

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

Estratégias de vacinação contra doenças da reprodução
nas taxas de prenhez de vacas em lactação

MARCOS HENRIQUE COLOMBO PEREIRA

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

Estratégias de vacinação contra doenças da reprodução
nas taxas de prenhez de vacas em lactação

MARCOS HENRIQUE COLOMBO PEREIRA

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)

P436e Pereira, Marcos Henrique Colombo, 1986-
Estratégias de vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhes de vacas em lactação/ Marcos Henrique Colombo Pereira. - Botucatu : [s.n.], 2012
iii, 51 f. : grafs. tabs.

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

Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos
Inclui bibliografia

1. Vacina. 2. Rinotraqueíte infecciosa bovina. 3. Diarreia viral bovina. 4. Leptospirose. 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 **ILDEMAR BRAYER PEREIRA** e **VERONICE COLOMBO PEREIRA**,
pelos exemplos de humildade, honestidade e perseverança, pelo amor incondicional e
por sempre me apoiarem na realização dos meus objetivos.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre comigo, me ajudando em todas as etapas de minha vida.

Aos meus pais por tudo o que fizeram por mim, pela dedicação, apoio e confiança.

A toda minha família.

Ao meu amigo e orientador Prof. Zequinha, pela amizade, conselhos, oportunidades, ensinamentos. Sempre sendo um grande exemplo tanto como pessoa e como professor. Muito obrigado, aprendi muito com você.

Aos amigos de Pós-Graduação Adnan, Augusto, Carlos, Fernanda, Fernando, Everton, Lucas e Thiago pelos ensinamentos, convívio e distrações proporcionados.

Às fazendas e produtores rurais que participaram dos experimentos.

Á Pioneiros pela ajuda no experimento, ensinamentos e convívio. Ao Flávio, Márcio, Denilson, Felipe, Edomar, Carlos, Júlio e principalmente ao Paulo que ajudou na realização de todos os experimentos.

Aos funcionários das Fazendas, que foram essenciais para realização desses experimentos.

Ao Professor Reinaldo Cooke pela ajuda nas análises estatísticas.

Á Pfizer Saúde Animal, em nome de Fernanda Hoe, Mauro Meneghetti e Ocilon Sa Filho, por terem auxiliado na execução dos experimentos, e confiança depositada.

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 de defesa de dissertação e pelas sugestões pertinentes ao trabalho.

A todos os meus amigos da Universidade de Passo Fundo pelos excelentes momentos vividos, principalmente ao Marcial, João Paulo, Diogo, Leonardo e Gabriel.

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!

“Impossível é apenas uma grande palavra usada por gente fraca que prefere viver no mundo como está em vez de usar o poder que tem para mudá-lo. Impossível não é um fato, é uma opinião. Impossível não é uma declaração, é um desafio. Impossível é hipotético. Impossível é temporário”.

Mohammed Ali

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE FIGURAS	iv
CAPÍTULO 1.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Taxas de Fertilização e Perdas de Gestação.....	3
2.2. Doenças da reprodução	6
2.2.1 Diarreia Viral Bovina.....	7
2.2.2 Rinotraqueíte Infecciosa Bovina.....	9
2.2.3 Leptospirose	11
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	13
CAPÍTULO 2.....	25
ABSTRACT	28
1. INTRODUÇÃO	30
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
2.1. Animais e modelo experimental	31
2.1.1. Experimento 01	31
2.1.2. Experimento 02	32
2.1.3. Experimento 03	33
2.1.4. Experimento 04	33
3. RESULTADOS	35
CAPÍTULO 3.....	50
CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES	50

LISTA DE ABREVIATURAS

- 1
- 2
- 3 BE – Benzoato de estradiol
- 4 BoHV-1 – Herpesvírus bovino tipo - 1
- 5 BVD - Diarreia viral bovina
- 6 BVDV – Vírus da diarreia viral bovina
- 7 CIDR – Dispositivo intravaginal de progesterona
- 8 CL – Corpo lúteo
- 9 ECC – Escore de condição corporal
- 10 ECP – Cipionato de estradiol
- 11 IA – Inseminação artificial
- 12 IATF – Inseminação artificial em tempo fixo
- 13 IBR – Rinotraqueíte infecciosa bovina
- 14 IEP – Intervalo entre partos
- 15 LH – Hormônio luteinizante
- 16 P4 – Progesterona
- 17 PI – Persistentemente infectados
- 18 SAM - Soroaglutinação Microscópica
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26
- 27
- 28
- 29
- 30
- 31
- 32
- 33
- 34
- 35

LISTA DE TABELAS

Página

CAPITULO 01

TABELA 1.....	4
---------------	---

Taxas de fertilização em estudos com vacas de leite em diferentes estações do ano

TABELA 2.....	5
---------------	---

Perdas de gestação em estudos com vacas de leite inseminadas pós detecção de cio (IA), inseminadas em tempo fixo (IATF), ou inovuladas (TE)

CAPITULO 02

TABELA 1.....	36
---------------	----

Valores descritivos (média dos quadrados mínimos) da taxa de prenhez de 3640 vacas inseminadas, recebendo a vacina (tratamento) ou não (controle) em fazendas que utilizavam ou não a vacina contra IBR, BVD e Leptospirose

TABELA 2.....	37
---------------	----

Valores descritivos (média dos quadrados mínimos) do escore de condição corporal na taxa de prenhez de 1963 vacas inseminadas em tempo fixo

TABELA 3.....	39
---------------	----

Valores descritivos (média dos quadrados mínimos) da ordem de partos na taxa de prenhez de 3631 vacas inseminadas

1	TABELA 4.....	40
2	Distribuição de acordo com o experimento dos resultados na	
3	pesquisas de anticorpos para BoHV-1, BVDV (técnica de	
4	soroneutralização) e <i>Leptospira</i> spp. (técnica de Soroaglutinação	
5	Microscópica) em vacas de leite em lactação	
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPITULO 2

FIGURA 1.....32

Diagrama esquemático do experimento 01, 02 e 04: **D-41 a -32:** primeira dose da vacina do experimento 02; **D-11:** US1- ultrassonografia; ECC- classificação do escore de condição corporal; aplicação de 2 mg de BE (benzoato de estradiol), inserção do CIDR; primeira dose da vacina do experimento 01, segunda dose da vacina do experimento 02; revacinação do experimento 04; **D-4:** aplicação de 12,5 mg de PGF2 α ; **D-2:** retirada do CIDR e aplicação de 1mg de CE; **D0:** inseminação artificial; **D30:** US2- primeiro diagnóstico de gestação por ultrassonografia; segunda dose da vacina do experimento 01; **D71:** US3- segundo diagnóstico de gestação por ultrassonografia

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui cerca de 180 milhões de cabeças bovinas e no ano de 2010 produziu cerca de 30,5 bilhões de litros de leite, sendo considerado o quinto maior produtor mundial (ANUALPEC, 2011). A produção média de leite por vaca é baixa (1297 litros/vaca/ano). O baixo potencial genético é um dos limitantes para aumentar a produção (ANUALPEC, 2011). Em 2010, apenas 10% das vacas leiteiras foram inseminadas (ASBIA, 2010).

A rentabilidade da atividade leiteira depende da produtividade dos animais e à medida que aumenta o intervalo entre partos (IEP) menor é a produtividade. Vacas em lactação têm apresentado menores taxas de concepção e maiores perdas de gestação (LUCY, 2001), sendo associadas a diversos fatores, como o aumento da produção de leite (BUTTLER & SMITH, 1989), nutrição (LUCY, 2001), estresse térmico (RENSIS & SCARAMUZZI, 2003), mastites (SANTOS et al., 2004b) e a doenças infecciosas (GROOMS & BOLIN, 2005).

O desempenho reprodutivo vai além de emprenhar a vaca, sendo mais importante que as gestações resultem em partos. Estudos demonstram que taxas de fertilização são relativamente altas, variando de 80 a 100% (CERRI et al., 2009; DISKIN & SCREENAN, 1980; WIEBOLD 1988; RYAN et al., 1993; SARTORI et al., 2002), porém aproximadamente aos 30 dias são observadas taxas de concepção em torno de 28 a 40% (BUTTLER, 1998; DRANSFIELD, 1998; CHEBEL, 2003) o que mostra que as perdas são altas nas fases iniciais de gestação (LUCY, 2001). São várias as possíveis causas para estas perdas de gestação, que tem grande impacto na atividade leiteira (DUNNE et al., 2000; BERG et al., 2010) e que podem ocorrer por erros de manejo ou por complexas doenças multifatoriais (GROOMS & BOLIN, 2005).

Protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) têm sido utilizados para sincronizar a ovulação, permitindo inseminar vacas independente da detecção de cio, consequentemente, aumentando as taxas de serviço (PURSLEY et al., 1995; VASCONCELOS et al., 1999). Além de auxiliar na obtenção de melhores índices reprodutivos, a técnica de IATF possibilita a realização de estudos onde o desempenho reprodutivo é avaliado em momentos específicos.

Estudos demonstram que cerca de 37 a 50% das perdas de gestação estão relacionadas às doenças infecciosas (JERRET et al., 1984; ANDERSON et al., 1990; KIRKBRIDE, 1992; JAMALUDDIN et al., 1996; KHODAJARAM-TAFI & IKEDE, 2005; MCEWAN & CARMAN, 2005), sendo o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e o

herpesvírus bovino tipo - 1 (BoHV-1) os agentes virais mais relacionados com perdas de gestação, e entre as bactérias a *Leptospira* spp. (BIUK-RUDAN et al., 1999; FAINE et al., 1999; GROOMS & BOLIN, 2005; JUNQUEIRA et al., 2006; MINEIRO et al., 2007; GROOMS, 2010). A vacinação é uma das melhores estratégias para o controle de doenças infecciosas (DRUNEN, 2006), entretanto poucos trabalhos demonstram a efetividade de vacinas em relação à eficiência reprodutiva.

A hipótese deste estudo é que a utilização de uma vacina comercial indicada como auxiliar na prevenção da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, da Diarreia Viral Bovina e da Leptospirose melhora a taxa de prenhez e diminui as perdas gestacionais em vacas de leite em lactação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Taxas de Fertilização e Perdas de Gestação

O lucro da atividade leiteira depende, principalmente, da produtividade dos animais do rebanho, sendo que à medida que se aumenta o IEP menor é a produtividade. O desempenho reprodutivo não depende só de tornar vacas gestantes, mas também das gestações resultarem em partos. Neste processo, fatores como fertilização, desenvolvimento do embrião e do feto estão envolvidos. Estudos demonstram que as taxas de fertilização são altas (DISKIN & SCREENAN, 1980; WIEBOLD, 1988; RYAN et al., 1993; SARTORI et al., 2002; CERRI et al., 2009), mas o mesmo não é observado nas taxas de concepção (LUCY, 2001), indicando que grande parte das falhas reprodutivas ocorre após a fertilização, sendo consideradas perdas gestacionais. As perdas gestacionais englobam perdas embrionárias (fertilização até 42 dias) e fetais (43 até 280 dias de gestação) (HUBBERT et al., 1972). Jee-in Lee & Kim (2007) observaram que vacas que abortaram entre 46 a 90 dias de gestação só ficaram gestantes novamente 69 dias após o aborto e a taxa de descarte média destas vacas foi de 46,4%. As perdas gestacionais são consideradas as maiores causas de perdas econômicas para produtores pecuários (DUNNE et al., 2000; BERG et al., 2010) e podem ocorrer por simples erros de manejo ou por complexas doenças multifatoriais (GROOMS & BOLIN, 2005).

