] Junqueira JRC, Freitas JC, Alfieri AF, Alfieri AA. [Reproductive performance evaluation of a beef cattle herd naturally infected with the BoHV-1, BVDV and Leptospira hardjo]. Semina: Ciências Agrárias 2006; 27:471-80.

[5] Takiuchi E, Alfieri AF, Alfieri AA. [Herpesvírus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico]. Semina. Ciências Agrárias, 2001 Londrina, 22:203-9.

- [6] Khodakaram-Tafi A, Ikede BO. A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada, from 1990 to 2001. *Can Vet J* 2005; 46:635-7.
- [7] McEwan B, Carman S. Animal health laboratory reports--cattle. Bovine abortion update, 1998-2004. *Can. Vet. J.* 2005; 46.
- [8] Grooms DL. [Programs to control infectious diseases and improve reproductive performance]. X Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos [CD-ROM]; 2010a.
- [9] Kelling CL. Viral Diseases of the Fetus. *Virology, Nebraska Center for Virology Papers. Virology papers* 2007; 399-408.
- [10] Miller JM, Van Der Maaten MJ. Experimentally induced infectious bovine rhinotracheitis virus infection during early pregnancy: Effect on the bovine corpus luteum and conceptus. *Am. J. Vet. Res.*, 1986; 47:223- 8.
- [11] Grooms DL. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin Food Anim* 2004; 20:5–19.
- [12] Grooms DL, Bolin SR, Coe PH, Borges RJ, Coutu CE. Fetal protection against continual exposure to bovine viral diarrhea virus following administration of a vaccine containing an inactivated bovine viral diarrhea virus fraction to cattle. *Am J Vet Res* 2007; 68:1417-22.
- [13] Grooms DL. [Diagnosis and control of reproductive losses caused by *Leptospira* spp] XIV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos [CD-ROM]; 2010b.
- [14] Mineiro ALBB, Bezerra EEA, Vasconcellos AS, Costa FAL, Macedo NA. [Leptospiral infection in bovine and its association with reproductive failure and climatic conditions]; *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 2007; 59:1103-9.
- [15] Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *J. Anim. Reprod. Sci.*, 2000; 58:39–44.

- [16] Berg DK. Embryo loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy. *Theriogenology*, 2010; 73:250–60.
- [17] Geary TW. [Strategies to reduce embryonic loss] XII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, [CD-ROM]; 2008.
- [18] Sartori R. Fertilization and embryonic death in cattle. *Acta Sci. Vet.*, 2004; 32:35-50.
- [19] Vasconcelos JLM, Silcox RW, Lacerda JA, Pursley JR, Wiltbank MC. Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.* 1997; 56:140.
- [20] Pursley JR, Meez MO, Wiltbank M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PFG2 and GnRH. *Theriogenology* 1995; 44:915-23.
- [21] Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJ, Pursley JR, Wiltbank MC. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 1999; 52:1067–78.
- [22] Drunen SV; Littlel H. Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. *Vet. Mic.*, 2006; 113:275–82.
- [23] Lowman BG, Scott NA, Somerville SH. Condition scoring of cattle. *Edinburg: The west of Scotland College of Agriculture* 1976; 6:1-13.
- [24] Pilz D, Alfieri AF, Alfieri AA. [Comparison of different protocols for the bovine viral diarrhoea virus detection by RT-PCR in pools of whole blood and blood serum artificially contaminated]. *Semina. Ciências Agrárias*, 2005; 26:219-28.
- [25] OIE Terrestrial Manual. Bovine viral diarrhoea. Chapter 2.4.8, 2008a. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.08_BVD.pdf.

[26] OIE Terrestrial Manual. Leptospirosis. Chapter 2.1.9, 2008b. Available from:
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.09_LEPTO.pdf

[27] OIE Terrestrial Manual. Infectious bovine rhinotracheitis. Chapter 2.4.13., 2010.
Available from:
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standard/tahm/2.04.13_IBR_IPV.pdf

[28] Abbitt B, Ball L, Kitto GP, Sitzman CG, Wilgenburg B. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1978; 173:973-7.

[29] Barros BJP, Visintin JÁ. [Ultrasound control of pregnancies, embryonic and fetal mortality and sex of fetuses zebu cattle]. *Braz J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, 2001; 38:74-9.