Estudos têm demonstrado que taxas de fertilização são mais altas para novilhas de leite, de corte e vacas de corte não lactantes do que para vacas de leite não lactantes, em lactação e vacas de corte em lactação (SANTOS, 2004a). O maior

impacto é observado em vacas de alta produção sob estresse calórico (tabela 1), podendo estar relacionado com a capacidade de termorregulação de vacas em lactação, que têm maior aumento de temperatura corporal quando ocorre aumento da temperatura ambiente (SARTORI et al., 2002). Além de fatores individuais e ambientais, agentes infecciosos como o BVDV (KIRKLAND & MACKINTOSH, 2006) e o BoHV-1 (SMITH, 1993) são potenciais causas de menores taxas de fertilização. *Leptospiras* spp já foram isoladas de embriões (BIELANSKI & SURUJBALLI, 1996; GOES et al., 2010), mas não afetam a taxa de fertilização e de perda embrionária até o estágio de blastocisto (BIELANSKI & SURUJBALLI, 1996). O BVDV pode causar inflamação dos ovários (GROOMS et al., 1998), comprometimento da qualidade dos oócitos e diminuição da esteroidogênese gonadal (FRAY et al., 2000). O BoHV-1 pode causar inflamação nos ovários, necrose nos folículos e corpo lúteo (CL) (MILLER & MAATEN, 1986), o que pode levar a menores concentrações de progesterona (P4) (MILLER & MAATEN, 1985).

Tabela 01. Taxas de fertilização em estudos com vacas de leite em diferentes estações do ano

Estação do ano	Taxa de fertilização	Referência
.	100%	Wiebold (1988)
Verão	82%	Ryan et al. (1993)
Inverno	80%	Ryan et al. (1993)
Verão	55%	Sartori et al. (2002)
Inverno	88%	Sartori et al. (2002)
.	83,3 a 90,5%	Cerri et al. (2009)

Avaliando novilhas, Diskin & Screenan (1980) observaram que a taxa de fertilização foi de 90%, enquanto a taxa de manutenção de gestação até o dia 16 foi de 66% e no dia 42 foi de 58%, mostrando que as maiores perdas ocorrem durante a fase embrionária (42%), principalmente até o dia 16 (36%). O mesmo foi observado em outro estudo, realizado por Maurer & Chenault (1983) avaliando vacas de corte paridas e por Dunne et al., (2000) avaliando perdas embrionárias até o dia 14 em novilhas. A maior parte da mortalidade embrionária é representada pela precoce (até o dia 27), com relatos de taxas variando de 20 a 40% em bovinos de corte (Humbolt, 2001). Em vacas de leite, Ryan et al. (1993) observaram que a viabilidade embrionária 14 dias após a IA foi menor durante as estações quentes (27%) do ano quando comparado com as estações frias (60%). A maioria das perdas de gestação ocorre antes do

período de manutenção do corpo lúteo (CL), mas em vacas de alta produção, perdas substanciais continuam a ocorrer até 56 dias após IA (SANTOS et al., 2004a).

Warnick & Hansen (2010) avaliando vacas com baixa fertilidade (vacas que não ficaram gestantes em estação de monta anterior) observaram que estas apresentaram taxas de ovulação (86%) e de fertilização (76%) similares às vacas consideradas férteis, mas vacas de baixa fertilidade apresentaram menores taxas de embriões considerados normais (baseado pelo tamanho, peso e morfologia do embrião e membranas extra-embrionárias) recuperados aos 34 dias de gestação (39% vs. 90%) e menor taxa de embriões normais recuperados por vaca (22,9% vs 89%) em relação às vacas férteis. Os autores relacionaram esta baixa fertilidade a doenças infecciosas, visto que segundo Givens (2006) e BonDurant (2007) podem resultar em perdas de gestação.

Diferentes taxas de perda de gestação são observadas entre rebanhos leiteiros (tabela 02), mas poucos estudos relatam o status sanitário das fazendas, o que pode influenciar nas diferentes perdas gestacionais.

Tabela 02. Perdas de gestação em estudos com vacas de leite inseminadas pós detecção de cio (IA), inseminadas em tempo fixo (IATF), ou inovuladas (TE)

Dias para diagnóstico de gestação				
Técnica	Primeiro	Segundo	Perda %	Referência
IATF	28	42	11%	Vasconcelos et al. (1997)
IATF	28	56	14%	Fricke et al. (1998)
IA	28	84	7%	Silke et al. (2002)
IATF	28	42	18%	Chebel et al. (2003)
IA	28-34	42-48	13,2%	Chebel et al. (2004)
IATF	28-34	42-48	10,4%	Chebel et al. (2004)
IA	28	60	19%	Vassilev et al. (2005)
IATF	28	60	21%	Vassilev et al. (2005)
IATF	25-32	60-66	18,6%	Sartori et al. (2006)
TE	25-32	60-66	26,2%	Sartori et al. (2006)

As perdas gestacionais podem ocorrer por diversos motivos como: ovulação de folículos persistentes, pro-estro, embriões pouco desenvolvidos, ambiente uterino, componentes da dieta, estresse, status metabólico (SANTOS et al., 2004a), perda de condição corporal (SILKE et al., 2002) duração do desenvolvimento folicular (CERRI et al., 2009). Porém, grande parte das perdas gestacionais e falhas reprodutivas são relacionadas com doenças infecciosas (GROOMS & BOLIN, 2005). As mais comumente associadas são a IBR, BVD e Leptospirose (JERRETT, et al., 1984; BIUK-

RUDAN et al., 1999; FAINE et al., 1999; BOLIN & GROOMS, 2004; BONDURANT, 2007; MINEIRO et al., 2007).

2.2. Doenças da reprodução

Vírus e bactérias podem causar perdas de gestação, diretamente pela infecção do trato reprodutivo e concepto ou indiretamente através de septicemias, viremias e toxemias (VANROOSE et al., 2000; GROOMS & BOLIN, 2005).

As doenças infecciosas são frequentemente relatadas, por laboratórios de diagnóstico, como causas de infertilidade, mortes embrionárias precoces, abortos e defeitos congênitos (GROOMS, 2010). Infelizmente o diagnóstico de perdas de gestação pode ser frustrante, porque geralmente a vaca demora a expulsar o feto após a infecção e por causa disso, a chance do patógeno ser identificado é mais baixa (GROOMS & BOLIN, 2005). Além disso, a maior parte das perdas de gestação ocorre no período embrionário, que geralmente são detectadas pelo retorno ao cio ou pelo diagnóstico de gestação, por estes motivos dificilmente embriões são enviados para laboratórios de diagnóstico. Outro fator importante é que a IBR (NANDI et al., 2009) e a BVD (KIRKLAND & MACKINTOSH, 2006) podem causar imunossupressão, facilitando outras infecções sistêmicas ou uterinas que podem ocasionar perdas de gestação, dificultando a detecção da real causa da perda de gestação.

Mesmo apresentado dificuldades para realizar os diagnósticos de causas de aborto, diversos estudos demonstram que cerca de 37 a 50% das perdas de gestação estão relacionados a doenças infecciosas (JERRET et al., 1984; ANDERSON et al., 1990; KIRKBRIDE, 1992; JAMALUDDIN et al., 1996; KHODAJARAM-TAFI & IKEDE, 2005; MCEWAN & CARMAN, 2005). O BVDV e o BoHV-1 são os agentes virais mais relacionados com perdas de gestação, e entre as bactérias são as *Leptospira* spp. (BIUK-RUDAN et al., 1999; FAINE et al., 1999; GROOMS & BOLIN, 2005; JUNQUEIRA et al., 2006; MINEIRO et al., 2007).

Doenças que causam falhas reprodutivas são multifatoriais e complexas, o que dificulta o entendimento da patogenia e de métodos de controle e erradicação destas doenças.

2.2.1 Diarreia Viral Bovina

A Diarreia Viral Bovina (BVD) é uma doença multisistêmica, sendo reconhecida mundialmente como importante causa de perdas econômicas na produção de bovinos (GROOMS et al., 1998). O agente etiológico é o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) que possui dois genótipos, BVD tipo - 1 e BVD tipo - 2 e dois biótipos, o citopagênico e o não citopatogênico.

A infecção pelo BVDV está difundida no rebanho bovino brasileiro (BOTTON et al., 1998; CANAL et al., 1998; FLORES et al., 2000; SAMARA et al., 2004; FLORES et al., 2005;). Rodrigues et al. (2010) realizaram estudo para avaliar a soroprevalência da BVD região sul de Minas Gerais e verificaram que 54% dos animais avaliados eram soropositivos.

Quando a infecção pelo BVDV ocorre entre os dias 18 e 125 da gestação, pode ocorrer perda de gestação ou o conceito pode desenvolver imunotolerância ao vírus, se tornando um animal persistentemente infectado (PI) (GROOMS, 2004), que é a principal fonte de infecção. A inclusão de animais PI em grupo de bovinos suscetíveis é seguida de rápida transmissão viral. Arenhart et al. (2009) observaram soroconversão de todos os bezerros de um lote em menos de 30 dias quando um bezerro PI foi anexado ao grupo. Houe & Meyling (1991) avaliaram a soro prevalência de rebanhos com ou sem animais PI, que foi de 87% e 43%, respectivamente. Animais PI podem morrer de doenças das mucosas, mas podem sobreviver por anos no rebanho.

A consequência da infecção é dependente do momento em que ocorre, podendo causar infertilidade, repetições de cio, morte embrionária, aborto, mumificação, malformações, nascimento de bezerros PI (BROWNLIE, 1990; LARSSON et al., 1994; MOENNIG & LIESS, 1995; GROOMS et al., 1998; RADOSTITS et al., 2002; GROOMS, 2004; GROOMS et al., 2007). Perdas reprodutivas pelo BVDV podem apresentar diferentes cenários, variando de redução no desempenho reprodutivo até surtos de abortos que podem ocorrer em qualquer fase da gestação (GROOMS & BOLIN, 2005).

Para explicar os motivos pelos quais o BVDV pode diminuir as taxas de concepção ou acarretar infertilidade Virakul et al. (1988) avaliaram o momento em que vacas soronegativas soroconverteram para o BVDV. Vacas que soroconverteram antes da IA tiveram taxas de concepção de 78,6%, durante a IA de 44.4% e após a IA de 22,2%. McGowan et al. (1993) também avaliaram o momento em que ocorreu a

doença e observaram que novilhas que foram expostas a animais PI 4 dias após a IA apresentaram taxa de prenhez de 33%, quando o vírus foi inoculado 9 dias antes da IA a taxa de prenhez foi 39% e no grupo controle foi de 79%, sugerindo que o BVDV pode diminuir a fertilidade devido à mortalidade embrionária, falhas de ovulação ou fertilização. Para entender como a doença diminui a fertilidade quando ocorre antes da IA, Grooms (1998) coletou ovários de novilhas entre 04 e 60 dias após inoculação do vírus, detectando antígenos virais e inflamação dos ovários de 6 até 60 dias após infecção. Em outro estudo, McGowan et al., (2003) inoculou o vírus 09 dias antes da IA em novilhas submetidas a um protocolo de superovulação. No grupo dos animais infectados foi observado redução significativa de embriões coletados e ausência ou atraso do pico de hormônio luteinizante (LH) pré – ovulatório em 90% dos animais, enquanto no grupo controle isso só foi observado em 20% dos animais. O autor concluiu que a infecção pelo BVDV, durante o crescimento final de folículos pré-ovulatórios, influencia no momento e na magnitude do pico de LH pré ovulatório, o que pode estar relacionado com diminuição da secreção de estradiol 17β causada pela necrose das células da granulosa. Fray et al. (2000) observaram diminuição temporária (04 – 09 dias após o cio) da secreção de estradiol após infecção aguda, e que as células foliculares e oócitos são suscetíveis ao vírus em todos os estágios de desenvolvimento folicular, porém não houve diferença na secreção de P4, sugerindo que o BVDV pode diminuir a fertilidade através de efeito no desenvolvimento do oócito ou pelo comprometimento da esteroidogênese ovariana.

Para controle da BVD é necessário a prevenção da infecção fetal, que depende da remoção de animais PI e da vacinação (BROCK & CHASE, 2000; XUE et al., 2009). Considerando a alta prevalência da infecção pelo BVDV, e que pode causar grandes perdas econômicas, a vacinação é indicada, visto que muitas vacinas comerciais são seguras e eficazes (OIRSCHOT et al., 1999). Vacinas atenuadas induzem imunidade mais duradoura, mas podem causar efeitos adversos quando administrada em animais gestantes (OIRSCHOT et al., 1999; FREY et al., 2002). As vacinas inativadas são mais seguras, pois não tem risco de replicação viral. Em estudos utilizando vacinas inativadas, a eficiência variou entre 74 a 100% (PATEL et al., 2002; GROOMS et al., 2007; RODNING et al., 2010).

Fulton et al. (1995) avaliaram a resposta da vacina Cattle Master® 4 (Pfizer Saúde Animal), títulos de anticorpos foram detectados entre 28 até 140 dias pós vacinação, sendo que só foi detectada resposta significativa 14 dias após a revacinação. Segundo Ridpath (2005) títulos neutralizantes maiores que 16 e menores

que 256 são suficientes para prevenir a doença clínica, mas ainda ocorre viremia. A autora sugere que para proteção fetal não pode ocorrer a viremia. Porém, Rodning et al. (2010) observaram proteção fetal em animais vacinados mesmo após a viremia. O vírus foi isolado de novilhas não vacinadas (10/10); vacinadas com vacina atenuada modificada (1/20); e vacinadas com vacina inativada (10/20) expostas a animais PI entre 68 a 126 dias após IA. Todos os animais que tiveram viremia no grupo controle pariram animais PI (10) e apenas uma novilha do grupo vacinado com vacina inativada resultou em nascimento de animal PI, ou seja, a vacina protegeu a infecção fetal mesmo após viremia em 90% animais.

Patel et al. (2002) demonstraram que duas doses de uma vacina inativada para BVDV 187 dias antes da exposição a animais PI, preveniu a infecção fetal em novilhas gestantes. Grooms et al. (2007) avaliaram a eficácia de uma vacina inativada comercial em relação à proteção fetal em novilhas gestantes expostas continuamente a animais PI, os fetos foram coletados por cesariana para avaliar a presença do vírus. Nos animais vacinados o vírus foi isolado em 04 de 15 (26%); nos animais não vacinados ocorreu um aborto e o vírus foi isolado em 14 de 14 fetos (100%); o que foi observado é que a vacina induz proteção fetal, mas não tem 100% de eficiência.

Vogel et al. (2002) avaliaram resposta sorológica de três vacinas comerciais inativadas, 30 dias após a segunda vacinação 74,5% dos animais apresentavam anticorpos neutralizantes contra o BVDV-1 e 52,1% contra o BVDV-2, os títulos reduziram aos 180 dias, sendo que somente 68,1% dos animais apresentavam atividade neutralizante para o BVDV-1 e 36,2% para o BVDV-2, foi observado diferença na resposta de cada vacina utilizada. Devido a curta duração dos níveis de anticorpos induzidos por vacinas inativadas, revacinações são necessárias em intervalos inferiores há um ano (BOLIN, 1995).

2.2.2 Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

A Rinotraqueíte Infecciosa Bovina é causada pelo herpesvírus bovino - 1 (BoHV-1) (NANDI et al., 2009). Rodrigues et al. (2010) avaliaram a soroprevalência da IBR na região sul de Minas Gerais e verificaram que 84% dos animais avaliados eram soropositivos.

O vírus pode se propagar no trato respiratório causando Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), ou sistemicamente, podendo causar infertilidade e abortos em consequência da infecção fetal (ACKERMANN & ENGELS, 2006; NANDI et al., 2009).

A infertilidade pode estar associada à diminuição da viabilidade embrionária e por perdas embrionárias (MILLER & MAATEN, 1986; KELLING, 2007). Diversos estudos utilizando fertilização *in vitro* demonstram menores taxas de produção de embriões, quando oócitos foram expostos ao BoHV-1 (PIVKO et al., 2006; MAKAREVICH et al., 2007).

Em novilhas inoculadas com o BoHV-1 menores concentrações de progesterona foram observadas (MILLER & MATEEN, 1985) podendo estar relacionada com lesões nos folículos, corpo lúteo e ovários (MAATEN & MILLER, 1984). Além destes fatores, o BoHV-1 pode diminuir a fertilidade por causar morte embrionária (MILLER & MAATEN, 1986)

Alguns países da União Européia tiveram sucesso na erradicação do BoHV-1, mas atuaram descartando animais soropositivos (CASTRUCCI et al. 2002). Se a meta é a erradicação do BoHV-1, o descarte é o método de maior sucesso, entretanto esta estratégia só deve ser considerada se a soroprevalência é baixa (ACKERMANN & ENGELS, 2006). Em países com alta prevalência de animais soropositivos a maneira mais sensata de atingir esta meta é através da vacinação (CASTRUCCI et al., 2002).

Junqueira et al. (2006) avaliaram a taxa de animais soropositivos para o BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. em um rebanho bovino de corte criado extensivamente, sendo que 98% de animais foram soropositivos para o BVDV, 78,8% para *Leptospira* spp. e 68,3% para BoHV-1. As vacas tiveram maior percentual (80%) de soropositividade para BoHV-1 em relação às novilhas (36,7%). Neste estudo, novilhas apresentaram maiores taxas de perdas gestacionais (29,1% vs 14,2%). Os autores sugerem a provável participação do BoHV-1 no baixo desempenho reprodutivo, pois apresentavam maiores taxas de animais soronegativos.

A exposição ao BoHV-1 tanto natural quanto vacinal, com vacinas atenuadas, inativadas ou geneticamente modificadas, induzem resposta capaz de neutralizar o vírus (TURIN et al., 1999). A segurança é a maior preocupação no uso de vacinas atenuadas e a eficiência é a principal questão das vacinas inativadas (DRUNEN et al., 1993). Uma estratégia interessante seria utilizar vacina atenuada que não tem capacidade de replicação, sendo que as vacinas atenuadas termosensíveis têm esta característica. É relatado que vacinas atenuadas modificadas marcadas bem como vacinas convencionais são capazes de induzir proteção contra a doença clínica dois a três dias após a vacinação, embora anticorpos específicos contra o BoHV-1 não são detectados neste período (KAASHOEK & OIRSCHOT, 1996).

Castrucci et al. (2002) avaliaram a capacidade de proteção de vacinas atenuadas modificadas e inativadas. As vacinas atenuadas modificadas mostraram ser seguras e efetivas em prevenir a doença clínica seguida da exposição a animais infectados experimentalmente, enquanto as vacinas inativadas apesar de serem seguras, foram menos efetivas em prevenir manifestações clínicas. Fulton et al. (1995) avaliaram a resposta da vacina Cattle Master® 4, e observaram títulos significativos de anticorpos aos 14 dias após a primeira vacinação. Houve aumento da resposta após a revacinação, aos 140 dias títulos significativos de anticorpos ainda eram detectados.

A utilização da vacinação é eficiente em induzir proteção fetal contra o BoHV-1 (CRAVENS et al., 1996; FICKEN et al., 2006; ZIMMERMAN et al., 2007).

2.2.3 Leptospirose

A Leptospirose bovina é uma das principais enfermidades responsável pelo baixo desempenho reprodutivo de rebanhos infectados (FAINE et al., 1999). A doença é causada pela infecção de qualquer um dos 200 sorovares de *Leptospira* spp. (GROOMS & BOLIN, 2005). Nos bovinos o sorovar hardjo é o mais adaptado devido às condições dos sistemas de produção (MINEIRO et. al., 2007) e é o que está mais associado a falhas reprodutivas e abortos (ELLIS, 1994).

No Brasil a doença é endêmica em bovinos. Em estudos conduzidos em seis estados brasileiros (MG, RJ, SP, MS, PR e RS) 60,43% dos bovinos foram reagentes para pelo menos um dos 24 sorovares analisados. Os sorovares mais encontrados foram: hardjo 76,78%; wolffi 5,35%; pomona 3,57%; grippotyphosa 3,57% e australis 1,78% (VASCONCELLOS et al., 1997). Favero et al. (2001) realizaram pesquisa das variantes sorológicas de *Leptospira* spp. predominantes em 21 estados do Brasil. Verificaram que 84,1% dos rebanhos analisados possuíam pelo menos um animal positivo, variando de 74% a 100%. Castro et al. (2008) verificaram que a *Leptospira* spp. esta distribuída em todo estado de São Paulo, independente do tipo de exploração, manejo e práticas de reprodução adotadas nos rebanhos, sendo o sorovar hardjo o mais prevalente.

O principal impacto econômico esta relacionado com o comprometimento do desempenho reprodutivo dos rebanhos infectados (VASCONCELLOS, 1993) podendo causar aumento de serviços por concepção, aumento do intervalo entre partos, atraso para retorno ao cio, infertilidade, perdas embrionárias, abortos, natimortos e nascimento de bezerros fracos (FAINE et al., 1999; GROOMS & BOLIN, 2005). Surtos

de aborto geralmente ocorrem pela infecção pelos sorovares pomona ou grippotyphosa, abortos esporádicos geralmente são decorrentes da infecção do sorovar hardjo. Muitas infecções pela *Leptospira* spp. são subclínicas e abortos, geralmente, ocorrem sem sinais clínicos antecedentes e acontecem uma ou mais semanas (pomona, grippotyphosa) ou meses (hardjo) após a infecção (GROOMS & BOLIN, 2005).

A vacinação desempenha importante papel no controle da Leptospirose em rebanhos bovinos (GERRITSEN et al., 1994). Muitas vacinas comerciais estão disponíveis no mercado nacional compostas por cinco a dez sorovares, que atendem as soroprevalências da maioria das regiões do país (CASTRO et al., 2008).

Arduino et al. (2009) avaliaram cinco vacinas comerciais. As vacinas utilizadas constituíram-se de quatro bacterinas polivalentes e continham em sua composição os sorovares canicola, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae, pomona e wolffi, com exceção da vacina “D” que não continha a adição do sorovar Wolffi. Os animais receberam duas doses da vacina (0 e 28 dias). Foi observado que os sorovares hardjo e wolffi induziram títulos de anticorpos aglutinantes aos 03 dias pós vacinação que perdurou até o 150º, enquanto contra os demais sorovares a expressão de anticorpos aglutinantes detectáveis pela Soroaglutinação Microscópica (SAM) se deu por menor tempo. A aplicação de dose de reforço aumentou a expressão de títulos de anticorpos aglutinantes. Nardi Júnior et al. (2003) observaram reação cruzada entre os sorovares hardjo e wolffi quando trabalharam com uma vacina que não continha o sorovar wolffi em sua composição. Arduino et al. (2004) ao pesquisarem a indução de anticorpos contra *Leptospira* spp. observaram reação à SAM contra os contra os sorovares harjo, wolffi e pomona aos 15 dias pós vacinação.

Dhaliwal et al. (1996) avaliaram a utilização de uma vacina contra *Leptospira hardjo*, vacas que foram vacinadas tiveram taxas de concepção de 48,8% vs. 29,5%, concluindo que o uso da vacinação pode estar associado ao incremento na fertilidade. Podendo estar associada à proteção fetal induzida pela vacinação (BARRINGER, 2003).

No capítulo 02 é apresentado o trabalho: estratégias de vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez de vacas em lactação

Pretende – se publicar na revista Theriogenology.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ACKERMANN, M.; ENGELS, M. Pro and contra IBR-eradication. **Veterinary Microbiology**, v. 113, p. 293–302, 2006.

ANDERSON, M.L. et al. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v.2, p. 283-7, 1990.

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

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.

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.

ASBIA. 2010. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. 2010. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/download/mercado/relatorio2010.pdf>> Acesso em 12/10/2011.