[30] Forar AL, Gay, JM, Hancock DD. The frequency of endemic fetal loss indairy cattle: A review. *Theriogenology*, 1995; 43:989-1000.

[31] Forar AL, Gay JM, Hancock DD, Gay CC. Fetal loss frequency in ten Holstein dairy herds *Theriogenology*, 1996; 45:1505-13.

[32] Paisley LG, MDuane Mickelsen W, Frost OL. A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. *Theriogenology*, 1978; 9:481-91.

[33] Reis EL, Nasser LF, Nichi M, Baruselli PS. Embryonic mortality in recipients (*Bos indicus* x *Bos taurus*) superovulated with eCG. *Acta Scientiae Vet*, 2004; 32:198.

[34] Romano JE. [Early pregnancy diagnosis and embryo/fetus mortality in cattle]. Dissertation, doctor of philosophy. Dezember 2004.

[35] Santos JEP, Thatcher WW, Pool L, Overton MW. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of highproducing lactating Holstein dairy cows. *J. Anim Sci.*, 2001; 79:2881-94.

- [36] Wiltbank, J.N. Rowden WW, Ingalls JE, Geegoey KE, Koch RM. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. *J. Anim. Sci.*, 1962; 21:219-25
- [37] Gottschall CS, Marques PR, Canellas L, Almeida MR. [Aspects related to the synchronization of oestrus and ovulation in beef cattle]. *Hora Vet.*, 2008; 164:43-8.
- [38] Paranhos Da Costa M J R, Chiquitelli Neto M, Costa e Silva EC. [Contribuição Contribution of the studies of the behavior of cattle for the implementation of programs for meat quality] *Anais de Etologia*, 2002; 20: 71-89.
- [39] Seidel, JR, GE, Schenk JL, Herickhoff LA. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, 1999; 52:1407-20.
- [40] Russi LS, Costa e Silva EV, Zuccari CESN. [Relevance of human resources training in artificial insemination programs]. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, 2009; 33:20-5.
- [41] Vanroose G, De Kruif A, Van Soom A. [Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions]. *Anim. Reprod. Sci.*, 2000; 60:131-43.
- [42] Uwland J. Influence of technicians on conception rates in artificial insemination. *Theriogenology*, 1983; 20:693-7.
- [43] Jesus VLT. [Risk factors for infectious diseases]. *Rev. Bras. Reprod. Anim, Belo Horizonte*, 2001; 25:93-6.
- [44] Okano W, Bracarense APFRL, Reis ACF, Alfieri AA. [Histological findings in aborted and non-aborted cattle]. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2003; 55:223-5.
- [45] Takiuchi E, Médici KC, Alfieri AF, Alfieri AA. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by a semi nested-PCR in Brazilian cattle herds. *Res. Vet Sci*, 2005; 79:85-8.

- [46] Ferreira RM, Sivieri M, Borges DP, Antonio TS, Gonçalves RL, Baruselli OS. [Vaccination against IBR, BVD (Bioabortogen H®) and leptospirosis (Bioleptogen®) may increase the reproductive rates of beef cows]. *Hora Vet*, 2011; 184:19-22.
- [47] Roeder P, Jeffrey M, Cranwell MP. Pestivirus fetopathogenicity in cattle: changing sequella with fetal maturation. *Vet. Rec.*, 1986; 118:44-8.
- [48] Sprecher D, Baker J, Holland R., Yamini B. An outbreak of fetal and neonatal losses associated with the diagnosis of bovine viral diarrhea virus in a dairy herd. *Theriogenology*, 1991; 36:567–606.
- [49] Grooms DL, Brock KV, Pate JL, Day ML. Changes in ovarian follicles following acute infection with bovine viral diarrhea virus. *Theriogenology.*, 1998; 49:595–605.
- [50] Houe, H, Palfi V. Estimation of herd incidence of infection with bovine virus diarrhea virus (BVDV) in herds previously without animals persistently infected with BVDV. *Acta Vet. Scand.*, 1993; 34:133-7.
- [51] Fredriksen, B. Sandvik T, Loken T, Odegaard SA. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.*, 1999; 144:111-4.
- [52] Mainar-Jaime RC, Berzal-Herranz B, Arias P, Rojo-Vázquez FA. Epidemiological pattern and risk factors associated with BVDV infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Prev. Vet. Med.*, 2001; 52:63-73.
- [53] Kahrs RF. Infectious bovine rhinotracheitis a review and update. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1977; 171:1055-64.
- [54] Leite RC. [Control of bovine virus diarrhea (BVD) and infectious bovine rhinotracheitis (IBR)]. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 199; 23:531-5.