BERRINGER, L.S. Spirovac™ provides comprehensive protection against leptospirosis caused by U.S. strains of serovar hardjo-bovis. **Pfizer Animal Health Technical Bulletin**, 2003.

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

BIELANSKI, A.; SURUJBALLI, O. Association of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo type hardjobovis with bovine ova and embryos produced by in vitro fertilization. **Theriogenology**, v. 46, p. 45-55, 1996.

BIUK-RUDAN, N. et al. Prevalence of antibodies to IBR and BVD viruses in dairy cows with reproductive disorders. **Theriogenology**, v. 51, p. 875-881, 1999.

BOLIN, S.R. Control of bovine viral diarrhea infection by use of vaccination. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 11, p. 615-625, 1995.

BOLIN, S.R.; GROOMS, D.L. Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 20, p. 51-68, 2004.

BONDURANT, R.H. Selected diseases and conditions associated with bovine conceptus loss in the first trimester. **Theriogenology**, v. 68, p. 461-473, 2007.

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

BROCK, K.V.; CHASE C.C.L. Development of a fetal challenge method for the evaluation of bovine viral diarrhea virus vaccines. **Veterinary Microbiology**, v. 77, p. 209-214, 2000.

BROWNLIE, J. The pathogenesis of bovine virus diarrhoea virus infections. **Revue Scientifique at Technology**, v. 9, p. 43-59, 1990.

BUTLER, W.R.; SMITH, R.D. Interrelationships Between Energy Balance and Postpartum Reproductive Function in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 767-783, 1989.

BUTLER, W. R. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2533-2539, 1998.

CANAL, C.W. et al. Detection of antibodies to bovine viral diarrhea (BVDV) and characterization of genome of BVDV from Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 63, p. 85-97, 1998.

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.

CASTRO, V. et al. Soroprevalência da Leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 75, p. 1-11, 2008.

CERRI, R.L.A. et al. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. **Society for Reproduction and Fertility**, v. 137, p. 813–823, 2009.

CHEBEL, R.C. et al. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy. **Theriogenology**, v. 60, p. 1389–1399, 2003.

CHEBEL, R.C. et al. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p. 239–255, 2004.

CRAVENS, R.L. et al. Efficacy of a temperature-sensitive modified-live bovine herpesvirus type-1 vaccine against abortion and stillbirth in pregnant heifers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 15, p. 2031-2034, 1996.

DHALIWAL, G.S. et al. Effect of vaccination against *Leptospira interrogans* serovar hardjo on milk production and fertility in dairy cattle. **The Veterinary Record**, v. 138, p. 334-335, 1996.

DISKIN M.G.; SCREENAN, J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. **Journal of Reproduction & Fertility**, v. 59, p. 463-468, 1980.

DRANSFIEL, M. B., R. L. et al. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1874–1882. 1998.

DRUNEN, S.V. et al. Bovine herpesvirus-1 vaccines. **Immunology and Cell Biology**, v. 71, p. 405-420, 1993.

DRUNEN, S.V.; LITTLE H. Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. **Veterinary Microbiology**, v. 113, p. 275–282 2006.

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.

ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 10, p. 463-78, 1994.

FAINE, S. et al. Leptospira and leptospirosis. **Melbourne: MedSci**, 2nd ed., 1999.

FAVERO, M. et al. Leptospirese bovina – variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 68, p. 29-35, 2001.

FICKEN, M.D. et al. 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. **Veterinary Therapeutics**, v. 7, p. 275-282, 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. et al. 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. Fetal loss frequency in ten Holstein dairy herds. **Theriogenology**, v. 45, p. 1505-1513, 1996.

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.

FREY, H.R. et al. Foetal Protection against Bovine Virus Diarrhoea Virus after Two-step Vaccination. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 49, p. 489–493, 2002.

FRICKE, P.M. et al. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy. **Theriogenology**, v. 50, p. 1275-1284, 1998.

FULTON, R.W. et al. Antibody responses by cattle after vaccination with commercial viral vaccines containing bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhea virus, parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus immunogens and subsequent revaccination at day 140. **Vaccine**, v. 13, p. 725-733, 1995.

GERRITSEN, M.J. et al. Effective treatment with dihydroestreptomycin of naturally infected cows shedding *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjobovis, **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, p. 339-343, 1994.

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

GROOMS, D.L. et al. Detection of bovine viral diarrhea virus in the ovaries of cattle acutely infected with bovine viral diarrhea virus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 10, p.125–129, 1998.

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

GROOMS, D.L.; BOLIN, C.A. Diagnosis of Fetal Loss Caused by Bovine Viral Diarrhea Virus and *Leptospira* spp. **Theriogenology**, v. 66, p. 624-628, 2005.

GROOMS, D.L. et al. 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. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 1417-22, 2007.

GROOMS, D.L. Programas para controle de doenças infecciosas e melhoria do desempenho preprodutivo. In **X Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos**, CD-ROOM, 2010.

GOES, A.C. et al. Detection of *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa in bovine oocytes after maturation period and subsequent treatment of health control established by the international embryos technology society (IETS). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, p.675-821, 2010.

HOUE, H.; MEYLING, A. Prevalence of bovine virus diarrhea (BVD) in 19 Danish dairy herds and estimation of incidence of infection in early pregnancy. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 11, p. 9-16, 1991.

HUBBERT, W.T. et al. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. **Cornel Veterinary Medicine**, v. 62, p. 216-237, 1972.

HUMBOLT, 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.

JAMALUDDIN, A.A. et al. Dairy cattle abortion in California: evaluation of diagnostic laboratory data. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, p. 210, 1996.

JE-IN LEE, KIM III-HWA. Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. **Journal of Veterinary Science**. v. 8, p. 283–288, 2007.

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

JUNQUEIRA, J.R.C. et al. Reproductive performance evaluation of a beef cattle herd naturally infected with the BoHV-1, BVDV and *Leptospira hardjo*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, p. 471-480, 2006.

KAASHOEK, M.J; OIRSCHOT, J.T. Early immunity induced by a live gE-negative bovine herpesvirus 1 marker vaccine. **Veterinary Microbiology**, v. 53, p.191- 197, 1996.

KELLING, C.L. Viral Diseases of the Fetus. Virology, Nebraska Center for Virology Papers. **Therapy in Large Animal Theriogenology**, v. 50, p. 399-408, 2007.

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. 635-7, 2005.

KIRKBRIDE, C.A. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, p.175-80,1992.

KIRKLAND, P.D.; MACKINTOSH, S.G. Ruminant pestivirus infections, part 1. Diagnostic Overview. **Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures**, v. 1, p. 1-30, 2006.

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**, v. 36, p. 37-48, 1994.

LUCY, M. C. Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? **Journal Dairy Science**, v. 84, p. 1277–1293, 2001.

MAKAREVICH, A.V. et al. Development and viability of bovine preimplantation embryos after the in vitro infection with bovine herpesvirus-1 (BHV-1): immunocytochemical and ultrastructural studies. **Zygote**, v. 15, p. 307–315, 2007.

MAATEN, M.J.; MILLER, J.M. Ovarian lesions in heifers exposed to infectious bovine rhinotracheitis virus by non-genital routes on the day after breeding. **Veterinary Microbiology**. v. 10, p. 155-163, 1984.

MAURER R. R.; CHENAULT J. R. Fertilization Failure and Embryonic Mortality in Parous and Nonparous Beef Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 56, p. 1186-1189, 1983.

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

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

MCGOWAN, M.R. et al. Studies of the pathogenesis of bovine pestivirus – induced ovarian disfunction in superovulated dairy cattle. **Theriogenology**, v. 59, p. 1051-1066, 2003.

MILLER, J.M.; MAATEN, M.J. Effect of primary and recurrent infectious bovine rhinotracheitis virus infection on the bovine ovary. **American Journal of Veterinary Research**. v. 46, p. 1434-1437, 1985.

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.

MOENNING, V.; LIESS, B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 11, p. 477-87, 1995.

NADIR J.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. **Reunião Anual do Instituto Biológico**, v. 16, p. 3-7, 2003.

NANDI, S. et al. Bovine herpes virus infections in cattle. **Research Reviews**, v. 10, p. 85–98, 2009.

OIRSCHOT, J.T. et al. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhea. **Veterinary Microbiology**. v. 64, p.169-183, 1999.

PATEL, J.R. Prevention of transplacental infection of bovine foetus by bovine viral diarrhoea virus through vaccination Brief Report. **Archives of Virology**, v. 147, p. 2453–2463, 2002.

PIVKO, J. et al. Ultrastructural alterations in some organelles of bovine embryos exposed to bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in vitro. **Slovak Journal Animal Science**, v. 39, p. 175 – 179, 2006.

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

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, p. 974-993, 2002.

RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R.J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. **Theriogenology**. v. 60, p. 1139–1151, 2003.

RIDPATH, J.F. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: Impact of biotype and genotype on U.S. control programs. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 72, p. 17–30, 2005.

RODRIGUES, L.C. et al. Dairy cattle reproductive viral diseases in the Southeastern region of Brazil. Abstracts 121, **8th International Ruminant Reproduction Symposium**, Anchorage, Alaska, 3-7 September, 2010.

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

RYAN, D.P. et al. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. **Theriogenology**, v. 39, p.719-737, 1993.

SAMARA, S. I. et al. Ocorrência da Diarreia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 396-403, 2004.

SANTOS, J.E.P. et al. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 513-535 2004a.

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, 2004b.

SARTORI R. et al. Fertilization and Early Embryonic Development in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. **Journal Dairy Science**. v. 85, p. 2803–2812, 2002.

SARTORI, R. et al. Comparison of artificial insemination versus embryo transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, p. 1311–1321, 2006.

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

SMITH, B. P. Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais. São Paulo: Manole LTDA, 1993.

SOREN, P. et al. Comparison of three commercial vaccines for preventing persistent infection with bovine viral diarrhea virus. **Theriogenology**. v. 73, p. 1154–1163, 2010.

TURIN, L. et al. BHV-1: New Molecular Approaches to Control a Common and Widespread Infection. **Molecular Medicine**, v. 5, p. 261-284, 1999.

VANROOSE, G. et al. Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 131–143, 2000.

VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose animal. In: **Encontro Nacional em Leptospirose**, v. 3, p. 62-66, 1993.

VASCONCELLOS, S.A. et al. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 64, p. 7-15, 1997.

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 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.

VASSILEV, N. et al. Incidence of early embryonic death in dairy cows. **Journal of Sciences**, v. 3, p. 62-64, 2005.

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. 29, p. 441-9, 1988.

VOGEL, F.S.F. et al. Magnitude, duração e especificidade da resposta sorológica em bovinos vacinados contra o vírus da Diarreia viral bovina. **Ciência Rural**, v. 32, p. 83-89, 2002.

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. 292–297, 2009.

WARNICK, A.C.; HANSEN P.J. Comparison of ovulation, fertilization and embryonic survival in low-fertility beef cows compared to fertile females. **Theriogenology**, v. 73, p. 1306–1310, 2010.

WIEBOLD, J.L. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. **Journal of Reproduction & Fertility**, v. 84, p. 393-399, 1988.

ZIMMERMAN, A.D. et al. Efficacy of bovine herpesvirus-1 inactivated vaccine against abortion and stillbirth in pregnant heifers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 231, p. 1386-1389, 2007.

CAPÍTULO 2

Estratégias de vacinação contra doenças da reprodução
nas taxas de prenhez de vacas em lactação

Estratégias de vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez de vacas em lactação

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar se vacinação contra doenças da reprodução melhora o desempenho reprodutivo de vacas de leite em lactação. Foram realizados quatro experimentos. O experimento 01 foi realizado em 38 fazendas que não utilizavam vacina contra Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD) e Leptospirose, foram utilizadas 853 vacas Girolando que foram vacinadas (grupo tratado) ou não (grupo controle) no dia -11 (início do protocolo de IATF). A segunda dose da vacina foi realizada no dia 30 (diagnóstico de gestação). A vacina que foi utilizada é composta de amostras atenuadas quimicamente alteradas do vírus da IBR associada a amostras citopáticas e não citopáticas do vírus da BVD e culturas inativadas contra cinco sorotipos da *Leptospira* spp (canicola, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae e pomona). O experimento 02 foi realizado em 28 fazendas que não utilizavam vacina contra IBR, BVD e Leptospirose, foram utilizadas 287 vacas Girolando que foram pré vacinadas (grupo tratado) ou não (grupo controle) entre os dias -41 a -32, e a segunda dose da vacina foi realizada no dia -11 (início do protocolo de IATF). O experimento 03 foi realizado em 17 fazendas que não utilizavam vacina contra IBR/BVDV e Leptospirose, foram utilizadas 1680 vacas holandesas, sendo que vacas com mais de 28 dias em lactação foram vacinadas (grupo tratado) ou não (grupo controle), e a segunda dose da vacina foi realizada 14 dias após a primeira dose. As inseminações foram realizadas entre 15 a 135 dias após a segunda dose da vacina e as perdas de gestação foram avaliadas até 60 dias após a última IA. O experimento 04 foi realizado em 15 fazendas que utilizavam vacina contra IBR, BVD e Leptospirose, foram utilizadas 820 vacas Girolando que foram re-vacinadas (grupo tratado) ou não (grupo controle) no dia -11 (início do protocolo de IATF). As taxas de prenhez e de perdas de gestação nos experimentos 01, 02 e 04 foram avaliadas com 30 e 71 dias após a IATF, no experimento 03 foi realizado aos 32 e 60 ± 4 dias. Variáveis contínuas foram avaliadas pelo PROC MIXED e binárias pelo PROC GLIMMIX do SAS. Considerou-se efeito significativo quando $P < 0,05$ e tendência quando $P < 0,1$. No experimento 01, tratamento não interferiu na taxa de prenhez aos

30 [40,89% (173/426) vs 38,62% (163/427)] e 71 dias de gestação [37,76% (159/426) vs 32,96% (137/427)], mas diminuiu a perda de gestação entre 30 e 71 dias [9,1% (13/173) vs 16,2% (25/163)]. No experimento 02 o tratamento aumentou a taxa de prenhez aos 30 [54,62%(81/153) vs 35,98%(47/134)] e 71 dias de gestação [48,91%(159/426) vs 32,49%(43/134)], porém não interferiu na perda de gestação entre 30 e 71 dias [9,6% (7/81) vs 8,2% (3/47)]. No experimento 03 houve tendência do tratamento aumentar a taxa de prenhez aos 32 $\pm$ 4 dias de gestação [35,56%(301/859) vs 31,26%(253/821)], aumentou aos 60 $\pm$ 4 dias de gestação [32,78%(273/859) vs 27,98% (221/821)], mas não interferiu na perda de gestação entre 32 e 60 dias [7,94% (27/301) vs 10,18% (31/253)]. No experimento 04 o tratamento não influenciou as taxas de prenhez aos 30 [38,17% (130/385) vs 40% (150/435)] e aos 71 dias de gestação [35,68% (118/385) vs 35,53% (130/435)], e na perda de gestação entre 30 e 71 dias [8% (11/130) vs 11,99% (19/150)]. O uso da vacina contra doenças da reprodução teve impacto positivo nas taxas de prenhez de vacas em lactação, sendo que melhores resultados foram obtidos quando a segunda dose da vacina foi realizada antes da inseminação artificial.

Palavras chave: vacina, Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, Diarreia Viral Bovina, Leptospirose.

Vaccination strategies against reproductive diseases on pregnancy rates in lactating dairy cows

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of vaccination against reproductive diseases on the reproductive performance of lactating dairy cows. The experiment 01 was performed in 38 farms that did not utilize vaccine against IBR/BVD and Leptospirosis, 853 Girolando cows were vaccinated (treated group) or not (control group) on day -11 (beginning of the TAI protocol). The second dose of vaccine was held on day 30 (pregnancy diagnosis). The vaccine that was used consists of chemically altered live samples of the IBR virus associated with samples of cytopathic and non cytopathic BVD virus and inactivated cultures against five serotypes of *Leptospira* spp. (canicola, grippityphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae e pomona). The experiment 02 was performed in 28 farms that did not utilize vaccine against IBR/BVD and Leptospirosis, 287 Girolando cows were pre - vaccinated (treated group) or not (control group), between the days -41 to – 31, the second dose of vaccine was held on day -11 (beginning of the TAI protocol). The experiment 03 was performed in 17 farms that did not utilize vaccine against IBR/BVD and Leptospirosis, 1680 Holstein cows were used in this study, cows with more than 28 days in milk were vaccinated (treated group) or not (control group), the second dose of vaccine was performed 14 days after de first dose. The AI were performed between 15 and 135 days after the second vaccine dose and the pregnancy loss at 60 days after the last AI. The experiment 04 was performed in 15 farms that utilize vaccine against IBR/BVD and Leptospirosis, 820 Girolando cows were vaccinated (treated group) or not (control group) on day -11 (beginning of the TAI protocol). The pregnancy rate was evaluated in the experiments 1, 2 and 4 at 30 and 71 days after TAI, in experiment 03 the pregnancy diagnosis was performed at 32 and 60 ± 4 days. Continuous variables were analyzed using PROC MIXED and binary variables using PROC GLIMMIX of SAS. Effect was considered significant when $P < 0.05$ and trends $P < 0.1$. In the experiment 01, the treatment had no effect on pregnancy rate at 30 [40.89%(173/426) vs 38.62%(163/427)] and 71 days of gestation [37.46%(159/426) vs 32.96%(137/427)], there was effect of the treatment on pregnancy loss between 30 and 71 days [9.1%(13/173) vs 16.2%(25/163)] compared with the control group. In the experiment 02, the treatment had effect on pregnancy rate at 30 [54.62%(81/153) vs 35.98%(47/134)] and 71 days of gestation

[48.91%(159/426) vs 32.49%(43/134)], but the treatment did not affect the pregnancy loss between 30 and 71 days [9.6% (7/81) vs 8.2%(3/47)] compared with the control group. In the experiment 03, there was a trend of the treatment on pregnancy rate at 32 ± 4 days of gestation [35.56%(301/859) vs 31.26%(253/821)] at 60 ± 4 days of gestation the treatment had effect [32.78%(273/859) vs 27.98% (221/821)], but the treatment did not affect the pregnancy loss between 32 and 60 days [7.94% (27/301) vs 10.18% (31/253)] compared with the control group. In the experiment 04, the treatment had no effect on pregnancy rate at 30 [38.17% (130/385) vs 40%(150/435)], and 71 days of gestation [35.68%(118/385) vs 35.53%(130/435)] and on the pregnancy loss between 30 and 71 days [8% (11/130) vs 11.99%(19/150)] compared with the control group. These use of vaccine against reproductive diseases had a positive impact on pregnancy rates in lactating cows, better pregnancy rate at 30 days are obtained when the second dose of vaccine is performed before insemination.

Key words: Vaccine, Infectious Bovine Rhinotracheitis, Bovine Viral Diarrhea, Leptospirosis.

1. INTRODUÇÃO

O desempenho reprodutivo vai além de emprenhar a vaca, sendo mais importante que as gestações resultem em partos. Estudos demonstram que as taxas de fertilização são relativamente altas, variando de 80 a 100% [1-3], porém aproximadamente aos 30 dias são observadas taxas de concepção em torno de 28 a 40% [4-6], o que mostra que as perdas são altas nas fases iniciais de gestação [7]. São várias as possíveis causas para estas perdas de gestação, que tem grande impacto na atividade leiteira [8,9] e que podem ocorrer por erros de manejo ou por complexas doenças multifatoriais [10].

Protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) têm sido utilizados para sincronizar a ovulação, permitindo inseminar vacas independente da detecção de cio, consequentemente, aumentando as taxas de serviço [11,12]. Além de auxiliar na obtenção de melhores índices reprodutivos, a técnica de IATF possibilita a realização de estudos onde o desempenho reprodutivo é avaliado em momentos específicos.

Estudos demonstram que cerca de 37 a 50% das perdas de gestação estão relacionadas às doenças infecciosas [13-18], sendo o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e o herpesvírus bovino tipo - 1 (BoHV-1) os agentes virais mais relacionados com perdas de gestação, e entre as bactérias a *Leptospira* spp. [10,19-22]. A vacinação é uma das melhores estratégias para o controle de doenças infecciosas [23], entretanto poucos trabalhos demonstram a efetividade de vacinas em relação à eficiência reprodutiva.

A hipótese deste estudo é que a utilização de uma vacina comercial indicada como auxiliar na prevenção da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, da Diarreia Viral Bovina e da Leptospirose melhora a taxa de prenhez e diminui as perdas gestacionais em vacas de leite em lactação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos 01, 02 e 04 foram realizados no estado de Minas Gerais no período de julho de 2008 a fevereiro de 2010. O experimento 03 foi realizado no estado do Paraná no período de janeiro de 2010 a março de 2011. As fêmeas dos diferentes rebanhos eram regularmente vacinadas entre 4 a 8 meses de idade para brucelose, animais que eram incorporados ao rebanho, só eram adquiridos se fossem

negativos para brucelose. Apenas no experimento 04 as animais eram vacinados anualmente para IBR e BVD, e a cada 4 meses pra Leptospirose.

2.1. Animais e modelo experimental

2.1.1. Experimento 01

Foi realizado em 38 fazendas que não utilizavam vacina contra IBR, BVD e Leptospirose. Foram utilizadas 853 vacas Girolando em lactação (242 primíparas e 611 multíparas) com $111,12 \pm 85,7$ dias em lactação (DEL), produzindo $21,34 \pm 7,55$ Kg/leite dia, com escore de condição corporal (ECC) de $2,89 \pm 0,44$. Todas as vacas foram sincronizadas com o mesmo protocolo de IATF (Figura 1): Dia -11: inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR® 1,9mg - Pfizer Saúde Animal, Brasil), administração de 2mg de benzoato de estradiol IM (2ml de Estrogin® - Farmavet, Brasil); Dia -4: 12,5mg de dinoprost IM (2,5ml Lutalyse® - Pfizer Saúde Animal, Brasil); Dia -2: retirada do CIDR®, administração de 1mg de cipionato de estradiol IM (0,5ml ECP®); Dia 0: Inseminação Artificial em tempo fixo; Dia 30: Diagnóstico de gestação; Dia 71: segundo diagnóstico de gestação. Os animais foram vacinados (grupo tratado) ou não (grupo controle) no dia -11. A segunda dose foi realizada no dia 30 (diagnóstico de gestação). A vacina que foi utilizada (5,0 mL, i.m., CattleMaster® 4+L5, Pfizer Animal Health, Lincoln, USA) é composta pelo BoHV-1 atenuado termosenssível, associado ao BVDV inativado e culturas inativadas de cinco sorotipos da *Leptospira* spp. (canicola, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae e pomona).

Todas as administrações de medicamentos e a inseminação artificial (IA) foram realizadas no mesmo horário dos diferentes dias. A avaliação do ECC foi realizada no dia -11, classificando de 1 a 5 em escalas de 0,25, sendo que 1 é muito magra e 5 muito gorda [24]. O CIDR® foi utilizado por até três vezes.