[55] Fulton RW, Confer AW, Burge LJ, Perino LJ, Offay JM, Payton ME, et al. Antibody responses by cattle after vaccination with commercial viral vaccines containing bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea virus, parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus immunogens and subsequent revaccination at day 140. *Vaccine* 1995; 13:725-33.

[56] Sutton ML. Rapid onset of immunity in cattle after intramuscular injection of a modified-live-virus IBR vaccine. *Vet. Medic.* 1980; 75:1447-56.

[57] LIMA, M. Vogel FSF, Flores EF, Weiblen R. [Vaccination-induced neutralizing antibodies against bovine viral diarrhoea virus (BVDV): comparison between an experimental modified-live vaccine and three commercial inactivated vaccines]. *Ciência Rural*, 2005; 35:230-4.

[58] Vogel FSF, Flores EF, Weiblen R, Mayers SV, Quadros VL, Oldonis I. [Magnitude duration and specificity of the serological response in cattle vaccinated against bovine viral diarrhoea virus (BVDV)]. *Ciência Rural*, 2002; 32:83-89.

[59] Arduino GGC, Cravo GG, Girio RJS, Magajevski FS, Pereira GT. [Agglutinating antibody titers induced by commercial vaccines against bovine leptospirosis]. *Pesq. Vet. Bras.*, 2009; 29:575-82.

[60] Virakul, P. Fahning M, Joo H, Zemjanis R. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. *Theriogenology*, 1988; 9:441.

[61] Rodning SP, Marley MS, Zhang Y, Eason AB, Nunley CL, Walz PH, et al. Comparison of three commercial vaccines for preventing persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology* 2010; 73:1154–63.

[62] Patel JR. Prevention of transplacental infection of bovine fetus by bovine viral diarrhoea virus through vaccination Brief Report. *Arch of Virology* 2002; 147:2453–63.

[63] Ficken MD, Ellsworth MA, Tucker CM, Cortese VS, Evaluation of the Efficacy of a Modified-Live Combination Vaccine against Abortion Caused by Virulent Bovine Herpesvirus Type 1 in a One-Year Duration-of-Immunity Study. *Vet. Therapeut*, 2006; 7:283-94.

[64] Barringer LS, [Spirovac™ provides comprehensive protection against leptospirosis caused by U.S. strains of serovar hardjo-bovis]. Pfizer Animal Health Technical Bulletin, 2003 [cited 2011 Nov, 15] Available from:
<http://www.spirovac.com/pahimages/spirovac/july_tech_bul_comp_protection.pdf>

CAPÍTULO 3

CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

No presente estudo, o desempenho reprodutivo foi variável entre as fazendas, demonstrando que as fazendas são diferentes e podem apresentar índices reprodutivos variáveis por uma série de fatores de maneira individual e particular para cada realidade.

Dados da literatura e desse experimento demonstram que o intervalo entre a segunda dose da vacina e inseminação são fundamentais para obter títulos significativos contra BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. e melhores taxas de prenhez aos 30 dias. Sendo observado que a vacinação aumentou a eficiência reprodutiva de vacas da raça Nelore submetidas à IATF, mesmo quando a aplicação foi realizada durante o protocolo de sincronização. Contudo quando a vacinação foi realizada antes do início de um protocolo de sincronização, foi proporcionado maior efetividade da vacina utilizada e conseqüentemente os índices reprodutivos foram melhores.

Dessa forma as implicações práticas desse estudo são:

- A utilização da vacina implica em melhores taxas de prenhez e menores perdas de gestação.
- O momento entre a segunda dose da vacina e IA é a um fator importante para melhorar as taxas de prenhez aos 30 dias.