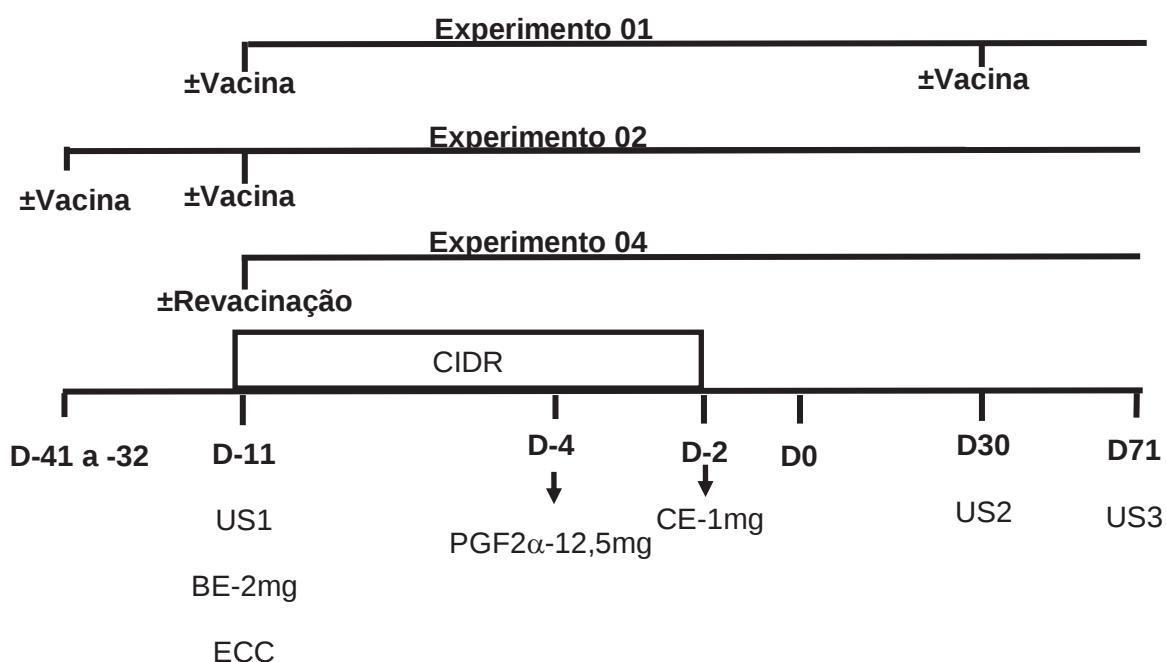


Figura 01. Diagrama esquemático do experimento 01, 02 e 04: **D-41 a -32:** primeira dose da vacina do experimento 02; **D-11:** US1- ultrassonografia; ECC- classificação do escore de condição corporal; aplicação de 2 mg de BE (benzoato de estradiol), inserção do CIDR; primeira dose da vacina do experimento 01, segunda dose da vacina do experimento 02; revacinação do experimento 04; **D-4:** aplicação de 12,5 mg de PGF2 α ; **D-2:** retirada do CIDR e aplicação de 1mg de CE; **D0:** inseminação artificial; **D30:** US2- primeiro diagnóstico de gestação por ultrassonografia; segunda dose da vacina do experimento 01; **D71:** US3- segundo diagnóstico de gestação por ultrassonografia

2.1.2. Experimento 02

Foi realizado em 28 fazendas do experimento 01. Foram utilizadas 287 vacas Girolando em lactação (75 primíparas e 212 multíparas) com $143,55 \pm 68,32$ DEL, produzindo $21,18 \pm 7,49$ Kg/leite dia, com ECC de $2,94 \pm 0,46$. Todas as vacas foram sincronizadas com o protocolo de IATF utilizado exp. 1 (Figura 01). Os animais foram pré - vacinados (grupo tratado) ou não (grupo controle) entre ao dias - 41 a - 31, a segunda dose foi realizada no dia -11 (início do protocolo de IATF). A avaliação do ECC foi realizada no dia -11, conforme descrito experimento 01.

2.1.3. Experimento 03

Foi realizado em 17 fazendas que não utilizavam vacina contra IBR/BVDV e Leptospirose. Foram utilizadas 1680 vacas Holandesas em lactação (520 primíparas e 1160 multíparas) com $188,62 \pm 109,02$ DEL, produzindo $33,86 \pm 9,05$ Kg/leite dia, com ECC de $2,77 \pm 0,38$. Vacas com mais de 28 dias em lactação foram distribuídas aleatoriamente para receberem (grupo tratado) ou não (grupo controle) a vacina. A segunda dose foi realizada 14 dias após a primeira dose. Foram consideradas as inseminações entre 15 a 135 dias após a segunda dose da vacina. As vacinas foram realizadas em 02 momentos de janeiro a março (verão) e de julho a outubro (inverno). A avaliação do ECC foi realizada no dia da vacinação, conforme descrito no experimento 01. As taxas de prenhez e de perdas de gestação foram realizadas aos 32 ± 4 dias.

2.1.4. Experimento 04

Foi realizado em 15 fazendas que utilizavam vacina contra IBR, BVD e Leptospirose. Foram utilizadas 820 vacas Girolando em lactação (177 primíparas e 643 multíparas) com $148,81 \pm 113,88$ DEL, produzindo $24,49 \pm 8,7$ Kg/leite dia, com ECC de $2,94 \pm 0,52$. Todas as vacas foram sincronizadas com o mesmo protocolo de IATF (Figura 01): Os animais foram revacinados (grupo tratado) ou não (grupo controle) no início do protocolo de IATF. A avaliação do ECC foi realizada no momento da primeira vacina conforme descrito experimento 01.

2.2. Diagnóstico de Gestação

Diagnóstico positivo de gestação foi considerado quando detectado a presença de embrião ou feto. A definição de perda de gestação foi definida pela observação de retorno ao cio ou pelo exame de ultrassonografia (US) onde vacas que foram definidas como gestantes no primeiro diagnóstico não apresentavam presença de feto no segundo diagnóstico. No experimento 01, 02 e 04 os diagnósticos de gestação eram realizados nos dias 30 e 71 após a IATF, no experimento 03 nos dias 32 ± 4 dias. Os exames de US foram realizados com aparelho Mindray, modelo DP3300 VET, com transdutor linear multifrequencial na opção 7,5MHz, pelo mesmo técnico.

2.3. Sorologia para BoHV-1, BVDV e Leptospirose

Foi realizada uma amostragem do perfil sorológico para IBR, BVD e Leptospirose. Nos experimentos 01, 02 e 04, as amostras de sangue foram coletadas no início do protocolo de IATF, em vacas do grupo controle. No experimento 03, as amostras de sangue foram coletadas em vacas do grupo controle no dia em que realizava a primeira dose da vacina no grupo tratado.

Para BoHV-1 e BVDV foi utilizada a técnica de soroneutralização, para Leptospirose foi utilizada a técnica de Soroaglutinação Microscópica de acordo com a Organização Mundial de Saúde Animal – OIE [25-27]. As análises foram realizadas no Laboratório de Virologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Animais foram considerados soropositivos quando títulos foram ≥ 8 para BoHV-1; ≥ 16 para BVDV; ≥ 100 Leptospirose [21].

2.4. Análise Estatística

As análises estatísticas das variáveis binomiais foram realizadas pelo PROC GLIMMIX do SAS. Para a análise da taxa de prenhez (30 e 71 dias) e perda de gestação, os modelos do experimento 01, 02 e 04 consideraram os efeitos de tratamento, ordem de lactações, ECC, DEL, produção de leite e interações. A variável, fazenda foi incluída no modelo como efeito aleatório.

Para a análise da taxa de prenhez (32 e 60 ± 4 dias) e perda de gestação, os modelos do experimento 03 consideraram os efeitos de tratamento, ordem de lactações, ECC, DEL, produção de leite, técnica de inseminação, estação do ano em que realizou a vacina, tempo entre vacina e inseminação e possíveis interações. A variável, fazenda foi incluída no modelo como efeito aleatório.

A variável ECC foi utilizada no modelo como variável classificatória, em duas categorias $\leq 2,75$ e $\geq 3,0$. A variável ordem de lactações também foi considerada classificatória no modelo, como primíparas e múltiparas.

Foram considerados estatisticamente significantes valores de $P \leq 0,05$ e tendências valores de $P \leq 0,10$. Os efeitos significativos foram reportados pela média dos quadrados mínimos. Efeitos fixos e interações com $P > 0,20$ foram retiradas do modelo.

3. RESULTADOS

3.1 Experimento 01

Não houve efeito ($P=0,4$) do tratamento na taxa de prenhez aos 30 dias e 71 dias de gestação ($P=0,14$). Porém houve efeito do tratamento ($P=0,04$) na perda de gestação entre 30 e 71 dias (tabela 01) em relação ao grupo controle.

Vacas com $ECC \geq 3,0$ tiveram maior taxa de prenhez aos 30 ($P=0,004$) e aos 71 dias ($P=0,03$) de gestação em relação a vacas com $ECC \leq 2,75$ (tabela 02).

A ordem de lactação não interferiu nas taxas de prenhez aos 30 ($P=0,43$) e aos 71 dias ($P=0,31$), e na perda de gestação ($P=0,9$) (tabela 03).

Tabela 01. Valores descritivos (média dos quadrados mínimos) da taxa de prenhez de 3640 vacas inseminadas, recebendo a vacina (tratamento) ou não (controle) em fazendas que utilizavam ou não vacina contra IBR, BVD e Leptospirose

	Histórico de vacinação	Grupo	N	1º DG	2º DG	Perda
Exp.01	Não	Vacina	426	40,9%(173)	37,8%(159)	9,1%(13)a
		Controle	427	38,6%(163)	33,0%(137)	16,2%(25)b
Exp. 02	Não	Vacina	153	54,6%(82)a	48,9%(74)a	9,6%(8)
		Controle	134	36,0%(47)b	32,5%(44)b	8,2%(4)
Exp.03	Não	Vacina	859	35,6%(301)c	32,8%(273)a	7,94%(27)
		Controle	821	31,3%(253)d	28,0%(221)b	10,18%(31)
Exp.04	Sim	Vacina	385	38,2%(131)	35,7%(119)	8%(12)
		Controle	435	40,0%(151)	35,5%(131)	12%(19)

Exp. 01: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 02: **d-41 a -32:** vacina **d-11:** vacina, **d0:** IA; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 03: **d-14:** vacina, **d-0:** vacina, **d15 a 135 dias:** IA; 1º DG 32 ± 4 dias; 2º DG 60 ± 4 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas após detecção de cio e em tempo fixo

Exp. 04: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

a, b Letras distintas na mesma coluna dentro de experimento diferem estatisticamente; P<0,05

c,d Letras distintas na mesma coluna dentro do mesmo experimento tenderam a diferir estatisticamente; P<0,10

Tabela 02. Valores descritivos (média dos quadrados mínimos) do efeito do escore de condição corporal na taxa de prenhez de 1963 vacas inseminadas em tempo fixo

	ECC	N	1º DG	2º DG	Perda
Exp. 01	≤2,75	463	35,5%(166)a	31,8%(147)a	13,7%(19)
	≥3,00	390	44,0%(172)b	38,9%(151)b	11,7%(21)
Exp. 02	≤2,75	139	39,4%(55/139)a	35,6%(50)c	8,8%(5)
	≥3,00	148	51,2%(75/148)b	45,8%(68)d	9,0%(7)
Exp. 04	≤2,75	426	36,5%(137)c	32,6%(120)c	11,2%(17)
	≥3,00	394	42,3%(145)d	38,6%(130)d	8,8%(15)

Exp. 01: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 02: **d-41 a -32:** vacina **d-11:** vacina, **d0:** IA; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 03: **d-14:** vacina, **d-0:** vacina, **d15 a 135 dias:** IA; 1º DG 32 ± 4 dias; 2º DG 60 ± 4 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas após detecção de cio e em tempo fixo

Exp. 04: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

a, b; Letras distintas na mesma coluna dentro de experimento diferem estatisticamente; $P < 0,05$
c,d; Letras distintas na mesma coluna dentro de experimento tenderam a diferir estatisticamente; $P < 0,10$

3.1 Experimento 02

Houve efeito do tratamento na taxa de prenhez aos 30 ($P=0,001$) e aos 71 dias ($P=0,003$) de gestação. Entretanto o tratamento não interferiu ($P=0,78$) na perda de gestação entre 30 e 71 dias (tabela 01) em relação ao grupo controle.

Vacas com $ECC \geq 3,0$ tiveram maior taxa de prenhez aos 30 ($P=0,03$) e tendência de maior taxa de prenhez aos 71 dias ($P=0,07$) de gestação em relação a vacas com $ECC \leq 2,75$ (tabela 02).

A ordem de lactação não interferiu nas taxas de prenhez aos 30 ($P=0,92$) e aos 71 dias ($P=0,82$), e na perda de gestação ($P=0,81$) (tabela 03).

3.1 Experimento 03

Houve tendência do tratamento aumentar ($P=0,06$) a taxa de prenhez aos 32 ± 4 dias de gestação, porém aos 60 ± 4 dias tratamento aumentou ($P=0,03$) a taxa de prenhez. O tratamento não interferiu ($P=0,39$) na perda de gestação entre 30 e 60 dias (tabela 01) em relação ao grupo controle.

Vacas com DEL menor apresentaram maior ($P=0,001$) taxa de prenhez aos 32 ± 4 e aos 60 ± 4 dias de gestação. Primíparas tiveram menor ($P=0,03$) perda de gestação (tabela 03).

Não houve efeito do momento em que realizou a vacina nas taxas de prenhez de vacas vacinadas em janeiro a março aos ($P=0,89$) 32 ± 4 [32,44% (305/940) vs. 33,91%(251/740)], aos ($P=0,52$) 60 ± 4 dias de gestação [29,36%(276/940) vs. 29,79%(220/740)] e na perda ($P=0,105$) de gestação [9,5%(29/305) vs. 12,30%(31/251)] em relação a vacas vacinadas em julho a outubro.

Não houve efeito do tempo entre segunda dose da vacina e IA nas taxas de prenhez aos 32 ± 4 ($P=0,21$), aos 60 ± 4 dias ($P=0,22$) de gestação e na perda de gestação ($P=0,55$).

Não houve efeito da técnica de inseminação nas taxas de prenhez de vacas inseminadas após detecção de cio ($P=0,16$) aos 32 ± 4 [34% (440/1292) vs. 29,89% (116/388)], aos 60 ± 4 dias ($P=0,48$) de gestação [29,98% (387/1292) vs. 28,09% (109/388)] e na perda ($P=0,37$) de gestação [12% (53/440) vs. 6,03% (7/116)] em relação a vacas inseminadas em tempo fixo.

3.1 Experimento 04

Não houve efeito do tratamento na taxa de prenhez aos 30 ($P=0,6$) e aos 71 dias ($P=0,9$) de gestação. Tratamento também não interferiu ($P=0,3$) na perda de gestação entre 30 e 71 dias (tabela 01) em relação ao grupo controle.

Vacas com ECC $\geq 3,0$ apresentaram tendência de maior taxa de prenhez aos 30 ($P=0,08$) e aos 71 dias ($P=0,06$) de gestação em relação a vacas com ECC $\leq 2,75$ (tabela 02).

A ordem de lactação interferiu nas taxas de prenhez aos 30 ($P=0,01$) e aos 71 dias ($P=0,003$), sendo maior nas primíparas (tabela 03).

Tabela 03. Valores descritivos (média dos quadrados mínimos) da ordem de partos na taxa de prenhez de 3631 vacas inseminadas

	Ordem	N	1º DG	2º DG	Perda
Exp.01	Primípara	242	41,9%(99)	38,0%(89)	12,9%(10)
	Múltipara	611	38,9%(239)	34,3%(209)	12,4%(30)
Exp.02	Primípara	75	44,9%(32)	39,6%(29)	8,9%(3)
	Múltipara	212	45,4%(98)	41,1%(89)	8,8%(9)
Exp.03	Primípara	520	34,1%(180)	32,0%(169)	6,1%(11)a
	Múltipara	1151	32,7%(373)	28,8%(325)	12,0%(49)b
Exp.04	Primípara	177	44,7%(79)a	41,6%(74)a	6,5%(5)
	Múltipara	643	34,1%(203)b	29,5%(176)b	13,5%(27)

Exp. 01: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 02: **d-41 a -32:** vacina **d-11:** vacina, **d0:** IA; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 03: **d-14:** vacina, **d-0:** vacina, **d15 a 135 dias:** IA; 1º DG 32 ± 4 dias; 2º DG 60 ± 4 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas após detecção de cio e em tempo fixo

Exp. 04: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

a, b Letras distintas na mesma coluna diferem estatisticamente; P<0,05

Tabela 04. Distribuição de acordo com o experimento dos resultados na pesquisas de anticorpos para BoHV-1, BVDV (técnica de soroneutralização) e *Leptospira* spp. (técnica de Soro Aglutinação Microscópica) em vacas de leite em lactação

	Títulos	Experimento 01 e 02	Experimento 03	Experimento 04
BoHV-1	Negativos	0% (0/112)	4%(5/117)	2%(1/59)
	8 a 64	27%(30/112)	44%(51/117)	20%(12/59)
	≥ 128	73%(82/112)	52%(61/117)	78%(46/59)
	Positivos	100%(112/112)	96%(112/117)	98%(58/59)
BVDV	Negativos	47%(53/112)	78%(93/119)	51%(30/59)
	16 a 64	27%(30/112)	21%(25/119)	30%(18/59)
	≥ 128	26%(29/112)	1%(1/119)	19%(11/59)
	Positivos	53%(59/112)	22%(26/119)	49%(29/59)
<i>Leptospira</i> spp.	Negativos	55%(60/110)	100%(119/119)	57%(33/58)
	Diluição até 1:200	24%(27/110)	0%(0/119)	31%(18/58)
	Diluição ≥ 1:200	21%(23/110)	0%(0/119)	12%(7/58)
	Total positivos	45%(50/110)	0%(0/119)	43%(25/58)

Exp. 01: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 02: **d-41 a -32:** vacina **d-11:** vacina, **d0:** IA; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

Exp. 03: **d-14:** vacina, **d-0:** vacina, **d15 a 135 dias:** IA; 1º DG 32 ± 4 dias; 2º DG 60 ± 4 dias. Em fazendas que não utilizavam a vacina. Vacas inseminadas após detecção de cio e em tempo fixo

Exp. 04: **d-11:** vacina, **d0:** IA, **d30:** vacina; 1º DG 30 dias; 2º DG 71 dias. Em fazendas que utilizavam a vacina. Vacas inseminadas em tempo fixo

4. DISCUSSÃO

Este estudo foi realizado para avaliar se a vacinação contra doenças da reprodução interfere nas taxas de prenhez e de perdas de gestação de vacas em lactação. Foi utilizada a vacina comercial que é composta pelo BoHV-1 atenuado termosensível, associado ao BVDV inativado e culturas inativadas de cinco sorotipos da *Leptospira* spp. (canicola, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae e pomona).

Foi realizada amostragem para determinar a soroprevalência da IBR, BVD e Leptospirose (tabela 04). A alta frequência de animais, com título de anticorpos ≥128 para BoHV-1 nos experimentos 01 e 02 (73%), 03 (52%) e 04 (78%) pode sugerir

infecção recente [21]. A alta flutuação de títulos para BVDV (≥ 16 até 1024) e a taxa de animais com títulos ≥ 128 encontradas no experimento 01, 02 (26%) e 04 (18%) podem sugerir infecção ativa [21]. Altos títulos (≥ 200) de anticorpos para *Leptospira* spp. nos experimentos 01, 02 (21%) e 04 (12%), sugerem infecção aguda [21].

No experimento 01, quando a primeira dose da vacina foi realizada no início do protocolo de IATF e a segunda dose no dia do diagnóstico de gestação, foram observadas menores taxas de perda de gestação no grupo vacinado (tabela 01). As maiores perdas de gestação observadas no grupo controle podem estar relacionadas com infecção pelo BVDV, BoHV-1 e *Leptospira* spp., pois estes agentes estão relacionados com perdas de gestação [10,19-22]. Os achados sorológicos demonstraram altas taxas de infecção para os três patógenos e sugerem infecção ativa, demonstrando o alto desafio aos animais. As vacinas comerciais são efetivas em induzir anticorpos [28-30] e proteção fetal contra estes agentes [31-34,49,54], o que pode estar associado à menor perda de gestação observada do grupo vacinado. Diversos estudos sugerem que animais que tiveram exposição prévia à doença apresentam melhores taxas de prenhez [21,35,36], porém neste experimento não foi detectado efeito nas taxas de prenhez aos 30 e 71 dias de gestação, provavelmente devido ao esquema de vacinação que foi empregado, pois a vacinação induz anticorpos em 14 dias para IBR, mas altos títulos vacinais para IBR e BDV são observados apenas em 14 dias após a segunda dose da vacina [28]. Para Leptospirose anticorpos são detectados em 14 dias após a vacinação, mas altos títulos só são observados após a segunda dose da vacina [30]. Estes estudos sugerem que para que a vacina tenha efeito nas taxas de prenhez aos 30 dias, é necessário que ocorra soroconversão antes da IA, sugerindo que o tempo entre vacina e IA são importantes.

Priorizando maior efetividade da vacinação, foi realizado o experimento 02, onde as duas doses da vacina foram realizadas antes da IATF, sendo a primeira dose da vacina 30 a 21 dias antes do início da IATF e a segunda dose no início do protocolo de IATF (11 dias antes da IA). Foram observadas melhores taxas de prenhez (tabela01) no primeiro diagnóstico de gestação (30 dias) e no segundo diagnóstico de gestação (71 dias). Demonstrando que o tempo entre vacina e IA são importantes para obter melhores taxas de prenhez aos 30 dias e 71 dias. Além do BVDV causar perdas reprodutivas em qualquer fase da gestação [10], a infecção pelo BVDV está associada à menor secreção de estradiol [37], que acarreta em atraso ou ausência do pico de LH, que pode interferir na ovulação [38], a menor secreção de estradiol pode estar

associada à necrose das células da granulosa do folículo e a inflamação nos ovários [39]. A infecção fetal pelo BoHV-1 poder resultar em abortos [40,41], lesões nos folículos, corpo lúteo e ovários [42] o que resulta em menores concentrações de P4 [43]. Além de poder causar perdas embrionárias [44,45]. Diversos estudos utilizando fertilização *in vitro* demonstram menores taxas de produção de embriões quando oócitos foram expostos ao BoHV-1 [46,47]. A Leptospirose pode causar infertilidade, perdas embrionárias, abortos [10]. Estes fatores em conjunto podem explicar o efeito da vacinação previa na prenhez aos 30 e 71 dias, pois além de poder causar abortos, estes patógenos estão relacionados a menores taxas de fertilizações e maiores taxas de perdas embrionárias, ressaltando a importância da vacina induzir proteção antes IA. Os achados sorológicos demonstraram altas taxas de infecção para os três patógenos e sugerem infecção ativa, demonstrando o alto desafio aos animais neste estudo.

O experimento 03 foi realizado para avaliar estratégia de utilização da vacina, onde foi realizada a primeira dose da vacina em vacas que não estavam gestantes com mais de 28 dias pós parto, e a segunda dose após 14 dias. Foram avaliadas inseminações realizadas entre 15 e 135 dias após a revacinação. Neste estudo foi observada tendência a melhores taxas de prenhez (tabela 01) no primeiro diagnóstico de gestação (32 ± 4 dias) e melhores taxas de prenhez no segundo diagnóstico de gestação (60 ± 4 dias). Neste estudo não foi observado efeito, nem interação do tempo entre a segunda dose da vacina e IA, provavelmente porque o tempo após a segunda dose da vacina foi suficiente para que a vacina induzisse proteção, pois só foram consideradas inseminações 15 dias após a revacinação, neste período altos títulos de anticorpos significativos já são detectados para IBR, BVD [28] e Leptospirose [30]. Não foi observado efeito da técnica de inseminação (IA ou IATF), nem interação entre técnica de inseminação e tratamento. Não foi observado efeito da estação do ano em que foi realizada a vacina, nem interação com tratamento. Os achados sorológicos no experimento 03 demonstram altas taxas de infecção para BoHV-1 (96%), baixa prevalência para BVDV (21%) e para Leptospirose (0%). A baixa soroprevalência para *Leptospira* spp. sugere que provavelmente não foi responsável pelo menor desempenho reprodutivo dos animais do grupo controle, pois não foi observada a presença da doença nos rebanhos estudados. O menor desempenho reprodutivo dos animais do grupo controle pode estar associado a infecções pelas infecções HoVB-1 ou pelo BVDV onde 4 e 78% dos animais foram soronegativos, respectivamente.

Além do momento da vacinação, a indução de altos títulos de anticorpos pode estar relacionada com a efetividade da vacina, segundo Ridpath [48] títulos neutralizantes maiores que 16 e menores que 256 para BVDV são suficientes para prevenir a doença clínica, mas ainda ocorre viremia. A autora sugere que para que ocorra proteção fetal não pode ocorrer a viremia. Com objetivo de induzir maiores títulos de anticorpos foi realizado o experimento 04, onde foi realizada a revacinação no início do protocolo de IATF em fazendas que já utilizavam a vacinação. Não houve efeito positivo da revacinação nas taxas de prenhez (tabela 01). Este fato possivelmente ocorreu devido a utilização prévia da vacina. Rodning et al., [49] observaram proteção fetal para o BVDV em animais vacinados mesmo após a viremia em 90% animais avaliados. Demonstrando que não é necessário o bloqueio da viremia para que ocorra a proteção fetal, sugerindo que anticorpos inferiores a 256 são suficientes para induzir proteção fetal e que a revacinação adicional não é necessária.

Foi observado efeito do ECC na taxa de prenhez (tabela 02), concordando com outros estudos onde observaram menores taxas de prenhez em vacas com menor ECC [50], porém não houve interação entre ECC e vacinação.

Melhores taxas de prenhez (tabela 03) foram observadas em vacas primíparas no experimento 04 e menores taxas de perda de gestação no experimento 03, porém não houve interação com o tratamento. Em estudos realizados pelo nosso grupo em vacas de corte submetidas a protocolos de IATF, demonstraram que a vacina reduziu perdas de gestações apenas em vacas primíparas. Neste grupo de animais foi observada baixa taxa de soroprevalência para BoHV-1 e BVDV, foi constatada infecção ativa, o que caracteriza o alto desafio aos animais. No estudo realizado em vacas de leite em lactação, não foi observado diferença na soroprevalência em relação à ordem de lactações, provavelmente por este motivo não houve interação entre vacina e ordem de lactações. Pode estar relacionado provavelmente 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 estudo se mostrou segura, pois não foi observada redução nas taxas de prenhez em nenhum dos estudos realizados, quando a vacina foi realizada no dia do diagnóstico de gestação. As vacinas inativadas são seguras, pois não tem risco de replicação viral [51]. Vacinas atenuadas são mais eficazes, mas podem causar efeitos adversos, principalmente quando administrada em animais gestantes [52,53]. Estudos demonstram efetividade em induzir proteção fetal de 74 a

100% com vacinas inativadas contra o BVDV [31,34,49], de 84 a 90% com vacinas quimicamente alteradas contra o BoHV-1 [33,54] e de 100% contra Leptospirose [32].

5. CONCLUSÕES

O uso da vacina melhorou as taxas de prenhez de vacas em lactação, sendo que melhores resultados são obtidos quando a segunda dose da vacina é realizada antes da inseminação artificial.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Wiebold JL. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *Reproduction* 1988; 84 :393-399.

[2] Ryan DP, Prichard JF, Kopel E, Godke RA. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology* 1993; 39:719-737.

[3] Cerri RLA, Rutigliano HM, Chebel RC, Santos JEP. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction* 2009; 137:813–823.

[4] Butler WR. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1998; 81:2533–2539.

[5] Dransfield MB, Nebel RL, Pearson RE, Warnick LD. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J Dairy Sci* 1998; 81:1874–1882.

[6] Chebel RC, Santos JEP, Cerri RLA, Galvão NK, Juchem SO, Thatcher WW. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy. *Theriogenology* 2003; 60:1389–1399.

[7] Lucy MC. Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *J Dairy Sci* 2001; 84:1277–1293.

- [8] Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *J Ani Repro Sci* 2000; 58:39–44.
- [9] Berg DK, Leeuwen JV, Beaumont S, Berg M, Pfeffer PL. Embryo loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy. *Theriogenology* 2010; 73:250–260.
- [10] Grooms DL, Bolin CA. Diagnosis of Fetal Loss Caused by Bovine Viral Diarrhea Virus and *Leptospira* spp. *Theriogenology* 2005; 21:463-472.
- [11] Pursley JR, Meez MO, Wiltbank M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PFG2 and GnRH. *Theriogenology* 1995; 44:915-923.
- [12] 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; 52:1067–1078.
- [13] Jerret IV, McOrist S, Waddington J. Browning JW, Malecki JC, McCausland IP. Diagnostic studies of the fetus, placenta and maternal blood from 265 bovine abortions. *Cornell Vet* 1984; 74:8-20.
- [14] Anderson ML, Blanchard PC, Barr BC, Hoffman RL. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. *J Vet Diag Invest* 1990; 2:283-7.
- [15] Kirkbride CA. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest* 1992; 4:175-180.
- [16] Jamaluddin AA, Case JT, Hird DW, Blanchard PC, Peauroi JR, Anderson ML. Dairy cattle abortion in California: evaluation of diagnostic laboratory data. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation* 1996; 8:210-218.
- [17] 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; 46:635-637.

[18] McEwen B, Carman S. Animal health laboratory reports--cattle. Bovine abortion update, 1998-2004. *Can Vet J* 2005; 46:46.

[19] Biuk-Rudan N, Cyelni S, Madic J, Rudan. Prevalence of antibodies to IBR and BVD viruses in dairy cows with reproductive disorders. *Theriogenology* 1999; 51:875-881.

[20] Mineiro ALBB, Bezerra EEA, Vasconcellos SA, Costa FAL, Macedo NA. [Leptospiral infection in bovine and its association with reproductive failure and climatic conditions]. *Arq Bras Med Vet e Zoot* 2007; 59:1103-1109.

[21] 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; 27:471-480.

[22] Grooms DL. [Programs to control infectious diseases and improve reproductive performance]. X Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos[CD-ROM] ; 2010.

[23] Drunen SV, Littlel H. Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. *Vet Mic* 2006; 113:275–282.

[24] Lowman BG, Scott NA, Somerville SH. Condition scoring of cattle. *Edinburg: The west of Scotland College of Agriculture* 1976; 6:1-13.

[25] 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

[26] 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

[27] 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

[28] 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 diarrhea virus, parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus immunogens and subsequent revaccination at day 140. *Vaccine* 1995; 13:725-733.

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

[30] Arduino GGC, Girio RJS, Magajevski FS, Pereira T. [Agglutinating antibody titers induced by commercial vaccines against bovine leptospirosis]. *Pesq Vet Bras* 2009; 29:575-582, 2009.

[31] Patel JR. Prevention of transplacental infection of bovine fetus by bovine viral diarrhoea virus through vaccination Brief Report. *Arch of Virology* 2002; 147:2453–2463.

[32] Barringer LS. Spirovac™ provides comprehensive protection against leptospirosis caused by U.S. strains of serovar hardjo-bovis. *Pfizer Animal Health Technical Bulletin*, 2003.

[33] Ficken MD, Ellsworth MA, Tucker CM. 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 Ther* 2006; 7:275-282.

[34] 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.

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

- [36] McGowan MR, Richards SG, Littlejohns IR. Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Vet Rec* 1993; 133:39–43.
- [37] Fray MD, Mann GE, Clarke MC, Charleston B. Bovine viral diarrhoea virus: its effects on ovarian function in the cow. *Vet Mic* 2000; 77:185-194.
- [38] McGowan MR, Kafi M, Kirkland PD, Kelly R, Bielefeldt-Ohmann H, Occhio MD, et al. Studies of the pathogenesis of bovine pestivirus – induced ovarian disfunction in superovulated dairy cattle. *Theriogenology* 2003; 59:1051-1066.
- [39] Grooms DL, Brock KV, Ward LA. Detection of bovine viral diarrhea virus in the ovaries of cattle acutely infected with bovine viral diarrhea virus. *J Vet Diagn Invest* 1998; 10:125–129.
- [40] Ackermann M, Engels M. Pro and contra IBR-eradication. *Vet Mic.* 2006; 113:293–302.
- [41] Nandi S, Kumar M, Manohar M, Chauhan RS. Bovine herpes virus infections in cattle. *Research Reviews* 2009; 10:85–98.
- [42] Maaten MJ, Miller JM. Ovarian lesions in heifers exposed to infectious bovine rhinotracheitis virus by non-genital routes on the day after breeding. *Vet Mic* 1984; 10: 155-163.
- [43] Miller JM, Maaten MJ. Effect of primary and recurrent infectious bovine rhinotracheitis virus infection on the bovine ovary. *Am J Vet Res* 1985; 46:434-1437.
- [44] Miller JM, 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.
- [45] Kelling CL. Viral Diseases of the Fetus. *Virology, Nebraska Center for Virology Papers. Virology papers* 2007; 399-408.

[46] Pivko J, Makarevic AV, Kubovicova E, Chrenek P, Olexikova L, Slezakova M. Ultrastructural alterations in some organelles of bovine embryos exposed to bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in vitro. *J Anim Sci* 2006; 39:175 – 179.

[47] Makarevich AV, Pivko J, Kubovicova E, Chrenek P, Slezakov´a M, Louda F. Development and viability of bovine preimplantation embryos after the in vitro infection with bovine herpesvirus-1 (BHV-1): immunocytochemical and ultrastructural studies. *Zygote* 2007; 15:307–315.

[48] Ridpath JF. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: Impact of biotype and genotype on U.S. control programs. *Prev Vet Med* 2005; 72:17–30.

[49] 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 diarrhea virus. *Theriogenology* 2010; 73:1154–1163.

[50] Moreira F, Risco CR, Pires FA, Ambrose JD, Drost M, DeLorenzo M, et al. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology* 2000; 53:1305-1319.

[51] Grooms DL. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin Food Anim* 2004; 20:5–19.

[52] Oirschot JT, Bruschke CJM, Van Rijn PA. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhea. *Veterinary Microbiology* 1999; 64:169-183.

[53] Frey HR, Eicken K, Grummer B, Kenklies S, Oguzoglu TC, Moennig V. Foetal Protection against Bovine Virus Diarrhoea Virus after Two-step Vaccination. *J Vet Med* 2002; 49:489–493.

[54] Cravens RL, Ellsworth MA, Sorensen CD, White AK. Efficacy of a temperature-sensitive modified-live bovine herpesvirus type-1 vaccine against abortion and stillbirth in pregnant heifers. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208:2031-2034.

CAPÍTULO 3

CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

Conclusões Gerais e implicações:

No presente estudo, em fazendas que não utilizavam a vacinação, vacas que receberam a primeira dose da vacina no início do protocolo de IATF tiveram menores perdas de gestação, não foi observado efeito do uso da vacina nas taxas de prenhez aos 30 e 71 dias de gestação, provavelmente devido ao tempo entre vacina e inseminação.

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. Quando a segunda dose da vacina foi realizada antes da IA melhores taxas de prenhez aos 30 e 71 dias de gestação foram observadas.

Em animais que já recebiam a vacina em seu programa sanitário, a revacinação no início do protocolo de IATF não melhorou as taxas de prenhez.

Em conjunto, os dados desse estudo sugerem que a utilização da vacina melhora as taxas de prenhez em vacas em lactação.

Dessa forma as implicações práticas desse estudo são:

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